



**ÇOCUKLARDA SIK TÜKETİLEN İÇECEKLERİN
OLUŞTURDUĞU DEMİNERALİZASYONA KARŞI DİŞ
MACUNLARININ REMİNERALİZASYON ETKİNLİĞİNİN
MİKRO-BT VE SEM İLE İNCELENMESİ**

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

Dt. Sibel AKKÜÇ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Gülsüm DURUK

Uzmanlık Tezi – 2022

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**ÇOCUKLARDA SIK TÜKETİLEN İÇECEKLERİN OLUŞTURDUĞU
DEMİNERALİZASYONA KARŞI DİŞ MACUNLARININ
REMİNERALİZASYON ETKİNLİĞİNİN
MİKRO-BT VE SEM İLE İNCELENMESİ**

Dt. Sibel AKKÜÇ

**Pedodonti Anabilim Dalı
Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Gülsüm DURUK**

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TDH-2021-2575 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2022**

TC.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

Pedodonti Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan
Dt. Sibel AKKÜÇ' ün "Çocuklarda Sık Tüketilen İçeceklerin Oluşturduğu
Demineralizasyona Karşı Diş Macunlarının Remineralizasyon Etkinliğinin
Mikro-BT Ve SEM ile İncelenmesi " konulu bu çalışması aşğıdaki jüri tarafından
uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24.02.2022

Prof. Dr. Betöl KARGÖL
(Marmara Üniversitesi)
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Gülsüm DURUK
(İnönü Üniversitesi)
Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi İpek ARSLAN
(Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi)
Jüri Üyesi

ONAY

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Alaadin POLAT
Dekan

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİL DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diş Minesinin Yapısı.....	3
2.2. Demineralizasyon	4
2.3. Remineralizasyon	5
2.4. Diş Çürüğü.....	5
2.4.1.Diş Çürüğü Etiyolojisi.....	5
2.4.2.Başlangıç Çürük Lezyonlarının Klinik Görünümü	7
2.4.3.Başlangıç Çürük Lezyonlarının Histolojik Görünümü	7
2.4.4.Yapay Çürük Modelleri.....	9
2.5. Dental Erozyon.....	11
2.5.1.Dental Erozyon Etiyolojisi	11
2.5.2.Başlangıç Erozyon Lezyonlarının Klinik Görünümü.....	13
2.6. Başlangıç Erozyon Lezyonlarının Histolojik Görünümü	13
2.6.1.Yapay Erozyon Modelleri	14
2.7. Demineralizasyon Gösteren Mine Lezyonlarının Remineralizasyonu.....	16
2.8. Non-İnvaziv Remineralizasyon Teknolojileri	16
2.8.1.Mineral ve İyonlar	17
2.8.1.1. Flor.....	17
2.8.1.2. Gümüş.....	19
2.8.1.3. Demir	19
2.8.2.Şeker Alkolleri	19
2.8.2.1. Ksilitol	19
2.8.2.2. İzomalt.....	20
2.8.2.3. Sorbitol	20
2.8.3.Bitkisel Kaynaklı Ajanlar	21
2.8.3.1. Kitosan.....	21
2.8.3.2. Galla Chinensis.....	21

2.8.3.3. Teobromin	21
2.8.3.4. Üzüm Çekirdeği Ekstresi	22
2.8.3.5. Propolis	22
2.8.3.6. Aloe Vera	23
2.8.4. Bioaktif Materyaller ve Nanoteknolojik Ürünler	24
2.8.4.1. Novamin (Kalsiyum Sodyum Fosfosilikat/Biyoaktif Cam)	24
2.8.4.2. Trikalsiyum Silikat	24
2.8.4.3. Nano-Hidroksiapatit (nHAP)	24
2.8.4.4. Kazein Fosfopeptit- Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)	25
2.8.4.5. Kazein Fosfopeptit- Amorf Kalsiyum Floro Fosfat (CPP-ACPF)	26
2.8.4.6. Trikalsiyum Fosfat	27
2.9. Demineralizasyon ve Remineralizasyon Değerlendirme Yöntemleri	27
2.9.1. Mikroradyografi	28
2.9.1.1. Transversal Mikroradyografi (TMR)	28
2.9.1.2. Longitudinal Mikroradyografi (LMR)	29
2.9.1.3. Dalga Boyuna Bağlı Olmayan Mikroradyografi (WIM)	29
2.9.2. İyot Geçirgenlik Testi	29
2.9.3. Yüzey Mikrosertlik	29
2.9.4. Kimyasal Analiz Yöntemi	30
2.9.5. Lazer Floresans Yöntemi	30
2.9.6. Konfokal Lazer Tarayıcı Mikroskopisi (CLSM)	31
2.9.7. Optik Koherens Tomografisi (OCT)	31
2.9.8. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	31
2.9.9. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT)	32
3. MATERYAL VE METOT	34
3.1. Etik Kurul Onayı ve Proje Desteği	34
3.2. Hekim Kalibrasyonu	34
3.3. Örneklem Büyüklüğünün Belirlenmesi ve Çalışma Tasarımı	34
3.4. Diş Seçimi ve Saklanması	35
3.5. Mikro-BT Numunelerinin ve Deney Alanının Hazırlanması	36
3.6. SEM Numunelerinin ve Deney Alanının Hazırlanması	38
3.7. Deneyde Kullanılan pH Siklus Solüsyonları	38
3.8. Deneyde Kullanılan Asitli İçecekler	39
3.9. Deneyde Kullanılan Remineralizasyon Ajanları	39
3.10. Çalışma Tasarımının ve Deneyin Uygulanması	41

3.10.1. Yapay Başlangıç Çürüklerinin Oluşturulması	41
3.10.2. Yapay Erozyon Lezyonlarının Oluşturulması	42
3.10.3. Remineralizasyon Ajanları ile Tedavinin Uygulanması.....	42
3.11. Mikro-BT İncelemesi	44
3.11.1. Mikro-BT Taraması	44
3.11.2. Mikro-BT Görüntülerinin Yapılandırılması	45
3.11.3. Mikro-BT Görüntülerinin Analizi	45
3.12. SEM İncelemesi	51
3.13. İstatistiksel Değerlendirme	52
4. BULGULAR	53
4.1. Mikro-BT Bulguları.....	53
4.1.1.Mineral Yoğunluğu Bulguları	53
4.1.1.Hacim Bulguları	56
4.1.2.Yüzey Alanı Bulguları.....	58
4.1.3.Derinlik Bulguları.....	60
4.2. SEM Bulguları.....	63
4.2.1.Yapay Başlangıç Çürüğü Görüntüleri	64
4.2.2.Portakal Suyu ile Oluşturulan Erozyon Görüntüleri	65
4.2.3.Kola ile Oluşturulan Erozyon Görüntüleri	66
5. TARTIŞMA	68
5.1. Çalışma Tasarımının Tartışılması.....	70
5.2. Mikro-BT Bulgularının Tartışılması	78
5.3. SEM Bulgularının Tartışılması.....	86
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	90
KAYNAKÇA.....	91
EKLER.....	110
EK-1. Özgeçmiş Formu	110
EK 2. Etik Kurul Kararı	110

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tezimin hazırlanması sırasında özveri ile yardımcı olan, değerli danışman hocam Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Gülsüm DURUK'a,

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki tecrübeleri ile bana destek olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pınar DEMİR'e ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sacide DUMAN'a

Tezimin Mikro-BT analizlerini gerçekleştirebilmemi sağlayan, güzel Samsun'da beni misafir eden Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Sayın Prof. Dr. Ali KELEŞ'e

Mikro-BT taramaları konusunda yardımları ve titizliğinden dolayı İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi Mikro-BT Laboratuvarı Sorumlusu Sayın Öğr. Gör. Canan YALÇIN'a,

Uzmanlık tezimin laboratuvar aşamaları konusunda yardımcı olan İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Eğitimi Arş. Gör. Sayın Dr. Fatma Bilge EMRE'ye Pedodonti Anabilim Dalı'nda birlikte güzel anılar biriktirdiğim, tanımaktan mutlu olduğum tüm asistan arkadaşlarıma ve Pedodonti Anabilim Dalı personeline,

Araştırmamın maddi giderlerini karşılayan ve TDH-2021-2575 proje numarası ile destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Tezim için tek tek yeterli örnek sayısına ulaşmamı sağlayan ve birlikte güzel başlangıçlar yapacağımız sevgili Uzm. Dt. Kürşat DURAN'a

Uzmanlık öğrenim sürecimde, Malatya'da her zaman yanımda olan canım arkadaşım Dt. Ayşegül Akpınar'a

Bana her konuda yol gösterici olan, beni rahatlatan ve gülümseten değerli Şaban Semih-Yunus-Gonca AKKÜÇ'e

Benim için her zaman en iyi koşulları sunan, attığım her adımda sabırla, sonsuz sevgiyle yanımda olan, bu günlere gelmemde büyük emekleri olan, biricik anne ve babam, Hacer-Yalçın AKKÜÇ'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum...

ÖZET

Çocuklarda Sık Tüketilen İçeceklerin Oluşturduğu Demineralizasyona Karşı Diş Macunlarının Remineralizasyon Etkinliğinin Mikro-BT ve SEM ile İncelenmesi

Amaç: Bu in-vitro çalışmanın amacı başlangıç çürüğüne ve erozyona karşı, NaF içerikli ‘Sensodyne Promine’, CPP-ACP içerikli ‘GC Tooth Mousse’ ve doğal içerikli ‘Agarta’ diş macunlarının remineralizasyon etkinliğinin mikro-BT ve SEM ile incelenmesidir.

Materyal ve Metot: Mikro-BT analizi için 45 adet, SEM analizi için 7 adet üçüncü büyük azı dişi çalışmada kullanıldı. Başlangıç taraması (T_1) yapıldıktan sonra, 7 gün boyunca pH siklusu ile yapay başlangıç çürüğü lezyonları, portakal suyu ve kola ile yapay erozyon lezyonları oluşturuldu. Demineralizasyon sonrası 2. tarama (T_2) yapıldı. 15 gün boyunca günde 2 kez 2 dk boyunca, diş macunları yumuşak uçlu fırçalar ile uygulandı ve sonrasında 3. tarama (T_3) yapıldı. Mikro-BT ile mineral yoğunluğu, yüzey alanı, lezyon hacmi ve derinliği hesaplandı. Dişlerin yüzey morfolojilerindeki değişimler SEM ile incelendi. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri yapıldı.

Bulgular: Tüm macunların istatistiksel olarak anlamlı derecede mineral yoğunluğunu artırdığı, yüzey alanını, lezyon hacmini ve derinliğini ise azalttığı bulunmuştur ($p<0.05$). Remineralizasyon etkinliğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0.05$). Remineralizasyondan sonra artan dokunun mineral yoğunluğunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (NaF>CPP-AC>Agarta, $p<0.05$).

Sonuç: Kolay ulaşılabilir olan diş macunlarıyla düzenli diş fırçalamak başlangıç çürüğünü ve başlangıç erozyon lezyonlarını iyileştirebilir. Florun ve CPP-ACP’nin remineralizasyon etkisinin yanı sıra, bu macunlara alternatif olarak propolis veya aloe vera içeren diş macunlarının da remineralizasyon etkinliğini değerlendiren daha fazla Mikro-CT ve SEM çalışmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Mikro-BT, SEM, dental erozyon, demineralizasyon, remineralizasyon, CPP-ACP, NaF, propolis, aloe vera.

ABSTRACT

Evaluation of Remineralization Efficacy of Toothpastes Against Demineralization Caused by Frequently Consumed Beverages in Children by Micro-CT and SEM

Aim: The aim of this in-vitro study was to investigate the remineralization efficiency of NaF-containing 'Sensodyne Promine', CPP-ACP-containing 'GC Tooth Mousse' and natural-containing 'Agarta' toothpastes against initial caries and erosion by micro-CT and SEM.

Materials and Methods: 45-third molar for micro-CT and 7-third molar for SEM were used. After initial scan (T_1), artificial initial caries lesions were created with pH cycle and artificial erosion lesions were created with orange juice and cola for 7 days. The second scan (T_2) was performed after demineralization. Toothpastes were applied with soft-tipped brushes for 2 minutes twice a day for 15 days, and then the third scan (T_3) was performed. Mineral density, surface area, lesion volume and depth were calculated with micro-CT. Changes in the surface morphology of the teeth were examined by SEM. Statistical analysis of the obtained data were made.

Results: There were statistically significant increased the mineral density in all pastes, while decreasing of the surface area, lesion volume and depth ($p < 0.05$). There was no statistically significant difference among the groups in remineralization efficiency ($p > 0.05$). A statistically significant difference was found among the groups in the mineral density of the tissue that increased after remineralization (NaF > CPP-AC > Agarta; $p < 0.05$).

Conclusion: Regular brushing with easily accessible toothpastes can improve initial caries and initial erosion lesions. In addition to the remineralization effect of fluoride, CPP-ACP, more Micro-CT and SEM studies are needed to evaluate the remineralization efficiency of toothpaste containing propolis or aloe vera as an alternative to these pastes.

Keywords: Micro-CT, SEM, dental erosion, demineralization, remineralization, CPP-ACP, NaF, propolis, aloe vera

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°: Derece

Δ : Fark

3D: 3 boyutlu

A: Yüzey Alanı

ark.: Arkadaşları

BMD: Bone Mineral Density (Mineral Yoğunluğu)

Ca²⁺: Kalsiyum

CaF₂: Kalsiyum florür

CPP-ACP: Kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat

CPP-ACPF: Kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat flüorür

D: Derinlik

DMFT: Decayed, missing, filled, teeth

F⁻: Florür

FHAP: Flor Hidroksiapatit

HAP: Hidroksiapatit

mm: milimetre

mm²: milimetrekare

mm³: milimetreküp

NaF: Sodyum Florür

nm: nanaometre

µm: mikrometre

nHAP: Nano Hidroksiapatit

Mikro-BT: Mikro Bilgisayarlı Tomografi

PO₄³⁻: Fosfat

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

TA: Titre Edilebilir Asit

T: Tarama

V: Hacim

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Mine prizmalarının 'anahtar deliği' görüntüsü (33)	4
Şekil 2.2. Diş çürüğü oluşumunda direkt rol alan 4 ana faktör (48).....	6
Şekil 2.3. Diş çürüğü etiyolojik faktörleri (50).....	6
Şekil 2.4. Başlangıç çürüğünün mikroskopik tabakaları (53).....	7
Şekil 2.5. Dental erozyonun etiyolojik faktörleri	11
Şekil 2.6. Sitrik asitle aşındırılan mine kesitlerinin SEM görüntüleri (75)	13
Şekil 2.7. Güncel teknoloji ile geliştirilen remineralizasyon ajanları	16
Şekil 2.8. Flor ve hidroksil iyonunun, kalsiyum florür oluşturması (53)	18
Şekil 3.1. Mikro-BT Analiz Grupları ve Sayıları	34
Şekil 3.2. Dişler üzerindeki yumuşak doku kalıntılarının uzaklaştırılması	35
Şekil 3.3. Diş yüzeylerinin polisaj fırçası ile temizlenmesi.....	35
Şekil 3.4. Dişlerin temizlenmesinde kullanılan gereçler	35
Şekil 3.5. Çekilmiş dişlerin %1'lik timol solüsyonu içerisinde saklanması	35
Şekil 3.6. Kron ve kökün ayrılması	36
Şekil 3.7. Numunelerin elde edilmesinde kullanılan gereçler	37
Şekil 3.8. Akrilik blokların ve çalışma alanlarının elde edilmesi	37
Şekil 3.9. Numunelerin gruplara göre rastgele atanması	37
Şekil 3.10. SEM örneklerinin hazırlanması	38
Şekil 3.11. Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması	38
Şekil 3.12. Remineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması	38
Şekil 3.13. Çalışmada kullanılan diş macunları.....	40
Şekil 3.14. Çalışma tasarımının gösterilmesi.....	41
Şekil 3.15. Başlangıç çürüğü ve erozyon lezyonlarının oluşturulması.....	42
Şekil 3.16. Deneyde uygulanan demineralizasyon-remineralizasyon siklusu	43

Şekil 3.17. Diş macunlarının uygulanması	43
Şekil 3.18. SkyScan 1172 (Kontich, Belgium) Mikro-BT cihazı	44
Şekil 3.19. Dataviewer programında konumlandırma işlemi öncesi	45
Şekil 3.20. Dataviewer programında konumlandırma işlemi sonrası	46
Şekil 3.22. 0-0.1 mm aralığında çalışma alanının T_1 , T_2 ve T_3 taramalarında belirlenmesi	47
Şekil 3.23. 0.1-0.2 mm aralığında çalışma alanının T_1 , T_2 ve T_3 taramalarında belirlenmesi	47
Şekil 3.24. 0-0.1 mm aralığında T_1 'de BMD_1 analizi.....	48
Şekil 3.25. 0-0.1 mm aralığında T_2 'de BMD_2 analizi	48
Şekil 3.26. 0-0.1 mm aralığında T_3 'de BMD_3 analizi	48
Şekil 3.27. 0.1-0.2 mm aralığında T_1 'de BMD_1 analizi.....	49
Şekil 3.28. 0.1-0.2 mm aralığında T_2 'de BMD_2 analizi	49
Şekil 3.29. 0.1-0.2 mm aralığında T_3 'de BMD_3 analizi	49
Şekil 3.30. Hacim analizi	50
Şekil 3.31. Yüzey alanı analizi	50
Şekil 3.32. Derinlik analizi	51
Şekil 3.33. LEO-EVO 40 (Cambridge-İngiltere) SEM cihazı.....	52
Şekil 4.1. Remineralizasyondan önce (T_2) ve sonra (T_3) lezyonun	62
CTAn programında görünümü.....	62
Şekil 4.2. T_1 , T_2 ve T_3 taramalarında 3 boyutlu görüntüleme.....	62
Şekil 4.3. Remineralizasyon öncesi ve sonrasında numunelerin	63
ve çalışma alanının 3D olarak görüntülenmesi.....	63
Şekil 4.4. Sağlam mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüsü	63
Şekil 4.5. Başlangıç çürüğünde mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 1).....	64

Şekil 4.6. Başlangıç çürüğüne karşı NaF içeren diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 1a).....	64
Şekil 4.7. Başlangıç çürüğüne karşı CPP-ACP içeren diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 1b) ...	64
Şekil 4.8. Başlangıç çürüğüne karşı doğal içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 1c).....	65
Şekil 4.9. Portakal suyu ile demineralize edilen mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 2).....	65
Şekil 4.10. Portakal suyu ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı NaF içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 2a).....	65
Şekil 4.11. Portakal suyu ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı CPP-ACP içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 2b).....	66
Şekil 4.12. Portakal suyu ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı doğal içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 2c).....	66
Şekil 4.13. Kola ile demineralize edilen mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 3).....	66
Şekil 4.14. Kola ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı NaF içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 3a).....	67
Şekil 4.15. Kola ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı CPP-ACP içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 3b).....	67
Şekil 4.16. Kola ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı doğal içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 3c).....	67

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Deneyde kullanılan asitli içecekler.....	39
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan remineralizasyon ajanları ve içerikleri	40
Tablo 4.1. 0-0.1 mm aralığında; başlangıç (BMD_1), demineralizasyon sonrası (BMD_2) ve remineralizasyon sonrası (BMD_3) mineral yoğunluklarının karşılaştırılması (g/cm^3)...	54
Tablo 4.2. 0-0.1 mm aralığında diş macunlarının, etkinliğinin üç farklı zaman dilimine (T_1, T_2, T_3) göre mineral yoğunluğu açısından karşılaştırılması (g/cm^3).....	54
Tablo 4.3. 0.1-0.2 mm aralığında; başlangıç (BMD_1), demineralizasyon sonrası (BMD_2) ve remineralizasyon sonrası (BMD_3) mineral yoğunluklarının karşılaştırılması (g/cm^3)	55
Tablo 4.4. 0-0.1 mm aralığında diş macunlarının, etkinliğinin üç farklı zaman dilimine (T_1, T_2, T_3) göre mineral yoğunluğu açısından karşılaştırılması (g/cm^3).....	56
Tablo 4.5. Demineralizasyon sonrası (V_2) ve remineralizasyon sonrası (V_3) lezyon hacimlerinin karşılaştırılması (mm^3)	57
Tablo 4.6. Diş macunlarının etkinliğinin remineralizasyon öncesi (T_2) ve sonrası (T_3) lezyon hacmi açısından karşılaştırılması (mm^3)	57
Tablo 4.7. Başlangıç (A_1), demineralizasyon sonrası (A_2) ve remineralizasyon sonrası (A_3) yüzey alanlarının karşılaştırılması (mm^2).....	58
Tablo 4.8. Diş macunlarının etkinliğinin üç farklı zaman diliminde (T_1, T_2, T_3) yüzey alanı açısından karşılaştırılması (mm^2).....	59
Tablo 4.9. Demineralizasyon sonrası (D_2) ve remineralizasyon sonrası (D_3) lezyon derinliğinin karşılaştırılması (mm)	60
Tablo 4.10. Diş macunlarının etkinliğinin remineralizasyondan önce (T_2) ve sonra (T_3) lezyon derinliği açısından karşılaştırılması (mm).....	61
Tablo 4.11. T_2 'den T_3 'e oluşan yeni dokunun mineral yoğunluğu (ΔBMD)	61

1. GİRİŞ

Sağlıklı bir toplumun geleceğinde çocuklar büyük rol almaktadır. Çocukların büyüme ve gelişiminde, ağız ve diş sağlığı doğrudan etkilidir. Gereken koruyucu uygulamalara erken dönemde başlanarak, çocuklarda dental hastalıkların görülme sıklığının azalması beklenmektedir (1).

Türkiye’de 6 yaş grubu çocuklarda çürük, dolgulu ve kayıp diş indeks (decayed, missing, filled, teeth = DMFT) değeri 2.73 olup, 6-7 yaş grubu çocuklarda % 19, 11-12 yaş grubu çocuklarda ise % 77 oranında diş çürüğü tespit edilmiştir (2). Bunun yanı sıra Türkiye’de son yıllarda yapılan çalışmalarda 7-14 yaş grubu çocuklarda dental erozyon görülme sıklığı %21.8 bulunurken (3), 11 yaş grubu çocuklarda portakal suyu tüketenlerin %32'sinde, gazlı içecek tüketenlerin %40'ında dental erozyon tespit edilmiştir (4). Dünya Sağlık Örgütü’nün 21. yüzyıl için ağız ve diş sağlığı hedefleri 6 yaş grubu çocuklarda %80 çürüksüzlük oranı ile 12 yaş grubunda DMFT değerinin 1.5 olmasıdır (5). Bu hedefler göz önünde bulundurulduğunda, çocuklarda diş dokularının yıkımının ilerlemeden durdurulması, gelecekte ortaya çıkacak ekonomik ve sosyal problemleri en aza indirecektir. Bunun için koruyucu ve durdurucu tedavilerin, etkinliği çok önemlidir (6). Ağızdaki sağlıklı diş sayısını artırmayı amaçlayan diş hekimliğinde, modern tanı yöntemlerinin dişlerdeki sert doku kayıplarını henüz mineral düzeyinde iken saptayabilmesiyle koruyucu ve önleyici tedaviler yaygınlık kazanmıştır (7).

Diş çürüğü ve dental erozyon sonucunda diş sert dokusu olan mine yıkıma uğramaktadır. **Diş çürüğü**; dental plaktaki karyojenik bakterilerin metabolik atıklarının diş yüzeyinde kimyasal çözünme meydana getirmesi şeklinde tanımlanmaktadır (8). Günümüzde karbonhidrat ağırlıklı beslenme alışkanlıkları ve paketli gıda tüketiminin artması gibi sebeplerden kaynaklanan diş çürüğü çocuklarda en sık görülen kronik enfeksiyöz hastalıklardan birisidir (9). **Dental erozyon**; dış veya iç kaynaklı bakteriyel olmayan asitlerin neden olduğu, sert diş dokularının kimyasal aşınması, çözünmesi ve madde kaybı olarak tanımlanmaktadır (10). Son yıllarda çocuklardaki diyet alışkanlıklarının narenciye, meyve suları ve gazlı içeceklerin sık tüketimine yönelik değişmesi, yoğun pazarlama dolayısıyla çocukların daha erken yaşlarda ekşi tatlar ile tanışması dental erozyon prevalansını artırmıştır. Hem diş çürüğü hem de dental erozyon asit kaynaklı süreçler olmasına rağmen, etiyolojileri, klinik tanıları, histolojik görünimleri ve semptomları ile ayırt edilmektedir (11).

Günümüzde diş çürüğüne ve dental erozyona karşı koruyucu tedavide remineralizasyon sağlayan ajanları içeren diş macunları yönünden çeşitlilik artmıştır (7). Florür (F⁻) çürük lezyonlarının tedavisinde uzun yıllar boyunca kullanılan en etkili iyonudur (12). Florür ortamda kalsiyum (Ca²⁺) ve fosfat (PO₄³⁻) iyonlarının varlığında; bakteri metabolizması inhibisyonu ile demineralizasyonu engelleyerek başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunu, mine yüzeyinin pH'nın artırıp yüzeyde kalsiyum florür (CaF₂) tabakası oluşturarak erozyon lezyonlarının remineralizasyonunu sağlamaktadır (13, 14). Flor gibi demineralizasyona karşı etkili olabilecek yeni ürünlerin arayışı devam etmektedir. Yapay çürük lezyonlarına sodyum florür (NaF), kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP), kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat flüorür (CPP-ACPF), ksilitol, novamin, vb. ajanları içeren diş macunlarının etkinliğini farklı yöntemlerle inceleyen çok sayıda in-vitro çalışma bulunmaktadır (15-20). Misvak, propolis, aloe vera, kitoson, galla chinensis, üzüm çekirdeği ekstresi, teobramin vb. gibi bitkisel özden elde edilen macunların başlangıç çürük lezyonlarına karşı etkisini değerlendiren çalışmalara rastlanmıştır (21-25). Asitli içeceklerin demineralizasyon etkisini ve erozyona karşı diş macunlarının etkinliğini inceleyen çalışma olsa da, çoğunlukla SEM, profilometrik analiz, vickers sertlik analizi, ağırlık kaybı gibi yöntemler kullanılmıştır (26-28). Hem başlangıç çürük lezyonlarına hem de erozyon lezyonlarına karşı aynı macunların remineralizasyon etkinliğini mikro-BT ve SEM yöntemleri ile birlikte karşılaştırılan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada; asitli içeceklerin oluşturduğu erozyon lezyonlarına ve yapay başlangıç çürük lezyonlarına karşı, bireysel uygulamalar ile herkesin ulaşabildiği NaF, CPP-ACP ve doğal (propolis/misvak/çay ağacı yağı) içerikli çocuk diş macunlarının remineralizasyon etkisi mikro-BT ve SEM ile incelenecektir. Kullanılan ajanlardan hangisinin, çürükte ve erozyonda daha etkili remineralizasyon sağladığı belirlenecektir. Diş macunlarının içeriklerine göre etkinlikleri konusunda hekimlere referans oluşturmak amaçlanmaktadır. Gelecekte toplumun bilinç düzeyinin yükseltilmesi gıdaları tüketmelerinin sınırlandırılması ilk amaçtır. Toplum ağız ve diş sağlığı için, koruyucu uygulamaların artırılması ve hastaların dental tedavi gereksinimlerinin azaltılması ile ülke ekonomisine katkı sağlamak hedeflenmektedir. Çalışmanın sıfır hipotezi (H_0); hem erozyon hem de başlangıç çürüğü demineralizasyon lezyonlarına karşı diş macunlarının remineralizasyon etkinlikleri arasında istatistiksel bir fark olmadığı yönündedir.

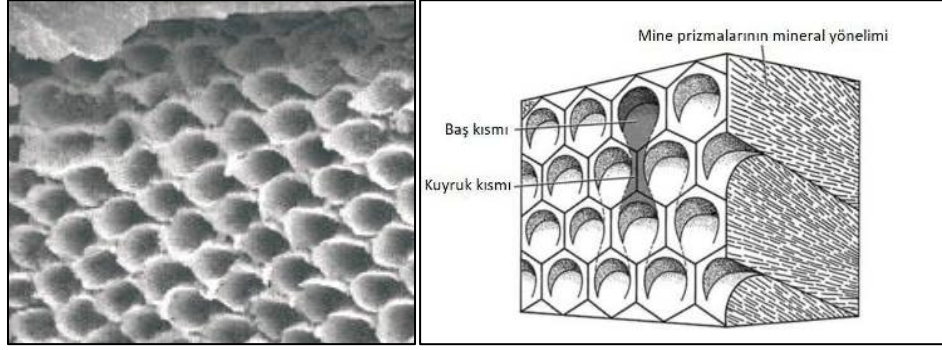
2. GENEL BİLGİLER

Ameloblastlar tarafından üretilerek dişin krununun dış yüzeyini kaplayan dokuya ‘mine’ adı verilmektedir. Ameloblastlar, mine tamamlandıktan sonra fonksiyonel yeteneklerini kaybettiklerinden dolayı formasyon sonrası mine dokusu kendini tamir etme yeteneğine sahip değildir, sadece mineral kaybı ya da kazancına izin vermektedir (29). 20. yüzyılın başından bu yana, prevalansı artan diş çürüğü ve dental erozyon kaynaklı mine lezyonları üzerinde, minenin doğal tamir süreci olarak da tanımlanan remineralizasyonunun önemi ön plana çıkmıştır (30).

2.1. Diş Minesinin Yapısı

Minenin ağırlıkça %96-97’sini inorganik yapı, %1’ini organik yapı ve geri kalanını ise su oluşturur. Hacimsel olarak bakıldığında ise %85’ini inorganik yapı, %3’ünü eşit hacimlerde proteinler, lipitler ve geri kalan %12’lik kısmını ise su oluşturmaktadır (31).

Organik yapıyı proteinler, lipitler, karbonhidratlar, sitrat ve laktozlar oluşturmakla beraber, kalsifikasyona yardımcı olan fosfor yüksek oranda bulunmaktadır. Prizmatik yapıya sahip minenin inorganik bölümü ise esas olarak Ca^{2+} ve PO_4^{3-} kristalleri içeren, kimyasal molekül formülü $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_2$ olan hekzagonal hidroksiapatit (HAP) kristallerinden oluşur. Mine yapısını oluşturan HAP kristalleri 55-80 nanometre (nm) genişliğinde, 24.5-28.5 nm kalınlığında ve 100-1000 nm uzunluğunda olup, kemik ve dentindeki kristallerden yaklaşık 10 kat daha büyüktür ve elektron mikroskopunda kolaylıkla görülebilir. Milyonlarca sayıda uzun, ince HAP kristalleri bir araya gelerek minenin en küçük yapı birimi olan, 4-8 mikrometre (μm) çapındaki altıgen şekilli mine prizmalarını meydana getirirler. 1 milimetre küp (mm^3) minede 3000-4000 adet mine prizması bulunmaktadır. Her bir mine prizmasının etrafında mineye özgü enamelin proteininden oluşan ve prizma kını adı verilen bir kılıf bulunmaktadır. Mine prizmaları arasında, ‘por’ olarak adlandırılan ve mineye geçirgenlik özelliği kazandırdığı gibi aynı zamanda yoğunluk ve sertlik özellikleri üzerinde de etkili olan boşluklar bulunmaktadır. Sıralanmış mine prizmaları sayesinde mineden alınan enine kesitlerde ‘anahtar deliği’ şeklinde yapılar görülmektedir (32) .



Şekil 2.1. Mine prizmalarının 'anahtar deliği' görüntüsü (33)

Mine bu porlar sayesinde mikroporöz bir yapıdadır. Asit atakları nedeniyle hidroksiapatit kristali bir miktar çözündüğünde, kristalin boyutları küçülür ve mikroporların boyutları artar. Bu da hem kristaller arası boşlukların hem de dokunun porözitesinin artmasına yol açar. Mine, poröz yapısından dolayı demineralizasyon ve remineralizasyon potansiyeli gösteren bir dokudur (34). Vücudun en sert dokusu olmasına karşın bazı bakteriler, küçük asit molekülleri, F^- , Ca^{2+} , PO_4^{3-} gibi çeşitli iyonlar ve sıvılar için geçirgendir. Ortamda serbest olarak bulunan eser miktarda flor ve karbonat gibi negatif yüklü iyonlar ile sodyum, çinko, stronsiyum ve potasyum gibi pozitif yüklü iyonlar hidroksiapatit kristallerinin yapısına katılabilir. Mineyi oluşturan kristallerin boyutu, biçimi ve düzeninin yanı sıra kristal yapıya katılan bu negatif ya da pozitif yüklü iyonlar, minenin asit ortamdaki çözünürlüğünü, dolayısıyla erozyon ya da çürüğe bağlı yıkımını etkiler (35).

2.2. Demineralizasyon

Tekrarlayan asit atakları, H^+ iyonunun minenin yüzey ve yüzey altı bölgelerindeki HAP kristallerini çevreleyen porlardaki sıvıya doğru hızlı bir şekilde itilmesine neden olur. Ağız ortamının kritik pH'nın (5.5) altına düşmesi ile beraber diş dokusu yüzeyinde bulunan Ca^{2+} , PO_4^{3-} iyonları uzaklaşır ve sert doku yapısında oluşan çözünme demineralizasyon olarak tanımlanmaktadır (36). Prizmatik minede ilk oluşan lezyonun yüzeysel prizma kısmında gerçekleştiği ve daha sonra prizma boşluklarını etkilediğini, ancak aprizmatik minede ise prizmatik minedeki kadar fazla yıkımın olmadığı bilinmektedir. Mine yüzeyinden ilk olarak kalsiyum florürün (CaF_2) çözündüğü, sonrasında ise sırasıyla hidroksiapatit (HAP) ve flor hidroksiapatitin (FHAP) çözündüğü bilinmektedir (37).

2.3. Remineralizasyon

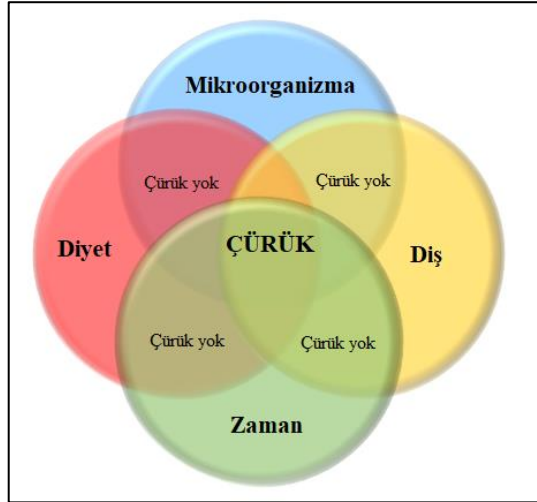
Demineralizasyon süresince kaybedilen Ca^{2+} ve PO_4^{3-} iyonlarının ağız sıvılarında ve plak yüzeyinde depolandığı bilinmektedir. Kaybedilen iyonların tekrar birikebilmesi remineralizasyon olarak tanımlanmaktadır (38). Tükürük tarafından tamponlanıp pH'nın yükselmesine bağlı olarak, çözünen mineraller tekrar mine yüzeyine çöker. Remineralizasyon esnasında Ca^{2+} ve PO_4^{3-} iyonları aşırı doymuş ortam olan tükürük ve plaktan, daha az doymuş olan mineye porlar ve pasif transport yoluyla geçer (39). Tükürük, plak gibi lokal çevre ile mine yüzeyi arasındaki iyon değişimi, demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsünü dinamik tutar. Bu denge demineralizasyon lehine kayarsa mine yüzeyinde kavite oluşur. Kavite oluşmadan mine lezyonlarının non-invaziv yöntemlerle, iyileşebildiğini ve dengenin remineralizasyon lehine çevrilebildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (40-43).

2.4. Diş Çürüğü

Diş çürüğü, karyojenik mikroorganizmaların, diyetle alınan karbonhidratları fermente etmesi ile ortaya çıkan metabolik asit artıklarının zamanla diş yüzeyini lokalize ve kimyasal olarak çözmesi sonucunda meydana gelen kronik, enfeksiyöz bir hastalıktır (8).

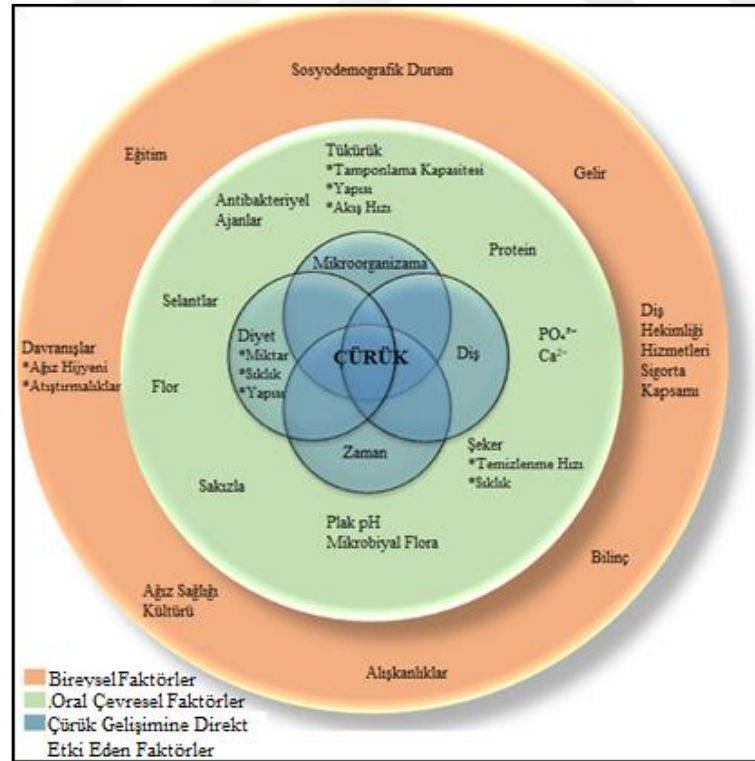
2.4.1. Diş Çürüğü Etiyolojisi

Diş çürüğü etiyolojisi multifaktöriyeldir. 1890'da Miller "kemoparazitik teori" ile bakterilerin oluşturduğu diş kaynaklı limon tuzu benzeri yapıların, diş çürüğü oluşumunda ilk aşama olduğunu ileri sürmüştür (44). İlerleyen süreçte kemoparazitik teoriye ek olarak diş çürüklerine sebep olan asitlerinin kaynağının jelatinöz mikrobiyal plak olduğu Black'in yaptığı çalışmalarla belirtilmiştir (45). 1960 yılında ise Keyes tarafından çürük oluşumunda gerekli olan 3 faktör diş, plak ve diyet şeklinde diyagram ile sembolize edilmiştir(46). Newbrun tarafından "zaman" eklenerek çürük oluşumunda etkili faktörler günümüzdeki halini almıştır (47). Diş çürüğü oluşumunda; çürük yapıcı **mikroorganizmalar**, konak yapı **diş**, fermente olabilen karbonhidrat içerikli **diyet** ve sürecin gerçekleşebilmesi için **zaman**, olmak üzere 4 ana faktörün doğrudan rol oynadığı bilinmektedir (48) (Şekil 2).



Şekil 2.2. Diş çürüğü oluşumunda direkt rol alan 4 ana faktör (48)

Daha sonraki yıllarda ise diş çürüğü oluşumunda; tükürük komponentleri, tamponlama kapasitesi, akış hızı, diyet ve oral hijyen alışkanlıkları, genetik ve kültürel özellikler, immünolojik, davranışsal ve çevresel faktörler, sosyoekonomik durum, eğitim seviyesi ve flor kullanımı gibi birçok ikincil faktörün de rol oynadığı saptanmıştır (49). 1990 yılında Fejerskov ve Manji tarafından diş çürüğü oluşumu etiyojisi; ana faktörler, çevresel ve bireye ait olan etkenler olmak üzere üçe ayrılmıştır (50) (Şekil 3).



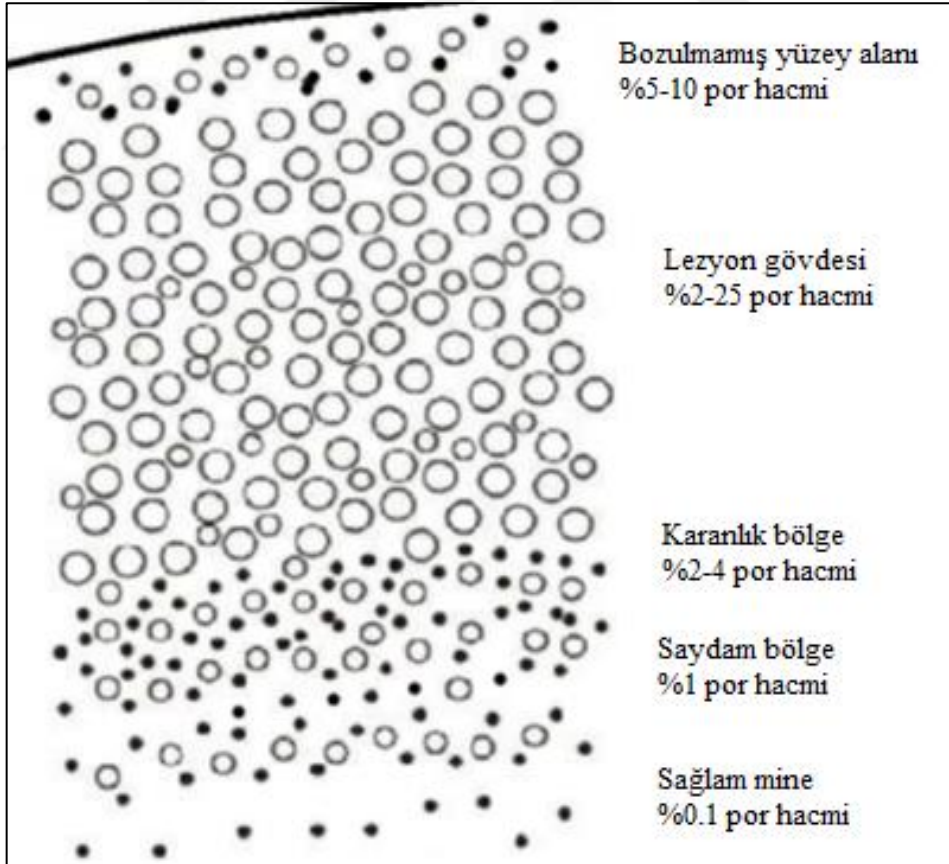
Şekil 2.3. Diş çürüğü etiyojik faktörleri (50)

2.4.2. Başlangıç Çürük Lezyonlarının Klinik Görünümü

Diş çürüğünün klinik olarak gözlemlenen ilk aşamasıdır. Mine dokusuyla sınırlı, kavitasyonsuz, poröz yapıda, demineralize alanlar başlangıç çürüğü olarak tanımlanmaktadır (51). Mineral içeriği lezyonu çevreleyen mineye oranla daha azdır. Kırılma indeksinin farklılık göstermesi nedeniyle klinikte beyaz opak olarak görülür. Başlangıç çürük lezyonları “düz yüzey çürüğü” ya da “beyaz nokta (white spot) lezyonu” olarak adlandırılır (39). Başlangıç lezyonlarının yüzeyi; nemli iken translusent, kurutulduğunda ise opak beyaz renktedir. Mine tabakasının 10-100 µm derinliğe kadar bozulmadan kalabildiği ve bu nedenle başlangıç çürük lezyonlarının radyografide sadece radyolusent görüntü halinde izlenebileceği bildirilmiştir. Mine lezyonlarının gözle görülebilmesi için 300-500 µm derinliğine ulaşması gerekmektedir (52).

2.4.3. Başlangıç Çürük Lezyonlarının Histolojik Görünümü

Çürük lezyonları saydam (translusent) tabaka, karanlık tabaka, lezyon gövdesi ve yüzeyel tabaka olmak üzere 4 ayrı histolojik tabakada sınıflandırılmaktadır.



Şekil 2.4. Başlangıç çürüğünün mikroskobik tabakaları (53)

Saydam (Translulent) Tabaka:

Başlangıç çürük lezyonunun en derin olduğu ve sağlıklı mineden farklılık gösterdiği ilk tabakadır. Bu tabakada asit yeni penetre olduğu için mineral kaybı %1-2 gibi az bir orandadır. Quinolin sıvısı minedeki porlardan perfüze edilip polarize ışık mikroskobunda incelendiğinde, sağlıklı mine ile aynı kırılma indeksine sahiptir. Saydam bir alan gözleendiğinden bu isim verilmiştir. Sağlıklı minede por hacmi %0.1 iken, bu tabakada por hacmi yaklaşık %1'dir (54).

Karanlık Tabaka:

Başlangıç çürük lezyonlarında görülen en derin ikinci tabakadır. Demineralizasyon miktarı, translulent tabakadan fazla, lezyon gövdesindeki demineralizasyondan ise daha az olmak üzere yaklaşık %5-10 oranında mineral kaybı görülür. Bu tabakanın birçok demineralizasyon ve remineralizasyon aşamalarından geçtiği için porların daralarak mikropor haline dönüştüğü düşünülmektedir. Bu sebeple, quinolin solüsyonunun mikroporlardan absorbe olamayıp polarize ışık mikroskobunda karanlık bir alan görüldüğünden bu isim verilmiştir. Karanlık tabaka, çürüğün hızlı ilerlediği durumlarda daha ince, yavaş ilerlediği durumlarda ise daha geniş görülmektedir. Por hacmi ise %2-4 arasındadır (55).

Lezyon Gövdesi:

Başlangıç mine lezyonlarının en geniş tabakasıdır. Sağlıklı mineye göre %24 daha az mineral içerir. Bu tabaka oldukça poröz ve boşluklu bir yapıdadır. Bu geniş boşluklu tabakada bakterilerin dahi gözlenebildiği, transmisyon elektron mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda bildirmiştir. Por hacmi periferde %5'ten, merkezde %25'e kadar değişim gösterir (56).

Yüzeyel Tabaka:

Başlangıç çürük lezyonlarının en dış, en sert ve etkilenmemiş tabakasıdır. Oluşan mineral kaybı %5-10 arasındadır. Bu yüzeyel mine tabakası, bir difüzyon ortamı oluşturarak minenin içine ve dışına hareket eden minerallerin geçişine izin verir. Hem tükürükten hem de yüzey altında çözünen mineden kaynaklı mineraller bu tabakanın formasyonuna yardımcı olmaktadır. Yarı saydam tabakaya benzer şekildedir ve por hacmi %1 civarındadır (37).

2.4.4. Yapay Çürük Modelleri

Tıp ve diş hekimliğinde materyallerin etkinlikleri konusunda daha fazla bilgi edinebilmek amacıyla birçok simülasyon modeli kullanılmaktadır. Diş hekimliğinde karyoloji araştırmalarında, in-vivo ve in-situ çalışmalarında kullanılmasıyla birlikte en yaygın olarak kullanılan yöntem in-vitro modellerdir. Yapay çürük modelleri, diş çürüklerinin demineralizasyon ve remineralizasyon mekanizmalarının anlaşılması için oluşturulmuş çalışma modelleridir (57).

İn-vivo Hayvan Çürük Modelleri: Birçok sağlık alanında hayvan modelleri yıllardır kullanılmaktadır. Dental materyallerin test edildiği çok sayıda diş hekimliği çalışmasında kobay fareler kullanılır. Diyet, mikrobiyolojik elementler, diş bileşimi ve de-remineralizasyon süreçleri dahil olmak üzere çürük oluşumu ve bunların etkileşimleri simüle edilebilir. Diş boyutlarının küçük olması, pahalı ve zaman alıcı olması bu modellerin dezavantajını oluştururken, insanlarla yapılan çalışmalarla benzer sonuçlar ortaya koyması ise avantajıdır (58).

İn-situ Çürük Modelleri: İn-situ çalışmalar değerli sonuçlara ulaşılmasına imkân vermekle beraber hassasiyet gerektirdikleri için çok iyi tasarlanmalıdır. Bu çalışmalar diş hekimliğinde ağız bakım ürünlerinin değerlendirilmesinde, mineralizasyon araştırmalarında sıklıkla tercih edilmektedir. İn-situ modeller ile diş çürüğü; mine veya dentin blokların kesitler halinde hazırlanıp, hareketli apareyler ile ağız içinde belirli bir süre takip edilmesi ile oluşturulmaktadır. Ardından demineralizasyon ve remineralizasyon ağız dışında değerlendirilir. Diş çürükleri ile ilgili çalışmalarda; ağız içi ortamın sağlanması, in-vitro çalışmalara olan üstünlükleri ve klinik çalışmalara karşın etik kaygının daha az olması ve zaman kazandırması sebebiyle geniş ölçüde kullanılırlar (59).

Bakterilerin Ürettiği Asitlerin Kullanıldığı İn-vitro Çürük Modelleri (Biyofilm Modeli): Ağız mikroflorasında bulunan S. mutans bakterilerinin ve besleyici ajanların oluşturduğu bakteri kültür ortamında, önceden çalışma alanları hazırlanmış diş numuneleri bekletilerek demineralizasyon oluşturulur. Bakterilerin besinleri fermente etmesi ile oluşan organik asitler demineralizasyon sürecini başlatır. İn-vivo modele en yakın olarak kabul edilse de; bakteriler ile çalışmanın insan sağlığı ve çevre sağlığı açısından riskli olması, ortamdaki kalsiyum, fosfat ve flor iyon seviyelerinin ve pH değerinin kontrol altında tutulamaması modelin dezavantajları arasındadır (60).

Asit Tamponların Kullanıldığı (Kimyasal) İn-vitro Çürük Modelleri: Asit jel veya kalsiyum, fosfat ve flor içeren, pH seviyesi 4.5-5.0 arasında dikkatlice ayarlanmış laktik asit veya asetik asit barındıran solüsyonların kullanıldığı en basit çürük oluşturma yöntemidir. Çalışma alanı önceden hazırlanmış diş numuneleri bu solüsyonlar içerisinde bekletilerek demineralizasyon oluşturulmaktadır. Yapay çürük lezyonların histolojik özellikleri doğal lezyonlara benzer görünüm sergilerken, substrat yüzeyinde solüsyon veya jel kalıntılarının olabilmemesi, asitlerin sürekli yenilenme ihtiyacı, tükürük ve remineralizasyon gibi faktörlerin tam olarak simule edilememesi dezavantaj olarak kabul edilmektedir (61).

pH Siklusunun Kullanıldığı (Kimyasal) İn-vitro Çürük Modelleri: İlk olarak 1982 yılında ten Cate ve arkadaşları (ark.) (62) tarafından pH siklus modeli ortaya konmuştur. Modellerdeki demineralizasyon-remineralizasyon kombinasyonu; ağız içerisinde gün boyunca art arda gerçekleşen çürük oluşum sürecindeki mineral kayıp ve kazanç dinamiklerini taklit etmek için tasarlanmıştır. Beslenme sırasındaki şeker alımını takiben ortaya çıkan asidik ortamı yani in-vivo koşulları yansıtmayı amaçlamaktadır. pH siklus deneyleri, çalışma alanı önceden hazırlanmış mine numunelerini her gün yaklaşık 6 saat süreyle demineralizasyona, 24 saatlik sürenin geriye kalan 18 saatlik kısmında ise remineralizasyona tabi tutmak üzere tasarlanmaktadır (63). Bu yöntemin demineralizasyon fazında pH'sı 4.3 gibi düşük seviyelerde Ca^{2+} ve PO_4^{3-} içeren asit tamponları kullanılarak, remineralizasyon solüsyonunun pH'sı ise 7 ve doğal tükürükte bulunan Ca^{2+} ve PO_4^{3-} seviyeleri dikkate alınarak gerçekleştirilmektedir. Solüsyonlar günlük olarak yenilenmektedir (64).

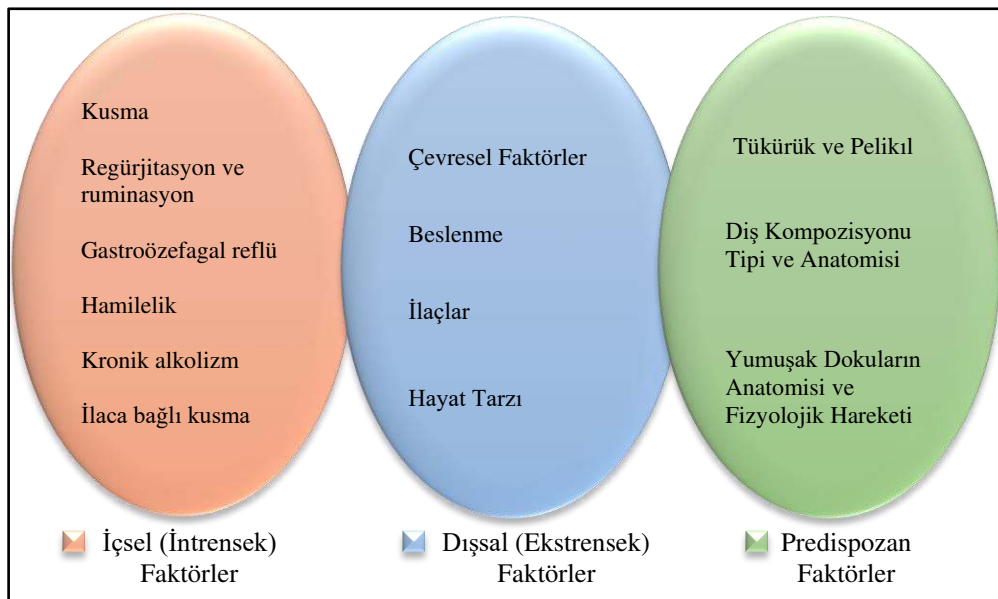
Bu modellemede demineralizasyon ve remineralizasyon hakkındaki tüm gelişmelerde klinik çalışmalara göre daha duyarlı veriler elde edilmesi, gerçek mineral kayıp ve kazançlarının çalışmaya entegre edilebilmesi çalışmanın avantajıdır. Solüsyonların düzenli olarak yenilenmesi ve etken faktörlerin (biyofilm) ortadan kaldırılması gibi yüksek derecede bilimsel kontrol sağlanması sayesinde az sayıda örnek ile çalışılabilmesi ise diğer bir avantajıdır. Yöntemin başlıca dezavantajları ise karmaşık ağız içi koşulları gerçeğe yakın taklit edememesi, ürünlerinin topikal kullanımı dolayısıyla yoğunluğunun taklit edilmesinin mümkün olmaması ve de-remineralizasyon süreleri ile ilgili fikir ayrılıklarının olmasıdır (57).

2.5. Dental Erozyon

Dental erozyon; dış veya iç kaynaklı bakteriyel olmayan asitlerin uzun süreli temasıyla ve ağız ortamı pH'sını 5.5'in altına düşürmesiyle, diş dokularının kimyasal aşınması, çözünmesi ve sert doku kaybı olarak tanımlanmaktadır (10). Dişlerin çürüksüz şekilde ağızda kalma sürelerinin uzamasıyla beraber aside maruziyetteki artış, dental erozyon görülme sıklığı ve şiddetini giderek artırmaktadır. Dental erozyon, en sık gözlenen diş aşınma tipidir

2.5.1. Dental Erozyon Etiyolojisi

Dental erozyon etkenleri içsel, dışsal ve predispozan faktörler olarak 3'e ayrılır (65) (Şekil 2.5). Mide parietal hücreleri tarafından üretilen gastrik asitin (hidroklorik asit) ağız florasında yaygın olarak bulunmasına neden olan; kusma (kronik veya ilaca bağlı), yeme bozuklukları (anoreksiya ve bulimia nevroza), gastroözefagial hastalıklar (kas yetersizliği, reflü, peptik ülser ve gastrit), kronik alkolizm ve hamilelik gibi durumlar etiyojinin intrinsek faktörlerini oluşturur (66). Hidroklorik, nitrik ve sülfürik asit gibi inorganik asitlere günlük olarak maruz kalan meslek grupları (savaş gereçleri, pil, galvaniz ve gübre fabrikaları işçileri, araştırma laboratuvarı çalışanları, profesyonel şarap tadıcıları, profesyonel yüzücüler), çeşitli ilaçlar (C vitamini tabletleri, asetilsalisilik asit, tamponlama kapasitesini ve tükürük akış hızını düşüren antihistaminikler, antidepresanlar, antiemetikler, yan etki olarak kusmaya sebep olan östrojen, kemoterapi ajanları) ve hayat tarzı (düzenli ağız bakım alışkanlıkları) etiyojinin ekstrinsek faktörleri arasında yer alır (67).



Şekil 2.5. Dental erozyonun etiyolojik faktörleri

Asidik yiyecek ve içecekler ile beslenme ise dental erozyon etiyolojisinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Erozyona ilişkin 1993 yılında İngiltere’de O’Brien tarafından yapılan ilk ulusal incelemede dental erozyonun çocuk ve genç adoloslarda çok yaygın olduğu, temel olarak asitli içeceklerden kaynaklandığı rapor edilmiştir (68). Eroziv potansiyeli yüksek yiyecek ve içecekler, yapılarında bir ya da daha fazla zayıf asit türü barındırmaktadır. Yiyeceklerde ve içeceklerde bulunan en yaygın asitler fosforik, sitrik, laktik, tartarik, asetik, askorbik ve maleik asitlerdir. Dental erozyonun gelişimi için kritik bir pH bulunmamaktadır. Portakal ve limon suyu (pH=3.5) sitrik asit içermektedir. Elma, erik ve şeftalili içeceklerin (pH=4.1) içinde maleik asit; üzüm suyunda (pH=3.4) tartarik asit; kolalı içeceklerin (pH=2.7) içinde ise fosforik asit bulunur. Laktik asit özellikle fermente ürünlerde, yoğurt (pH=4.2), krema ve sodalar içerisinde yer alır (69).

İçeceklerdeki eroziv potansiyel pH’ları ve tamponlama kapasitesiyle ilişkilidir. Doğal pek çok ürün zayıf asit dolayısıyla proton salar ve dişte çözünmeye neden olur (70). Zayıf asitlerin yüksek tamponlama kapasitesine sahip olması belirli bir pH’ da tükürüğün nötralize edici etkisine karşı dirençli olmaları anlamına gelmektedir ve asitliklerini korudukları için uzun temas süreleri sonucunda dental erozyona sebep olurlar. Aynı zamanda bu gıda maddelerinin kalsiyum ve fosfat doygunluklarının diş yüzeyine göre daha düşük olması diş sert doku çözünmelerini hızlandırmaktadır (71). Bir gıda maddesine ilk olarak tat dengelemesi ve sevilen, hoş tat vermesi için asit eklenmektedir. Bu sebeple insanlar genellikle daha asitli yiyecek ve içecekleri tercih eder. Aynı zamanda bu asitler; maya, küf, bakteri gibi mikroorganizmaların büyümesini ve çoğalmasını engeller. Gıda maddelerine asit ilave edilmesinin ikinci nedeni; asidik ortam yaratarak patojen mikroorganizmaların oluşumunu engellemek ve ürün güvenliğini sağlamaktır (65).

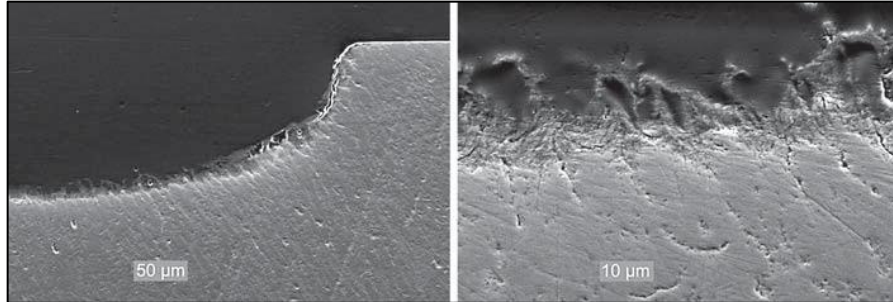
Hidrojen ve bikarbonat içeriği, diyet asitlerini nötralize etme, tamponlama, temizleme kapasitesi ve akış oranı ile tükürük; diş yüzeyi ile asidin direkt temasını engelleyip, remineralizasyon elektrolitleri için rezervuar görevi görmesi ile pelikül; organik, inorganik kompozisyon, erozyona yatkınlık farklılığı sebebiyle diş kompozisyonu, tipi ve anatomisi; eroziv maddelerin diş yüzeylerine temasının belirlenmesi ile yumuşak dokuların anatomisi ve fizyolojik hareketi erozyon oluşumunda etkili olan predispozan faktörlerdir (72).

2.5.2. Başlangıç Erozyon Lezyonlarının Klinik Görünümü

Başlangıç mine erozyonları asemptomatiktir. Diş yüzeyinde renklenme veya herhangi bir ağrıya neden olmaz. Mine erozyonları başlangıçta diş üzerinde pürüzsüz, cilalı yüzeyler olarak ortaya çıkar. Yüzey anatomisinin kaybı, sık iç bükey alanlar, daha sonra ise basamaklı bir yüzey görünümü ortaya çıkar (73). Daha ileri aşamalarda, mine morfolojisinde genişliği derinliğini aşan bir iç bükeyliğin gelişmesine neden olur. Okluzal bölgedeki erozyon okluzal yüzeyin ve tüberkül tepelerinin yuvarlaklaşmasına ve çukurların oluşmasına yol açar. Sıklıkla alt posterior dişlerin tüberküllerinde fincan şeklinde çukurlaşma görülmekte iken ön dişlerin klinik muayenesinde yüzey anatomisinde kayıp, translusensi artışı ve minede kayıp izlenebilir. Başlangıç aşamasında mine demineralizedir, ancak yüzeyin yumuşaması klinik olarak belirlenemez. Aproksimal yüzeylerdeki eroziv lezyonların tanısı oldukça zordur fakat nadiren maksiller santral keserlerde ters V şeklinde görülmektedir (74).

2.6. Başlangıç Erozyon Lezyonlarının Histolojik Görünümü

Erozyonun histolojisi, çürükten çarpıcı biçimde farklıdır. Minedeki başlangıç aşamasındaki erozyon lezyonu; 0,2-3µm kalınlığında parsiyel demineralizasyona bağlı pürüzlülüğün artması, yumuşama ile karakterize olan merkezci bir süreçtir (75). Diş eroziv ataklara maruz kalmaya devam ederse bütünsel olarak mine kaybı gözlenmeye başlar. Yapısı bir 'dağlama' şeklinde görülür. Enine kesitlerde yüzeyde ince ve gevşek bir tabaka bulunur. Bu histolojik görüntü erozyonun aşamalarına göre değişiklik göstermektedir (76). Sitrik asitle aşındırılan mine numunlerinden alınan kesitlerin SEM görüntülerinden ilkinde aşınmış yüzeyde ince, gevşek yapılı, kısmen demineralize bir tabaka ile belirgin doku kaybı gözlenirken, ikincisinde daha yüksek bir büyütmede dentine ulaşmadan demineralize bir alan şekli 2.5'te gösterilmektedir. (pH 2.3, 6 × 5 dak/gün; 10 gün sitrik asite maruz kalmıştır.)



Şekil 2.6. Sitrik asitle aşındırılan mine kesitlerinin SEM görüntüleri (75)

2.6.1. Yapay Erozyon Modelleri

Erozyonun ölçülmesindeki ve değerlendirmedeki zorluklar, eroziv ajanlar dışındaki diğer faktörlerin elimine edilememesi, hassasiyet gerektirmesi, uzun soluklu çalışmalar olması nedeniyle in-vivo ortamdaki çalışmalara karşın in-vitro ve in-situ modeller geliştirilmiştir. Buna rağmen erozyon modellerinin standardizasyonu hakkında çok az rehberlik bulunmaktadır (77).

İn-situ Erozyon Modelleri: Bu modelde diş numuneleri; ağızda aralıklı / sürekli olan çıkarılabilir apareyler veya ağızda sürekli mevcudiyeti olan sabit apareylerle beraber olmak üzere ağızda taşınır. Önceden belirlenmiş zamanlarda eroziv etkenlere veya tedavilere maruz bırakılır. Doku kaybı, analitik yöntemlerin kullanımına izin vermek amacıyla ex-vivo olarak değerlendirilir. Bu nedenle in-situ erozyon modelleri, tükürük akışı, pelikül gelişimi ve rutin ağız bakımı, asitli içeceklerin tüketim sıklığı gibi davranışsal faktörlerin de etken olduğu ağız içi doğal bir ortamı yansıtmayı sağlar. Bu çalışmalar arasında; numunelerin ağızdaki pozisyonu (palatal, bukkal, okluzal), içeceklere maruz kalma miktarı, tedavilerin ağız içinde veya dışında uygulanması, diş numunelerinin yüzey farklılığı gibi varyasyonlar bulunmaktadır (77).

İn-vitro Erozyon Modelleri: Bu modeller dış ortamda erozyon sonucu demineralizasyon ve remineralizasyonu test eden modellerdir. Kısa sürede uygulanabilmeleri, diğer faktörlerin elimine edilebilmesi, kooperasyon gerektirmemesi in-vitro erozyon çalışmalarının avantajları arasında yer alırken, ağız ortamı biyolojik varyasyonlarının bütününi taklit edememeleri ise dezavantajlarıdır. Kullanılan asidik içeceğin türü, hacmi, sıcaklığı, pH'sı, tamponlama özellikleri, maruz kalma süresi, viskozitesi, ajanın ne sıklıkla değiştirildiği gibi birçok varyasyon bulunmaktadır. Kısa süreli asidik içeceğe maruz kalma sonucu diş yüzeyinde meydana gelen olay 'yumuşama (başlangıç erozyonu)' olarak adlandırılırken, daha uzun süre maruz kaldığında oluşan yıkım ise 'eroziv diş aşınması' olarak adlandırılır. Her iki etki süregelen bir süreç olduğu için, yalnızca yüzeydeki sertlik kaybı ile ilgili modelleri ve madde kaybını içeren modelleri ayırmak zordur (78).

Bildirilen başlangıç erozyon protokolleri iki kategoriye ayrılır: ilki yalnızca aside maruz kalanlar, ikincisi ise kısa süreli asit ardından remineralize ortama maruz kalanlardır. Asitlere çok kısa süre maruz kalmaları ve asit etkinin remineralize edici solüsyonlar ile uzaklaştırıldığı siklus modelleri, ağız boşluğundaki aşındırıcı etkiyi ve tükürük ile tamponlanmayı daha iyi yansıtan modellerdir (78).

Zürih'te 2010 yılında erozyon araştırmaları için hem in-vitro hem de in-situ modellerin geliştirilmesi ve uygulanması için standart rehberlik sunmayı amaçlayan Erozyon Araştırmalarında Metodoloji Çalıştayı gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalıştayda insan veya elde edilmesi daha kolay sıgır dişlerinin kullanılabileceği, numuneler hazırlanırken düz bir yüzey elde edilmesi amacıyla cilalama prosedürünün standart şekilde yapılması gerektiği, çalışma öncesinde numunelerin timol kristallerinin bulunduğu nemli ortamda saklamasının önerildiği, kullanılan aşındırıcı ajanın türünün, pH ve TA değerlerinin çalışmanın amacına bağlı uygun olması gerektiği (gastrik asit; hidroklorik asit, portakal suyu; sitrik asit, gazlı içecekler; malik asit vb.), ortam koşullarının vücut sıcaklığında (37°C) veya oda sıcaklığında (25°C) uygulanabileceği bildirilmiştir. Erozyon ile süresi konusunda mutlak bir fikir birliği yoktur. Asidik bir içecek içerken, tükürüğün seyreltme etkisi ve ağız boşluğunda eşit olmayan dağılım nedeniyle diş yüzeyinin kritik pH'ın altında olduğu süre yaklaşık 1-2 dakikalık kısa bir zaman zarfı olmaktadır. İn vitro modelleri uygularken, in-vivo şartlardaki maruz kalma süresini taklit etmek gerektiği belirtilmiştir (79).

Ameachi ve ark. (80) yaptıkları çalışmada numuneleri günde 6 kez 5 dk olmak üzere portakal suyuna daldırarak toplamda 6, 8, 10 ve 12 saat boyunca erozyona maruz bıraktı ve sonuç olarak lezyon derinliği ile süre ve mineral kaybı ile süre arasında doğrudan bir ilişki olduğunu bildirdi. İlave olarak çalışmada sıcaklık arttıkça erozyonun ve mineral kaybının arttığını ortaya koydu. Von Frauer ve ark. (81) günlük ortalama 25 ons meşrubat tüketimi sonrasında tükürük klirensi oluşmadan önce dişlerin maruz kalma süresinin 20 saniyeye yaklaşacağını; yılda yaklaşık 90.000 saniye (1.500 dakika veya 25 saat) olacağını hesaplayarak, çocuklarda ve genç yetişkinlerde potansiyel erozyon ataklarını değerlendirmek için makul bir süre olduğunu bildirdiler.

Poggio ve ark. (82) 50 adet çekilmiş insan kesici dişlerinde 2 dakikalık sürelerde 4 kez kola içerisine daldırma yaparak erozyon lezyonları oluşturmuş ve bu lezyonların tedavisinde Pronamel, Biorepair Plus diş macunlarının etkinliğini araştırmışlardır. Colombo ve ark. (83) ortalama ağırlık kaybı yüzdesini ölçtükleri çalışmalarında farklı koruyucu ajanların mine erozyonu üzerindeki etkisini karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Oda sıcaklığında, günde 4 kez 2 dk süreyle kolaya maruz bırakıp, ardından deiyonize su ile durulama şeklinde erozyon lezyonları oluşturmuşlardır.

2.7. Demineralizasyon Gösteren Mine Lezyonlarının Remineralizasyonu

Remineralizasyon; demineralizasyona bağlı iyon kaybı nedeniyle oluşmuş mine kristalleri arasındaki boşluklara, ortamda serbest olarak bulunan Ca^{2+} , PO_4^{3-} ve olası F- iyonlarının poröz yapıdaki yüzeyel tabakada bulunan porlardan geçerek depolanması şeklinde gerçekleşir (84). Demineralizasyon-remineralizasyon süreçleri, ağız sıvılarının (tükürük ve plak) minerallere doygunluğu ile belirlenmektedir. Başlangıç çürüklerinin optimal remineralizasyonu ortamda 1-2 mmol/L gibi düşük konsantrasyonlarda bulunan iyonize kalsiyum ve fosfatın kristal oluşturmalarıdır. Daha fazla konsantrasyonlar ise çökelmeye ve porların tıkanmasına sebep olur. Başlangıç çürük lezyonlarından farklı histolojisi olan erozyon lezyonlarının remineralizasyonu ise ortamdaki iyonize kalsiyum, fosfat ve olası flor iyonlarının; mine yüzeyindeki kısmen demineralize poröz tabakaya kalsiyum fosfat tuzu kristalleri halinde çökmesi şeklinde gerçekleşmektedir (85). Remineralize minenin, orijinal mineye göre daha dirençli olduğu, histopatolojik incelemelerde ise remineralize mine kristal yapısının dağınık ve rastgele dizildikleri orijinal mine kristalleri kadar mükemmel olmadığı görülmüştür (86).

2.8. Non-İnvaziv Remineralizasyon Teknolojileri

20. yüzyılın başından bu yana minenin doğal iyileşme süreci olan remineralizasyon bilinmesine karşın; hem erozyon hem de başlangıç çürüğü üzerindeki koruyucu ve önleyici yaklaşım son 20-30 yıldır ön plana çıkmıştır. Demineralizasyon lezyonlarının non-invaziv tedavisinde florun yanı sıra; son yıllarda güncel teknolojilerle geliştirilen çeşitli kalsiyum, fosfat ve bitkisel içerikli ajanlar da önem kazanmıştır (30).

Mineral ve İyonlar	Şeker Alkolleri	Bitkisel Kaynaklı Ajanlar	Biyoaktif Materyaller ve Nanoteknolojik Ürünler	Diğer Kalsiyum ve Fosfat Kaynaklı Ajanlar
•Flor •Gümüş •Demir	• Ksilitol • İzomalt • Sorbitol	• Kitosan • Galla Chinensis • Üzüm Çekirdeği Ekstresi • Teobromin	• Novamin • Trikalsiyum Silikat • Kazein Fosfopeptit–Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP) • Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Floro Fosfat (CPP-ACP) • Trikalsiyum Fosfat (TCP)	• Dikalsiyum Fosfo Dihidrat (DCPD) • Kalsiyum Fosforil Oligosakkarit • Kalsiyum Karbonat (CaCO_3) • Sodyum Trimetafosfat (STMP) • Kalsiyum Glisero fosfat (CAGP)

Şekil 2.7. Güncel teknoloji ile geliştirilen remineralizasyon ajanları

2.8.1. Mineral ve İyonlar

2.8.1.1. Flor

Flor (F⁻) elementi, keskin kokulu, sarımsı-yeşilimsi renkte bir gazdır. Yüzey enerjisi diğer tüm elementlerden daha yüksek olduğundan en reaktif ve en elektronegatif element olarak bilinir. Dolayısıyla doğada serbest halde bulunmaz. Kalsiyum ve sodyum gibi diğer pozitif yüklü iyonlarla bileşikler oluşturarak genellikle CaF₂ ve sodyum florür gibi inorganik florür bileşikleri halinde bulunur. Toprakta, volkanik kayalarda, atmosferde, yer altı suları veya sıcak kaynak suları olmak üzere yer kürede %0.03 oranında flor bulunur. Yiyecek ve içeceklerde eser miktarlarda olmasına rağmen en çok çay, tütün gibi bitkisel ve balık gibi hayvansal ürünlerde bulunur (87).

Morichini (88) 1803 yılında ilk defa dişlerin flor içerdiğini bildirmiştir. Florun yüksek afinitesi nedeniyle, Ca²⁺ içeren kemik ve dişler gibi kalsifiye dokularda bulunmaktadır. 1847'de Edhart'ın ilk olarak florun dişleri koruma ve çürük oluşumunu önlemede kullanımından bahsetmesiyle 19. yüzyılda diş hekimliğinde kullanımı başlamıştır. F, sistemik ve topikal olmak üzere iki şekilde uygulanabilmektedir. İçme sularına ve sofraya tuzlarına eklenmesi, flor içeren tablet, damla, pastiller sistemik uygulamalar arasında yer almaktadır. İlk kez 1945'te Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Kanada'da içme suyunun içerisine karıştırılarak sistemik yolla kullanılmıştır (89). Topikal uygulamaları ise diş macunları, jeller ve solüsyonlar, gargaralar, vernikler, florlu sakızlar ve flor içeren restoratif materyallerden oluşmaktadır. NaF₂ şeklinde diş macunları içerisine katılmıştır (90).

Flor, diş çürüklerini önlemek ve başlangıç mine lezyonlarını tedavi etmek için geleneksel olarak uzun yıllardır kullanılmakta ve invaziv olmayan yöntemlerin temelini oluşturmaktadır (90). Florun, dişlerin sürme sonrasındaki dönemde çürük oluşumunu önlemedeki etkisi 3 mekanizma ile açıklanmaktadır;

- i) Düşük pH'da yüzeyde florürün bulunması Ca²⁺ ve PO₄³⁻ iyonlarının çökmesini sağlar, CaF₂ gibi yapılar oluşturup, bunlar ile mine yüzeyine bağlanır ve demineralizasyonu engeller/azaltır,
- ii) Bakterilerin enolaz enzimine bağlanır, asit üretimini inhibe eder ve yüzeye bağlanmalarını engeller,
- iii) Yüksek pH'da florhidroksiapatit (FHAP) oluşturarak mine remineralizasyonu sağlar/artırır.

Plaktaki asit ataklarını takiben, ilk olarak (CaF_2) çözünmektedir. Daha sonra sırasıyla, hidroksiapatit (HAP) ve son olarak flor hidroksiapatit (FHAP) çözünmektedir. Topikal olarak uygulanan flor, plak ve tükürük içerisinde depolanır, gerektiği zaman kristal yapısına girer ve her 2 flor iyonu; 10 kalsiyum iyonu ve 6 fosfat iyonu ile tepkimeye girer, kendisi ile benzer yarıçaplı hidroksil iyonu ile yer değiştirerek asitler karşısında daha az çözünen florapatit kristalini ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) oluşturur (36). Flor tam remineralizasyon etkisini ancak ortamda yeterli konsantrasyonda serbest kalsiyum ve fosfat iyonlarının bulunması durumunda gerçekleştirebilir (14).



Şekil 2.8. Flor ve hidroksil iyonunun, kalsiyum florür oluşturması (53)

Son yıllarda erozyona karşı etkili olduğunu öne süren florürlü diş macunları da üretilmiştir. Erozyon lezyonlarına bakıldığında oluşan demineralizasyon alanları çürük lezyonların aksine yüzeyde sınırlıdır ve hızla meydana geldiği için yüzeyde remineralizasyon sağlamakta florüre çok az zaman tanır. Bu sebeple florürün erozyon üzerindeki etkisi birçok çalışmada sorgulanmaktadır.

Florun erozyonu önlemedeki etkisi ise iki mekanizma ile açıklanmaktadır;

- i) CaF_2 demineralize mine yüzeyinde birikip örtterek koruma sağlar (91),
- ii) Titanyum tetraflorür (TiF_4) veya Kalay Florür (SnF) gibi bileşikler diş yüzeyinde asidik ataklarına dirençli metal iyonundan zengin bir tabaka oluşturur (92).

Flor kullanımında kar zarar dengesi göz önünde bulundurulmalıdır. Diş çürüğü prevalansındaki düşüş ile eş zamanlı olarak, flora maruz kalmanın bir yan etkisi olarak florozis prevalansında bir artış olmuştur. Florürlü diş macunlarının süt dişlenme dönemindeki çürükleri %37, kalıcı dişlenme dönemindeki çürükleri %24 oranında azalttığı bildirilmektedir. Süt ve sürekli dişlerde yapılan bir in-vitro çalışmada; 1000-1500 ppm florürlü diş macunu kullanımında önemli derecede başlangıç çürük lezyonlarında azalma görülürken, 500 ppm gibi düşük flor konsantrasyonlu diş macunu kullanımında ise yalnızca orta derecede etkili olmuşlardır. Dental florozis dünya çapında son derece yaygın olmaya devam etmektedir (93).

2.8.1.2. Gümüş

Antimikrobiyal özelliği dolayısıyla 19. yy başlarından beri tıp ve diş hekimliğinde gümüş (Ag) iyonu kullanılmaktadır. Gümüş iyonunun; remineralizasyonu sağlaması ve demineralizasyonu inhibe etmesi gibi özellikler sebebiyle süt ve daimi dişlerde çürük oluşumunu önlemek ve insidansı azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Kavite dezenfektanı ve hassasiyet giderici olarak kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır (94). 1969'dan beri %38'lik gümüş diamin florür solüsyonu şeklinde çürük önleyici etkisini arttırmak için flor ile kombine kullanımı yaygındır. Düşük maliyeti, özellikle çocuk hastalarda kullanım kolaylığı, aktif çürüklerin inaktif hale gelmesi ve çürük önleyici gibi olumlu etkilerine rağmen uygulama sonrasında metalik bir tat bırakması ve çürük lezyonlarında siyah renklemelerin meydana gelmesi sınırlayıcı etki oluşturmuştur (95). Cunda ve ark. (96) SDF'in erozyona karşı koruyucu etkisini gözlemledikleri çalışmalarında SDF uygulanan numunelerde fosfor kaybının pozitif kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha düşük olduğunu bulmuşlardır

2.8.1.3. Demir

Demir (Fe) iyonunun demineralizasyonu engellediği bilinirken, remineralizasyonu destekleyici bir etkiden literatürde bahsedilmemiştir. Fe bakteri kolonizasyonu ve laktik asit üretimini azalttığı ve çürük oluşumunun azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (97). Asidik içeceklerin mevcudiyetinde oluşan erozyona karşı Fe ilavesi diş minesinin demineralizasyonunu azalttığını göstermektedir. Bununla birlikte, erozyona ve çürüğe karşı demir iyonu takviyesinde, diş lekelenmesi, tat değişikliği ve toksisite gibi olumsuz etkiler de dikkate alınmalıdır (98).

2.8.2. Şeker Alkolleri

2.8.2.1. Ksilitol

Ksilitol, selülozdan elde edilen, sakız, diş macunu, ilaç, ağız gargarası gibi birçok üründe yer alan, 5 karbonlu bir şeker alkolüdür. Çürük önleyici etkisi, antibakteriyel özelliği ve remineralizasyon kapasitesi, uzun yıllardır diş hekimliği çalışmalarında kullanılarak kanıtlanmıştır (99).

Çürük önleyici ve anti bakteriyel etkisini;

- i) Patojen bakteriler tarafından fermente edilmemesiyle asit üretimini azaltarak,
- ii) Ekstrasellüler polisakkarit miktarını azaltmasıyla asidojenik bakterilerin diş yüzeyine tutunmasını engelleyerek sağlamaktadır (100).

Remineralizasyon etkisini;

- i) Yapısındaki OH⁻ iyonları ile tükürükteki Ca²⁺ ve PO₄³⁻ iyonlarına bağlanmasıyla mine ağız sıvılarında birikerek,
- ii) Bireylerde tükürük akış hızını ve tükürüğün tamponlama kapasitesini arttırmasıyla oral çevrenin pH değerini yükselterek sağlamaktadır (100).

Gaffar (101) ve Sano (102) tarafından yapılan iki ayrı çalışmada da ksilitolün ve florun tek başına kullanımı ve kombine kullanımı karşılaştırıldığında, tek başına kullanımın, ksilitol+NaF kadar remineralizasyon göstermediği saptanmıştır Chunmuang ve ark. (103) ksilitolün, portakal suyu sonucunda oluşan dental erozyonu azalttığını ancak tamamen engellemediğini belirtirken, BT Amaechi ve ark. (104) ksilitol ve florürün birlikte kullanımının, in-vitro olarak saf portakal suyu ile oluşturulan dental erozyonun azaltılmasında etkili olduğunu belirtmiştir.

2.8.2.2. İzomalt

Ksilitol gibi patojen bakteriler tarafından metabolize edilmeyen izomalt, şekerleme ve sakızlarda sıklıkla kullanılan non-karyojenik ve non-asidojenik bir şeker alkolüdür. İzomaltın kalsiyum bağlayıcı özelliği çürük önleyici, remineralizasyonu etkileyebilecek bir ürün olarak değerlendirilmiştir. İzomaltın remineralizasyon sürecinde olumlu etki yarattığı, bununla beraber asıl etkisini florür ile birlikte kullanıldığında gösterdiği, bu nedenle izomaltın flor içerikli ürünlere ilave olarak kullanılması önerilmiştir (105).

2.8.2.3. Sorbitol

Bakteriler tarafından metabolize edilebilen sorbitol, sakkaroz, glikoz ve früktoza göre daha yavaş fermente edildiği için üretilen asit oranı anlamlı olarak daha azdır. Bu yüzden non-karyojenik şeker olarak adlandırılmaktadır (106). Sorbitol içeren pastil, sakız ve ağız çalkalama suları gibi birçok ürün kullanımı ile yapılan çalışmalarda sorbitolün çürük ve plak önleyici, demineralizasyon azaltıcı etki gösterdiği belirtilmiş, fakat ksilitol ve flora göre etkisinin çok daha az olduğu gösterilmiştir (107, 108).

2.8.3. Bitkisel Kaynaklı Ajanlar

2.8.3.1. Kitosan

Kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilen, bakteriyostatik ve bakteriyosit etkili bir biyopolimer olan kitosanın; patojen mikroorganizma kolonizasyonunu ve diş yüzeyine adezyonunu engelleyerek diş hekimliğinde çürük önleyici ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (109). Kitosan içerikli sakız, ağız çalkalama suyu ve diş macunu gibi ürünler ile yapılan birçok çalışmada; karyojenik bakterilerin üremesini inhibe ettiği, *S. mutans* seviyesini anlamlı derecede düşürdüğü ve pH seviyesini düşüren organik asitleri tamponlayabildiği bildirilmiştir (110-112). Çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde, kitosanın diş sert dokularının demineralizasyonunu önlemekte etkili olduğu, ancak remineralizasyon kabiliyetinin sınırlı olduğu ve daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulduğu belirtirmiştir (109).

2.8.3.2. Galla Chinensis

Hidrolize olmuş tanen bileşikler bakımından zengin ve biyolojik etkileri oldukça geniş, bitkisel bir ilaç olan Galla Chinensis diş hekimliğinde profilaktik olarak çürük önleyici ve remineralizasyon sağlayıcı bir ajan olarak değerlendirilmektedir. Huang ve ark. (113) 2010 yılında yaptıkları çalışmaya göre, nanohidroksiapatit ve G. Chinensis başlangıç çürük lezyonlarını remineralize ederken, iki ürünün birlikte kullanımı anlamlı derecede etkiyi artırmaktadır. G. chinensisin yüzeydeki remineralizasyonu yavaşlatarak lezyon gövdesine iyon geçişini sağlamasıyla etki mekanizmasının flordan farklı olduğu belirtilmiştir (114).

2.8.3.3. Teobromin

Çay ve kakao yapraklarından elde edilen kafein ve teofilin bileşikler ile benzer yapı gösteren, metilksantin ailesinden bir alkaloiddir. Şeker içerdiği için çikolata tüketimi ile diş çürüğü ilişkilendirilmesine rağmen ilk olarak 1966 yılında Stralfors ve ark. (115) kakao tozu ve çikolatanın çürük önleyici maddeler içerdiğini öne sürmüşlerdir. Teobromin dişlerde daha büyük boyutlarda kristal oluşumunu sağlayarak çözünmeyi azaltır. Amaechi ve ark. (116) teobrominin apatit formasyonunu sağlayarak remineralizasyonu desteklediğini, Kargül ve ark. (25) teobrominin mine yüzey sertlik değerlerini artırdığını, Lakshmi ve ark. (117) teobrominin *S. mutans* ve *L. Acidophilus* inhibe ederek plak oluşumunu azalttığını öne sürmüşlerdir.

2.8.3.4. Üzüm Çekirdeği Ekstresi

Üzüm çekirdeği ekstresinden elde edilen proantosiyani, antienflamatuar ve antioksidan etkili bir polifenoldür. Glikozil transferaz enzimini inhibe ederek *S. Mutans*'ın gulukan sentezini inhibe eder ve diş yüzeyine bakteri adezyonunu engeller. Bu sayede çürük önleyici ve demineralizasyonu inhibe edici etkisi bulunmaktadır. Lezyonun yüzeysel tabakasında kompleksler oluşturup kalsiyum gibi minerallerin birikmesine katkıda bulunarak, remineralize edici etki göstermektedir (118). Demineralize süt dişlerinin mikro sertliğini artırdığı (119), kök yüzey çürüklerinde remineralizasyonu desteklediği (118), çürük lezyonların invaziv olmayan tedavisinde alternatif olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (120).

2.8.3.5. Propolis

Propolis, arıların bitkilerden topladıkları özütlerden elde ettikleri reçineli bir kovan ürünüdür. Alternatif tıpla ilgili çalışmaların yaygınlaşmaya başladığı son yıllarda propolisin; antikanser, antioksidan, antienflamatuar, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antihepatotoksik, antioksidan, antiprotozoal, antikarsinogenik, lokal anestetik ve immünohistimülatör özellikler gösterdiği bildirilmiştir (121). Terapötik etkisi, propolisin içindeki flavonoid ajandan kaynaklanmaktadır. Propolis sahip olduğu antimikrobiyal, anti-karyojen, antienflamatuar ve immün modülasyon gibi olumlu biyolojik etkiler nedeniyle çocuk diş hekimliğinde de kullanılmaktadır. Ağız gargaraları ve diş macunlarında, direkt pulpa kaplaması, pulpotomi, kök kanal irigasyonu gibi tedavi şekillerinde, kök kanal içi ilaç, avulse dişlerde saklama solüsyonu ve vernik olarak veya yara iyileşmesini sağlamak amacıyla çeşitli kullanımı bildirilmiştir (122).

Ikeno ve ark. (123) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada propolisin bileşenlerinin, bakteri ve çürük yayılımını glukosiltransferaz enziminin aktivitesini inhibe ederek sağladığını ve iyi bir karyostatik ajan olduğunu bildirmişlerdir Botushanov ve ark. (124) propolis içerikli silikat diş macunu ile yaptıkları çalışmada; diş macununun kuvvetli bir plak temizliği ve plak inhibisyonu sağladığını ayrıca anti-inflamatuar etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Giamalia ve ark. (125) propolis solüsyonlarının insan diş minesinin mikrosertliğine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, minenin vickers sertlik sayısının çözeltideki propolis yüzdesi ile sabit bir artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Wassel ve ark. (126) misvak, propolis ve flor verniklerin, demineralizasyonu engelleme konusundaki yeteneklerini karşılaştırmışlar ve propolisin flora karşın minimal bir demineralizasyon yeteneği gösterdiğini kaydetmişlerdir.

Propolisin anti-karyojenik etkilerini gösteren birçok çalışma olmasına rağmen, remineralizasyon etkinliğini gösteren sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Amalina ve ark. (19) değişik oranlarda propolis özü ile birlikte CPP-ACP kompleksinin mineyi remineralize etme yeteneğini inceleyerek mikrosertlik ve element analizi verilerinde istatistiksel bir farklılık görülmediğini bildirmişlerdir. SEM görüntüsünde ise CPP-ACP kompleksinin uygulandığı mine yüzeyinde düzensiz birikimler varken, %4'lük propolis kullanılan mine yüzeyinde ise homojen bir tabaka görüldüğü bildirilmiştir. CPP-ACP kompleksi ve propolisin bir kombinasyonunun mineyi remineralize etme potansiyeline sahip olabileceği, antikaryojenik olarak umut verici olduğu belirtilmiştir.

Soekanto ve ark. (127) CPP-ACP ve propolis kombinasyonundan oluşan jelin diş çürüklerini önleyip, remineralizasyonu destekleyebileceğini öngördükleri çalışmalarında, %2'lik propolisin antibakteriyel aktivite ve demineralizasyonun inhibisyonu için en iyi bileşim olduğunu kaydetmişlerdir. CPP-ACP ve propolis diş jelinin formülasyonu S. mutans'ı inhibe etmiş ve remineralizasyonu desteklediği, diş çürüklerini önlemek için alternatif olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Aprillia ve ark. (128) tarafından yapılan, çalışmada; en sık tüketilen karbonatlı alkolsüz içeceklerin yarattığı demineralizasyona karşı, sodyum florür ve propolis florür içeren cilaların remineralizasyon etkilerini karşılaştıran çalışmada; EDX/SEM analizleri kullanıldı. Mine yapısında anlamlı bir farklılık olmadığı, propolis florür ve sodyum florürün, gazlı içeceklerin minedeki demineralizasyonunu önlemede aynı etkinliğe sahip olduğu belirtildi

2.8.3.6. Aloe Vera

Kaktüs benzeri bir bitki olan aloe vera; vitamin, enzim, mineral, salisilik asitler ve amino asit gibi aktif bileşenleri kapsayan bir yapıdır. Aloe veranın anti-inflamatuar, antibakteriyel, antiseptik ve bağışıklık artırıcı etkilerini, plak oluşumu ve bakteri üremesini engellediğini, diş eti iltihabı ve oral enfeksiyonların tedavisinde ve gargaralarda kullanımını bildiren çalışmalara (129, 130) sıklıkla rastlanmasına rağmen demineralizasyon lezyonlarının remineralizasyonunda etkisi hakkında sınırlı sayıda çalışma vardır. Al Haddad ve ark. (24) “florürlü”, “florür+aloe veralı”, “aloe veralı” diş macunlarını demineralize dişlere lokal olarak uyguladıkları in-vitro çalışmalarında, aloe vera jelin 1450 ppm florürlü diş macunununkine eşit bir remineralizasyon kapasitesine sahip olduğunu, florür içermeyen aloe veralı diş macununun daha düşük bir remineralizasyon etkinliği gösterdiğini kaydetmişlerdir.

2.8.4. Bioaktif Materyaller ve Nanoteknolojik Ürünler

2.8.4.1. Novamin (Kalsiyum Sodyum Fosfosilikat/Biyoaktif Cam)

Novamin ticari ismi ile bilinen Kalsiyum Sodyum Fosfosilikat; %45 silisyum dioksit (SiO_2), %24.5 sodyum oksit (Na_2O), %24.5 kalsiyum oksit (CaO) ve %6 difosfat penta oksit (P_2O_5) içeren biyouyumlu bir bioaktif cam materyaldir. Tükürük ile teması sonucunda içerdiği nanopartiküller ile diş ve kemik remineralizasyonu için gerekli olan Ca, Na ve P iyonlarının salımını yapar. Na iyonu pH'yı yükseltirken, Ca ve PO_4 iyonları çökeliş mine yüzeyinde hidroksiapatit yapısına benzer hidroksikarbonapatit (HCAP) yapı oluşturur. Biyoaktif camlar minenin remineralizasyonu için gerekli komponentleri sağlayabilmektedir (131). Wang ve ark. (132) biyoaktif cam, CPP-ACP, arjinin-kalsiyum karbonat içeren macunların remineralizasyon etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmalarında, Novamin ve arjinin-kalsiyum karbonat içeren macunların, CPP-ACP içeren macuna göre avantajı olduğunu rapor etmişlerdir. Diamanti ve ark. (133) biyoaktif cam ve flor içeren iki farklı diş macununun remineralizasyon etkisini karşılaştırmış ve mine lezyonlarının remineralizasyonunda yüksek flor konsantrasyonlu diş macunlarının daha etkili olduğunu bulmuşlardır.

2.8.4.2. Trikalsiyum Silikat

Biyoaktif materyallerden birisi olan trikalsiyum silikat, Ca^{2+} ve PO_4^{3-} çökmesini indükleyerek diş sert dokuları üzerinde apatit formasyonu oluşturmada ve remineralize edici etki göstermektedir (134, 135). Trikalsiyum silikat ve flor içerikli iki macunun etkilerinin kıyaslandığı bir çalışmada, flor ve trikalsiyum silikatın benzer etki gösterdiği, kalsiyum silikatın demineralizasyonu önlemede ve remineralizasyonu arttırmada etkili biyoaktif bir kaynak olduğu belirtilmiştir (135). Wang ve ark. (130) asitlenmiş mine yüzeyine, trikalsiyum silikat içerikli bir macun uygulanması sonrasında kalsiyum silikatın mine yüzeyinde apatit formasyonunu indüklediği, minenin korunmasında ve yenilenmesinde etkin bir materyal olduğunu kaydetmişlerdir.

2.8.4.3. Nano-Hidroksiapatit (nHAP)

Hidroksiapatit, doğal olarak kayalarda, deniz kabuklarında bulunan, insan vücudunda kemiklerin %60'ını ve dişlerin %97'sini oluşturan, biyouyumlu ve biyoaktif seramik bir maddedir (136). Sentetik olarak üretilen nanohidroksiapatit partikülleri, ortopedik ve maksillofasiyal kemik büyümesi, osteointegrasyonun desteklemesi gibi birçok diş hekimliği alanında kullanılmaktadır (137).

nHAP'ın, mine dokusunun hidroksiapatit yapısıyla aynı formülasyona sahip olmasının anlaşılması üzerine diş macunlarının yapısına katılarak dentin hassasiyeti, remineralizasyon ve beyazlatma çalışmalarında yer almıştır (138).

nHAP'ın remineralizasyon etki mekanizması;

- i. Başlangıç mine lezyonlarının yüzeyindeki mikroporlara nano partiküllerin çökmesi,
- ii. Kalsiyum ve fosfat deposu gibi davranarak ağız ortamındaki yoğunluklarını artırması şeklindedir (139).

King ve ark. (140) %10'luk nano-hidroksiapatit ve 1100 ppm NaF içeren iki farklı diş macununun etkinliklerini değerlendirmiş ve n-HAp ile florürün çürük lezyonlar üzerinde benzer etkiler gösterdiklerini bildirmişlerdir. Huang ve ark. (139) nHAP'ın, mineral penetrasyonunu artırarak başlangıç mine lezyon derinliğini azalttığını kaydetmişlerdir.

2.8.4.4.Kazein Fosfopeptit- Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)

Süt ve süt ürünlerinin çürük önleyici etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Araştırmacılar çürüğü önlemek amacıyla sütün içerisindeki koruyucu faktörleri kişisel ürünler içerisinde kullanmaya yönelik çalışmalara odaklanmışlardır.

Sütteki koruyucu faktör olan kazein fosfopeptid (CPP), seçici çökeltme yöntemi kullanarak kazeinin tripsin enzimi ile parçalanması sonucunda elde edilmiştir. Kazein, hayvansal süt ürünlerinde 30-300 nm çapında partiküller halinde bulunan bir fosfoproteindir ve toplam süt proteininin yaklaşık %80'ini oluşturur. Kazein fosfopeptid, (-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu) şeklindeki aminoasit dizilimi içermektedir. CPP nötral ve alkali koşullarda ortama kalsiyum ve fosfat iyonlarını sağlayacak kalsiyum fosfatı amorf halde (ACP) stabilize etme yeteneğine sahiptir. İçerdiği fosfoseril uzantılar boyunca ACP'yi küçük kümeler halinde bağlayarak solüsyon içerisinde çökelmeleri için gerekli boyuta ulaşmalarını engeller. Böylece CPP-ACP (Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat) şeklinde kalsiyum fosfat bakımından doymuş, bazik nanokompleksler oluşturur. Ortamın pH'sı arttıkça CPP'ye bağlanan amorf kalsiyum fosfat (ACP) miktarı da artar ve bu süreç CPP eşit ağırlıkta kalsiyum ve fosfat bağlayana kadar devam eder. Diş yüzeyine ve diş yüzeyini kaplayan dental plağa bağlanabilen CPP-ACP, kalsiyum ve fosfat deposu görevini üstlenir (141).

CPP-ACP nanokompleksinin, in-situ, in-vitro ve in-vivo çalışmalarda gösterilen etkisi farklı mekanizmalarla açıklanmaktadır;

- i. Dental plağı oluşturan *S. Mutans* üzerindeki adezin moleküllerine bağlanarak dental plağın yapısına katılır. Plağın kalsiyum ve fosfat iyonu konsantrasyonunu doygun hale getirerek demineralizasyonu önler (14).
- ii. CPP-ACP, bakteri sayısını doğrudan azaltmasa da proteinlerin diş yüzeyine bağlanarak bakterilerin tutunmalarını önler, bakterilerin etkisini azaltarak antikaryojenik etki yapar. Böylece düşen plak pH'sının tamponlanmasında ve fermentasyonun inhibe edilmesinde rol alır (141).
- iii. Başlangıç mine lezyonlarının ve erozyon lezyonlarının derinliğini önemli ölçüde azaltarak ve minenin mineral içeriğini artırarak remineralize etmekte rol alır (142, 143).

Günümüzde CPP-ACP, macunlar, gargaralar, cikletler, pastiller, cila patları gibi pek çok profilaksi ürününün içeriğine katılarak piyasaya sunulmuştur. İlk olarak Avusturalya'da bulunan Melbourne Üniversitesi'nde Eric Reynılds liderliğinde bir ekip tarafından geliştirilmiş ve piyasaya çıkış adı Recaldent olmuştur (144). Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (U.S. Food and Drug Administration) tarafından kabul edilmesinin ardından (U.S. FDA, 1999), MI Paste ve MI Paste Plus (900 ppm F) satışa sunulmuştur. Son yıllarda CPP-ACP komplekslerinin erozyon ve başlangıç mine lezyonları üzerine etkinliğini araştıran çok sayıda çalışma yapılmış ve antikaryojenik ve remineralizasyon etkinliği kanıtlanmıştır (14, 43, 141, 142, 145, 146).

2.8.4.5. Kazein Fosfopeptit- Amorf Kalsiyum Floro Fosfat (CPP-ACPF)

Kazein fosfopeptidler (CPP), kalsiyum ve fosfat iyonlarının yanı sıra flor iyonlarını da bağlayarak çözünebilir. CPP-ACP nanokompleksinin florür ile birleşimi sonucu Ca, PO_4^{3-} ve flor iyonları içeren yeni kümeler CPP-amorf kalsiyum fosfat florür (CPP-ACPF) oluşmaktadır (147). Florür ve CPP-ACP çürük önlemede sinerjistik etki göstermektedirler (148). CPP-ACP içeren ürünlere ilave edilen flor, plaktaki kalsiyum ve fosfat iyonlarıyla birlikte flor iyonu düzeyini de arttırarak diş sert dokularının remineralizasyonuna katkıda bulunur (149). Aynı zamanda CPP-ACP içeren macun ve CPP-ACPF içeren macunun erozyona karşı remineralizasyon etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada CPP-ACPF içeren macun, asidik içeceklere karşı erozyonu önlemede çok daha etkin bulunmuştur (150).

Prabhakar ve ark. (136) yapay çürük oluşturdıkları dişlere 5000 ppm florür, CPP-ACP+F, TCP+F içeren remineralizasyon ajanları uygulamışlar ve bu ajanların tübülleri tıkama özelliklerini değerlendirerek remineralizasyon etkinliklerini incelemişlerdir. Çalışma sonuçları incelendiğinde 5000 ppm florür ile TCP+F içeren grubun tübülleri tıkama potansiyellerinin CPP-ACP+F içeren gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu, ancak bu iki grubun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür.

2.8.4.6. Trikalsiyum Fosfat

Kimyasal formülü $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ olan tri-kalsiyum fosfat (TCP), çözünürlüklerine göre alfa (α -TCP) ve beta (β -TCP) olarak iki şekilde bulunur. İçeriğindeki kalsiyum ve fosfat iyonları sayesinde ağız sıvıları ile etkileşime girdiğinde ortam pH'sını yükseltmekte ve remineralizasyonda rol almaktadır. Alfa formu daha fazla çözünerek; kalsiyum, fosfat seviyesini daha fazla arttırmakta iken, β -TCP'nin çözünürlüğü α -TCP'den daha az olup ağız ortamına istenilen iyonize kalsiyumu sağlayamaz (151). Remineralizasyon sisteminde β -TCP, sodyum lauryl sülfat ile reaksiyona girerek fTCP formu oluşmaktadır. Organik, Ca^{2+} PO_4^{3-} içerikli bir hibrid tabaka oluşmaktadır.

Bu tabaka demineralize olmuş mine ile etkileşime girer ve ilerleyen zamanda asit atakları karşısında diş dokusuna Ca^{2+} ve PO_4^{3-} iyon salımı yaparak remineralizasyona katkı sağlar (152). β -TCP diş macunları, vernikler ve gargaralar gibi remineralizasyon sistemlerinde uygulanması florür ile birleşimiyle işlev kazanmaktadır. Trikalsiyum fosfatın flor ile birlikte kullanımının eroziv diş dokusunun remineralizasyon potansiyelini arttırdığı kontrollü klinik çalışmalarda gösterilmiştir (153).

2.9. Demineralizasyon ve Remineralizasyon Değerlendirme Yöntemleri

Çürük lezyonları başlangıçta, görsel muayene ile saptanamaz. Subklinik bu aşamada, diş sert dokularında sadece mineral değişikliği oluşmaktadır. İlerleyen süreçte lezyon progresiv özellik göstererek klinik aşamaya geçer. Bu aşamada başlangıç çürük lezyonu teşhisinde görsel ve dokusal muayene yöntemleri olan geleneksel yöntemlerden faydalanılmaktadır. Günümüzde geliştirilen ileri teknolojik yöntemler, lezyonların subklinik aşamalarda demineralizasyonun tespit edilmesi ve minenin remineralizasyonunu sağlayan non-invaziv tedavide kullanılan ürünlerin etkinliklerinin karşılaştırılmasını sağlamaktadır.

Mikroradyografi, polarize ışık mikroskop, iyot geçirgenliği testi, mikrosertlik ölçümü, lazer floresans, konfokal lazer tarayıcı mikroskop, mikro bilgisayarlı tomografi, elektron mikroskopları (Scanning Electron Microscope (SEM), Transfusion Electron Microscope (TEM)) gibi çeşitli tekniklerden yararlanılmaktadır (14, 146, 154). Dental erozyon araştırmalarında ise, kantitatif yöntemler olan mikrosertlik ölçümleri, yüzey profilometrisi, mikroradyografi ve kimyasal analizlerin yanı sıra kalitatif bir yöntem olan SEM yaygın olarak kullanılmaktadır (155). Diş sert dokularında erozyon nedeniyle oluşan mineral kaybının ölçülebilmesi için pek çok yöntem geliştirilmiştir. Her bir yöntemin farklı avantajları ve dezavantajları olmakla birlikte, henüz ideal bir yöntem yoktur (156).

2.9.1. Mikroradyografi

Mikroradyografi; ince kesilmiş numunelerin içyapısından, düşük enerjili X ışınları penetrasyonu ile genişletilmiş görüntüler oluşturulmasıdır. Transversal mikroradyografi (TMR), longitudinal mikroradyografi (LMR) ve dalga boyuna bağlı olmayan mikroradyografi (WIM) olmak üzere 3 farklı mikroradyografi çeşidi olduğu bilinmektedir (157, 158).

2.9.1.1. Transversal Mikroradyografi (TMR)

Transversal mikroradyografi demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında diş sert dokularının mineral içeriğinin, mineral değişikliğinin ve dağılımlarının değerlendirilmesinde kullanılan kantitatif bir yöntemdir (159). Anatomik diş yüzeyine dik olacak şekilde, 100 ± 10 µm kalınlığında alınan kesitler; mineral içerikleri karşılaştırılması amacıyla yoğunluk standardı görevi gören 25 µm aralıklarla sıkıştırılmış alüminyum tabakanın yanında yer alan, yüksek çözünürlüklü radyografik filmin önüne yerleştirilir. İyonize radyasyon uygulanarak elde edilen mikroradyografların, dansitometre ya da kamera aracılığıyla taranmasıyla oluşturulan görüntüler değerlendirilerek sayısal veriler elde edilir (160). Kesitlerin hazırlanmasında gereken hassasiyet, yöntemin zaman alıcı ve zor olması, numunelerin bir daha kullanılamaması tekniğin dezavantajları arasında yer alırken, başlangıç çürük lezyonlarının ve erozyon lezyonlarının araştırıldığı in-vitro ve in-situ çalışmalarda güvenilir bir yöntem olması ise tekniğin avantajlarıdır. Demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında kullanılması sürdürülmektedir (161).

2.9.1.2. Longitudinal Mikroradyografi (LMR)

Son yıllarda geliştirilen diğer bir mikroradyografi tekniği olan longitudinal mikroradyografide anatomik diş yüzeyine paralel olacak şekilde 0.5 mm kalınlığında numuneler kesildiği bildirilmiştir. Daha büyük kesitler alındığı için numunelerin zarar görme olasılığının daha az olması bu tekniğin, TMR'ye göre avantajıdır (158).

2.9.1.3. Dalga Boyuna Bağlı Olmayan Mikroradyografi (WIM)

Dalga boyuna bağlı olmayan mikroradyografide; numunelerden 0.3–0.6 mm kalınlığında alınan kesitlerde yüksek enerjili polikromatik X-ışınları ile meydana gelen mineral değişiklikleri ölçülebilmektedir. Örneklerin TMR metoduna göre zarar görme olasılığının daha düşük olması tekniğin avantajıdır (158).

2.9.2. İyot Geçirgenlik Testi

Brudevold, 1948 yılında yaptığı çalışmada mine yapısındaki poröziteyi analiz edebilmek amacıyla; mineral kaybına bağlı olarak geçirgenlik artışına dayanan hassas, indirekt ve kalitatif bir yöntem olan iyot geçirgenlik testini geliştirmiştir. Numunelerin birkaç dakika süreyle potasyum iyodürde bekletilmesi sonucu alınan iyot miktarının artması yani iyot geçirgenliğinin artması, porözitenin artışı ile ilişkili olduğunu göstermektedir (162).

2.9.3. Yüzey Mikrosertlik

Mikrosertlik ölçümleri 1925 yılından günümüze değin yapılan çalışmalarda; demineralizasyonun ve remineralizasyonun minedeki etkilerini belirlemekte kullanılmaktadır. Bu yöntemle; ışık mikroskobu altında, mine örneğinin yüzeyine belirli kuvvette uygulanan eşkenar yüzeyli Knoop ya da 4 kenarlı piramid formdaki Vickers elmas uçlu iğnenin lezyon yüzeyinde oluşturduğu penetrasyon derinliğinin değerlendirilmesi ile hesaplanır. Bu değer daha sonra sağlıklı mine yüzeyinde elde edilen değerlerle karşılaştırılır (163). Mine yüzeyinde sadece 25 µm derinliğe kadar ölçüm yapılabilmesi, dentinde hassas sonuç alınamaması ve mineral içeriğinin direkt belirlenememesi dezavantaj olarak belirtilirken, tekrarlayan ölçümlerin yapılabilmesi, uygulanabilirliğinin kolay olması ve diğer tekniklerden nispeten düşük maliyeti ise avantajları arasındadır. Aside maruz kalmış diş sert dokularındaki erozyon lezyonlarının veya başlangıç çürük lezyonlarının araştırıldığı in-situ ve in-vitro demineralizasyon-remineralizasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (164, 165).

2.9.4. Kimyasal Analiz Yöntemi

Islak kimyasal analiz yöntemi; bulundukları asitli çözelti içerisine, diş sert dokularından geçen Ca^{2+} veya PO_4^{3-} iyonlarının miktarının değerlendirilmesi yöntemidir. Kalsiyumun, ortamdaki fosfat ve benzeri iyonlarla birleşmesi engellenerek miktarının ölçülmesinde hassas ve güvenilir olan cihaz atomik absorpsiyon spektrofotometresi iken, düşük konsantrasyonlarda dahi çözeltideki serbest kalsiyum ve fosfat miktarının ölçülmesinde kullanılabilen cihaz ise kolorimetridir. Bu yöntem yalnızca in-vitro çalışmalarda kullanılabilmektedir (166). Çözeltideki iyonize kalsiyum ve fosfat miktarına ek olarak çözeltinin pH'sı da kimyasal analiz kapsamında değerlendirilebilecek bir diğer değişkendir (167).

2.9.5. Lazer Floresans Yöntemi

Floresans yüksek enerjili bir ışığın absorpsiyonuna tepki olarak moleküllerin hareketiyle ışığın yayılması fonksiyonudur. Sağlıklı, çürük veya erozyona uğramış diş dokularının ışığı absorbe etme özelliklerindeki farklılıktan yararlanılarak oluşturulan bu yöntem ilk olarak 1982 yılında Bjelkhagen ve ark. (168) tarafından kullanılmıştır. Bu prensiple çalışan ve en yaygın kullanılan iki cihaz Diagnodent ve Kantitatif Işık Etkili Floresans (QLF)'dir.

Diagnodent; dişlerin mineral ve organik içeriğindeki farklılığa bağlı olarak, 655 nm dalga boyunda kırmızı diod lazer ışığını yansıtmasının ölçülmesi prensibine bağlı olarak çalışan bir yöntemi kullanır. Erken dönemdeki çürük lezyonlarını kısa sürede ve girişimsel işlemler gerektirmeden belirleyebilen, yüksek hassasiyette, dişin mineral içeriğindeki değişimleri kantitatif ölçüm ile tespit edebilen, kullanımı kolay ve çok sayıda gözlemci tarafından tekrarlanabilme özelliğine sahip bir çürük tanı cihazıdır (169).

Kantitatif Işık Etkili Floresans (QLF); 488 nm dalga boyundaki görünür mavi argon lazer ışığı kullanılarak demineralizasyon sonrasında mine yüzeyindeki indüklenen floresansın ölçüldüğü bir cihazdır. QLF'nin klinik olarak gözle görülebilen opak mine lezyonlarının boyutu ve mineral içeriğindeki değişimlerin değerlendirilebildiği belirtilmiştir (170). Başlangıç aşamasındaki sığ erozyon lezyonlarının demineralizasyonunun değerlendirilmesinde güvenilir olarak kullanılabilmesine karşın; eroziv krater derinliğinin arttığı, ileri aşamadaki erozyon lezyonlarında ise QLF güvenilirliğinin azaldığı bildirilmiştir (156).

2.9.6. Konfokal Lazer Tarayıcı Mikroskopisi (CLSM)

Hücre biyolojisi ve patolojisi ile ilgili çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bu teknik, diş hekimliği alanında ilk kez Watson ve ark. (171) tarafından, diş restorasyonlarında ara yüzeylerin görüntülenmesi amacıyla kullanılmıştır. Sonraki yıllarda bu teknik demineralizasyonun araştırılmasında da kullanılmaya başlamıştır (172). Transversal mikroradyografi ve polarize ışık mikroskopunun aksine, ince kesit hazırlığı gerektirmeksizin demineralize mine yüzeyindeki porözitelere florasan boyanın infiltre edildiği bu yöntem ile mine lezyonlarının kolay ve hızlı bir şekilde, kalitatif değerlendirilmesi olasıdır.

2.9.7. Optik Koherens Tomografisi (OCT)

OCT’de diod lazer cihazından sağlanan kızılötesi lazer ışık ve yüksek çözünürlüklü interferometrik teknik kullanılmaktadır. OCT’de dokunun değişik katmanlarından yansıyan ışınların gecikme süreleri hesaplanarak dokunun kesitsel düzlemdeki optik yansımaları temsil eden iki boyutlu görüntüler oluşturulur ve daha sonra bu iki boyutlu taramalardan seri kesitsel görüntüler alınarak üç boyutlu görüntüler elde edilir (173). Günümüzde oftalmolojide yaygın olarak kullanılmakla birlikte diş hekimliğinde kullanımı yenidir. OCT ilk olarak 1991 yılında bir biyolojik görüntüleme sistemi olarak Huang ve ark. (174) tarafından kullanılmıştır.

Görüntülerden minenin kalınlığına ve porözitesine yönelik bilgi sağlanarak erozyona bağlı demineralizasyon çalışmalarında kullanılmaktadır (175). Başlangıç çürüğü teşhisinde, demineralize dokunun remineralizasyonunun değerlendirilmesinde, sekonder çürüklerin ve marjinal adaptasyon bozulmalarının değerlendirilmesinde hem in-vivo hem in-vitro koşullarda kullanılabilen bir yöntemdir (176).

2.9.8. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Günümüzde çeşitli elektron mikroskopları bulunmakla birlikte diş hekimliğinde en çok kullanılanları; taramalı elektron mikroskop (Scanning Electron Microscope = SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM)’dur. SEM mine yüzeyinin topografik yapısının ve meydana gelen değişikliklerin incelenmesine olanak tanıyan bir elektron mikroskobudur. İlk olarak 1965 yılında kullanılmıştır (177). SEM’de yüksek voltaj ile hızlandırılan elektronlar ile diş yüzeyinin taranması sırasında, elektron ve yüzey atomları arasındaki etkileşim algılayıcılarda toplanır. Sinyal güçlendiricilerinden geçtikten sonra katot ışınları tüpünün ekrana gönderilmesiyle görüntü elde edilir.

Modern sistemlerde cihazlardan gelen sinyaller dijital sinyallere dönüştürölüp bilgisayar ekranına gönderilmektedir (157). SEM ile taranacak numuneler öncelikle uygun bir şekilde dokudan alınmalı ve hazırlanmalıdır. Mikroskoba yerleştirilebilecek boyutta olmalı ve vakum sırasında mikroskopta stabil kalabilmeli, elektriksel olarak örnek iletken olmalıdır. Birçok mineral içerikli örnek metal ile kaplanmalıdır (178). Görüntü alınacak yüzeyin metal ya da karbon iyonlarıyla kaplanması nedeniyle in-vivo çalışmalarda kullanılamadığı gibi tekrarlayan ölçümlerin yapılamaması, ıslak numunelerde kullanılamaması yöntemin dezavantajıdır (179). Numunelerin 100.000 kez büyütölerek yüzey yapıları ile ilgili detaylı ve çok hassas bir şekilde incelenmesi imkânı sağlaması ise yöntemin avantajını oluşturmaktadır. SEM ile başlangıç mine lezyonlarının yüzey morfolojilerinin incelendiğı birçok in-vitro çalışmada altın standart olarak kullanılmaktadır (86, 180-182). Bunun yansıra dental erozyon araştırmalarında tek başına ya da sekonder kantitatif teknikleri destekleyici yöntem olarak erozyona uğramış mine yüzeylerinden görüntü elde edilmesinde kullanılır (28, 183).

2.9.9. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT)

Bilgisayarlı tomografi, X-ışınının bilgisayar teknolojisi ile bütünleşmesi sayesinde dokuyu kesitler halinde görüntölleyen, 3 boyutlu görüntüler elde eden bir cihazdır. Nesnelerin 3 boyutlu görüntüsünün oluşturulması fikri, dijital bilgisayarlardan önce Webb tarafından geliştirilmiştir (184). Dijital bilgisayarların gelişmesiyle birlikte bilgisayarlı tomografi (BT) mümkün hale gelmiştir. Hounsfield 1970'li yıllarda medikal görüntölleme amacıyla ticari bir BT sistemi geliştirmiştir (185). Yüksek çözünürlüklöl X ışınlı BT ise mikrobilgisayarlı tomografi (Mikro-BT) olarak adlandırılır. BT'lerde alınan görüntüler milimetreyle (mm) ifade edilirken, Mikro-BT'de 1 mikrometrelik (μm) görüntüler elde edilebilmektedir. Mikro-BT sistemleri ilk olarak 1982 yılında Elliot ve Dover tarafından kullanılmaya başlanmıştır (186). Mikro-BT sistemi yeni ve gelişmekte olan bir teknolojidir. Mikro-BT biyoloji, fizik bilimleri ve mühendislik gibi birçok alanda kullanılır. Diş hekimliğinde Mikro-BT hacim ve yüzey alanı hesaplamaları gibi temel geometrik parametrelerin ve "Yapı Model indeksi" ile sonlu elemanlar analiz çalışmalarında (187), implant ve kemik yapının değeriendirildiğı çalışmalarda (188), çürük lezyonlarının teşhisinde (189), dişlerde kök kanal geometrisinin, tedavi başarısının ve kalsifikasyonların belirlenmesinde (190, 191), minedeki mineral durumunun değeriendirilmesinde (192), minenin demineralizasyonun ve remineralizasyonun incelenmesinde (16-18) kullanılmıştır.

Mikro-BT cihazı içerisinde mikro fokus noktalı X ışığı tüpü, 3 boyutlu görüntünün oluşturulması sırasında projeksiyonun örnek etrafında çeşitli açılardan görüntülenmesi için spiral tarama yapan tomografi ünitesi, yüksek çözünürlükteki dedektörleri ve görüntülerin kaydedilmesini sağlayan bir kamera sisteminin yer aldığı bilinmektedir. Görüntülenecek örnek cihaz içerisinde sabitken X-ray kaynağı ile nesne kendi etrafında 180° veya 360° derece dönerken belirlenen kesit açılarıyla tarama yapar. Alınan seri kesitsel görüntülerin birleştirilerek, Nrecon bilgisayar programında rekonstrükte edilmesiyle 3 boyutlu modeller oluşturulur. CTAn bilgisayar programı ile ise yeniden yapılandırılan nesnelerin iki boyutlu (2D) ve üç boyutlu (3D) olarak incelenebilmesine olanak sağlamaktadır. (193)

Diş sert doku numunelerinin kesit hazırlığı gerekmeden, zarar görmeden, non-invaziv bir şekilde yüksek çözünürlüklü 3 boyutlu görüntülerinin elde edilmesi ve detaylı kalitatif-kantitatif analizlerinin yapılması yöntemin en büyük avantajlarını oluşturmaktadır. Numuneler biyolojik ve mekanik farklı analizlerde tekrar kullanılabilir. 3D görüntülerin alınmasının zaman alıcı ve değerlendirilmesinin zor olmasına ek olarak tarama için laboratuvar ortamının gerekliliği ve yüksek radyasyon nedeniyle canlı organizmalarda uygulanma zorluğu gibi sebeplerle in-vivo şartlarda mikro-BT kullanılamaması ise tekniğin dezavantajlarıdır (194, 195).

Literatürde mikro-BT, demineralizasyon ve remineralizasyon açısından değerlendirildiğinde; Gonzeloz-Sotello'nun demineralizasyon sürelerini araştırdığı (196), Cheng-Ten Cate'nin galla chinensis'in mine lezyonlarındaki remineralizasyon etkisini araştırdığı (21), Hamba'nın TCP ve NaF içeren macun ile fırçalama sonucunda remineralizasyon etkisini araştırdığı (17), Nakamura'nın kazein ve flor içeren solüsyonların mineye etkisini incelerdiği (197), Huang'ın mine yüzeyi ile sınırlı beyaz nokta lezyonlarının ve dentin çürüklerinin mineral yoğunluğunu araştırdığı (139), az sayıda çalışmaya rastlanmaktadır. Bunun yanı sıra erozyonun mikro-BT ile incelendiği çalışmalara rastlanmamaktadır.

Konuyla ilgili literatürdeki kısıtlılıklardan yola çıkarak sunulan bu çalışmada hem asitli içeceklerin oluşturduğu erozyon lezyonlarına, hem de yapay olarak oluşturulan başlangıç çürük lezyonlarına karşın NaF, CPP-ACP ve doğal içerikli çocuk diş macunlarının remineralizasyon etkinliğinin mikro-BT ve SEM ile araştırılması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Etik Kurul Onayı ve Proje Desteği

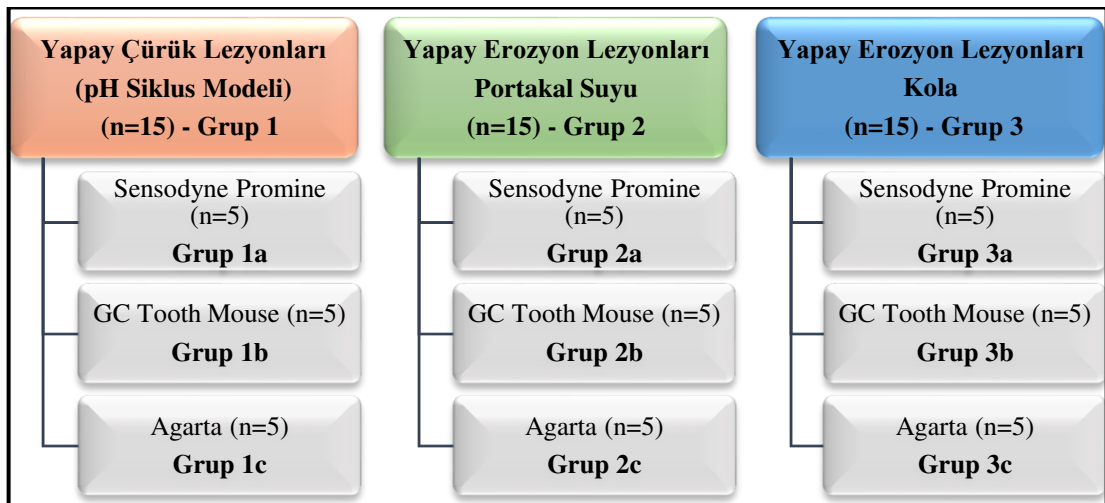
Çalışmanın etik kurul onayı, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etięi Kurulu’ndan 2021/1845 karar numarasıyla alınmıştır (Ek 1). Çalışma, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDH-2021-2575 proje kodu ile desteklenmiştir.

3.2. Hekim Kalibrasyonu

Çalışma öncesi araştırmacı (SA) diş numunelerinin hazırlanması, Mikro-BT ve SEM analizlerinin değerlendirilmesi amacıyla alanında en az 10 yıllık deneyimi olan tecrübeli eğitmenler (GD, AK) tarafından eğitilmiş ve kalibre edilmiştir.

3.3.Örneklem Büyüklüğünün Belirlenmesi ve Çalışma Tasarımı

Çalışma tasarlanırken ilgili makale üzerinden (17) yapılan güç analizine göre, tip I hata miktarı (α)=0.05, etki büyüklüğü=2.6 ve deneyin gücü ($1-\beta$)=0.8 iken olması gereken minimum örneklem büyüklüğü 4 olarak hesaplandı. Çalışmada her bir grup 5, toplam örneklem büyüklüğü ise 45 olarak belirlendi. Numuneler “yapay çürük lezyonları” (Grup 1), “portakal suyu ile oluşturulan yapay erozyon lezyonları” (Grup 2) ve “kola ile oluşturulan yapay erozyon lezyonları” (Grup 3) olmak üzere 3 ana gruba ayrıldı. Her bir ana grup ise kendi içinde tedavide kullanılacak çocuk diş macunlarından Sensodyne Promine (Grup 1a, 2a, 3a), GC Tooth Mouse (Grup 1b, 2b, 3b) ve Agarta (Grup 1c, 2c, 3c) olmak üzere 3’er alt gruba ayrılırken, numuneler gruplara randomize şekilde atandı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Mikro-BT Analiz Grupları ve Sayıları

3.4. Diş Seçimi ve Saklanması

İn vitro koşullarda yürütülen çalışma için İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı'nda yakın zamanda çekilmiş, kemik veya mukoza retansiyonlu olan, 45 tanesi mikro-BT analizinde, 7 tanesi SEM analizinde kullanılmak üzere 52 adet üçüncü büyük azı dişi toplandı. Çürük, kırık/çatlak, hipokalsifiye ve hipomineralize alan, gelişimsel defekt gözlenmemesi kriterleri göz önünde bulundurularak dişler incelendi. Bu kriterleri sağlamayan dişler çalışma dışı bırakıldı. Çekilmiş dişlerin yüzeyindeki yumuşak doku kalıntıları kretuar (Hu-Friedy Mfg. Co., LLC, USA) ile uzaklaştırıldı (Şekil 3.2). Dişlerin mine yüzeyleri ise mikromotor, anguldurva (Intramatic, KaVo, Germany) ve polisaj fırçası (OptiShine, Kerr, USA) eşliğinde temizlendi (Şekil 3.3, 3.4). Deney başlatılana kadar dişler, %0.1'lik timol içeren salin solüsyonu içinde, buzdolabında +4°C'de saklandı (Şekil 3.5).



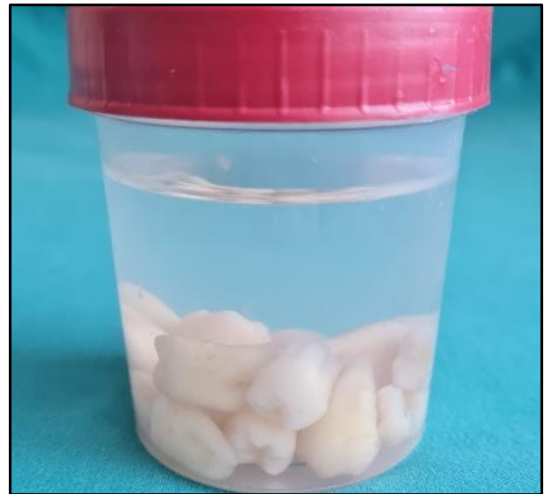
Şekil 3.2. Dişler üzerindeki yumuşak doku kalıntılarının uzaklaştırılması



Şekil 3.3. Diş yüzeylerinin polisaj fırçası ile temizlenmesi



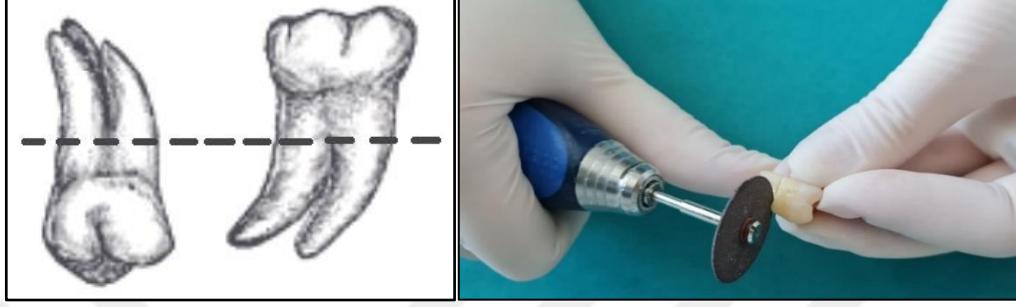
Şekil 3.4. Dişlerin temizlenmesinde kullanılan gereçler



Şekil 3.5. Çekilmiş dişlerin %1'lik timol solüsyonu içerisinde saklanması

3.5. Mikro-BT Numunelerinin ve Deney Alanının Hazırlanması

Dişler, mine-sement sınırının altından şekil 3.6’da gösterildiği gibi furkasyon alanının başladığı hizadan, separe diskler (Dentorium Separating Disks, N.Y) ve klinik piyasemen (NKS, Ultimate XL, Japan) yardımıyla köklerinden ayrıldı (Şekil 3.7).

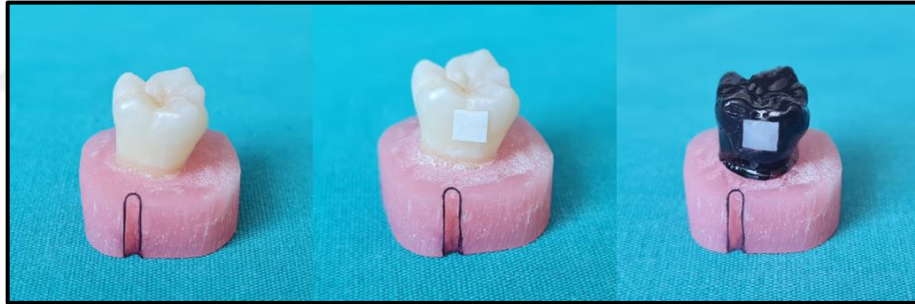


Şekil 3.6. Kron ve kökün ayrılması

Dişler silikon kalıplarda, pembe soğuk akrilik (İntegra Self Cure Acrylic-Liquid, BGD, Turkey) kullanılarak hazırlanmış akrilik bloklar içerisine, mine-sement seviyesinde yerleştirildi. Elde edilen akrilik bloklara, akrilik parlatma lastikleri (Reddish Stone, Italy) ile şekil verildi. Farklı zaman dilimlerinde yapılan Mikro-BT taramalarında her bir örneğin aynı konumda yerleştirmesini ve analizlerde standardizasyonunu sağlamak amacıyla, akrilikte ve dişlerin lingual yüzlerinde, elmas alev uçlu frezler yardımıyla oluklar oluşturuldu. 3 mm x 3 mm boyutlarında etiketler elektronik kumpas (Valkriye, Turkey) yardımıyla ölçülerek kesildi (Şekil 3.7, 3.8). Başlangıç çürüğü ve erozyon lezyonlarının oluşturulacağı çalışma alanını belirlemek amacıyla her bir örneğin bukkal yüzeyine mine-sement sınırının 1 mm üzerinde olacak şekilde etiketler yapıştırıldı. Etiket dışında kalan diş yüzeyleri, gruplara göre 3 farklı renkte aside dayanıklı tırnak cilası (Flormar, Nail Enamel, Turkey) ile çift kat olacak şekilde örtüldü. Tırnak cilası sertleştirildikten sonra etiketler çıkarıldı ve 9 mm²'lik bir çalışma alanı elde edildi (Şekil 3.8, 3.9).



Şekil 3.7. Numunelerin elde edilmesinde kullanılan gereçler



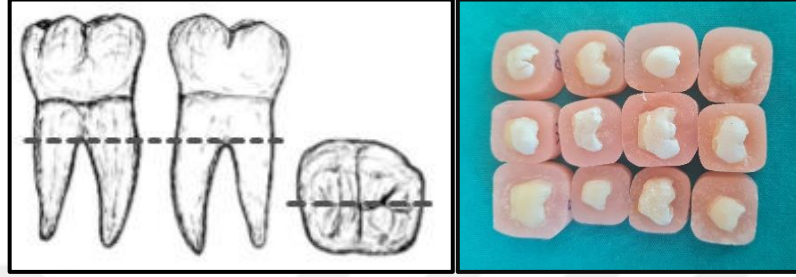
Şekil 3.8. Akrilik blokların ve çalışma alanlarının elde edilmesi



Şekil 3.9. Numunelerin gruplara göre rastgele atanması

3.6. SEM Numunelerinin ve Deney Alanının Hazırlanması

Dişlerin, kökleri furkasyon sınırında, kronu ise santral fossa hizasında separe diskler (Dentorium Separating Disks, N.Y) ve klinik piyasemen (NKS, Ultimate XL, Japan) yardımıyla ikiye ayrıldı (Şekil 19). Dişler silikon kalıplar içerisinde, pembe soğuk akrilik (İntegra Self Cure Acrylic-Liquid, BGD, Turkey) kullanılarak bukkal ve lingual yüzleri yukarıda olacak şekilde bloklar içerisinde yerleştirildi (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. SEM örneklerinin hazırlanması

3.7. Deneyde Kullanılan pH Siklus Solüsyonları

Ağız içi ortamı, in-vitro koşullarda taklit edebilmeyi sağlayan pH siklusu ve yapay çürük oluşturmayı sağlayan demineralizasyon-remineralizasyon solüsyonları, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma Merkezi Kimya Laboratuvarında deneylerin öncesinde taze olarak hazırlandı (Şekil 3.11, 3.12).

Demineralizasyon solüsyonu;

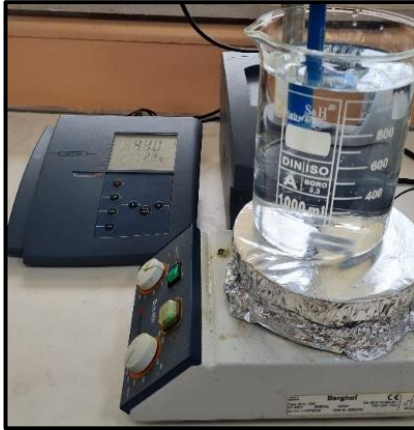
2,2 mM CaCl_2

2,2 mM NaH_2PO_4

0,05 M CH_3COOH

1 M KOH

Solüsyon pH değeri 4.4 olacak şekilde hazırlandı (198).



Şekil 3.11. Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması

Remineralizasyon solüsyonu;

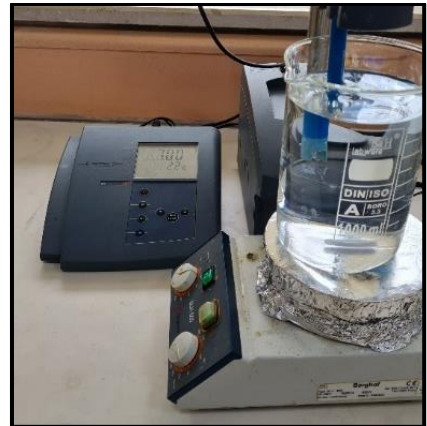
1,5 mM CaCl_2

0,9 mM NaH_2PO_4

0,15 M KCl

1 M KOH

Solüsyon pH değeri 7 olacak şekilde hazırlandı (198).



Şekil 3.12. Remineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması

3.8.Deneyde Kullanılan Asitli İçecekler

Numuneler üzerinde erozyon lezyonları oluşturmak için çocukların günümüzde çok sık tükettiği, her ikisi de “The Coca Cola Company®”e ait kola (CocaCola) ve portakal suyu (Cappy Orange Juice) kullanılmıştır. Bu içeceklerin içerikleri, ölçülen pH değerleri ve hesaplanan titre edilebilir asit değeri (TA) Tablo 3.1’de gösterilmektedir.

Tablo 3.1. Deneyde kullanılan asitli içecekler

	Deneyde Etkin Asit Türü	Deneyde Kullanılan Asitli İçecekler	İçeceğin İçeriği	pH Değeri	Titre Edilebilir Asit Değeri (TA) (mmol OH ⁻ /L)
Grup 2	Sitrik Asit	Cappy Bahçe Portakal Suyu 	Su, şeker, fruktoz-glukoz şurubu, portakal suyu konsantresi, asitliği düzenleyici (sitrik asit), aroma verici, renklendirici (beta-karoten)	3.34	5.01.10 ⁻⁴
Grup 3	Fosforik Asit	Coca Cola 	Su, şeker, karbondioksit, renklendirici (karamel), asitliği düzenleyici (fosforik asit), doğal aroma vericiler, kafein	2.24	5.75 10 ⁻³

3.9.Deneyde Kullanılan Remineralizasyon Ajanları

Deneysel olarak hazırlanan başlangıç çürük lezyonları ve erozyon lezyonları tedavisi amacıyla herkes tarafından kolayca elde edilebilecek olan NaF, CPP-ACP ve doğal (propolis, çayağacı yağı, aloe vera) ajanları içeren çocuk diş macunları kullanıldı (Şekil 3.13, Tablo 3.2). Üretici firmalar;

Sendoyne Promine için; zayıflamış diş minesini güçlendireceğini, çocukların dişlerini asit aşındırması etkilerinden koruyup, diş çürüklerinin önlenmesine yardımcı olacağını vadeder. Günde en az 2 kez 2 dk fırçalamayı kullanım şekli olarak önerir.

GC Tooth Mousse için; Barındırdığı aromalar ile tükürük salgılanmasını uyarıp, plaktaki bakterilerin asit ataklarını nötralize etmeye yardımcı olacağını, diğer iç ve dış asit kaynaklarının asit ataklarını nötralize edeceğini belirtir. Erken dönem çocukluk çağı çürüklerini önleyeceğini ve süt dişlerini koruyacağını vadeder. Günde en az 2 kez 2 dk diş yüzeyine uygulanması şeklinde kullanımı önerilir.

Agarta için; doğal ve bitkisel içeriği ile dişlerde beyazlık ve hijyen sağlayacağını, plak oluşumunu engellemeye yardımcı olacağını, diş çürümelerini önleyeceğini vadeder. Dişlerin günde en az 2 kez fırçalanarak kullanımı önerilir.



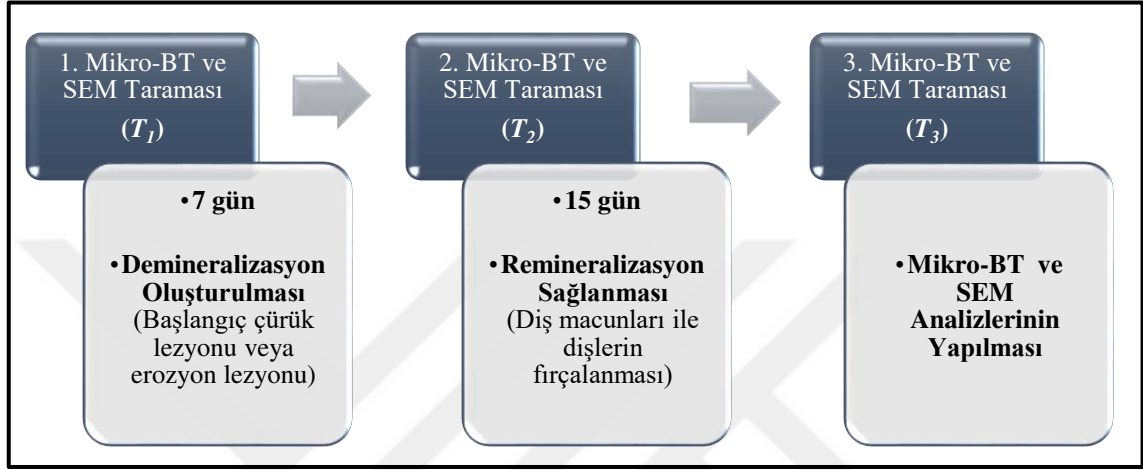
Şekil 3.13. Çalışmada kullanılan diş macunları

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan remineralizasyon ajanları ve içerikleri

Deneyde Etkin Remineralizasyon Ajanı	Deneyde Kullanılan Macun Markaları	Deneyde Kullanılan Macunların İçerikleri
Florür	Sensodyne Promine (GlaxoSmithKline, USA) 	Sorbitol, Aqua, Glycerin, Hydrated Silica, Polietilen Glikol (PEG-6), Cocamidopropyl Betaine, Xanthan Gum, Aroma, Sodium Fluoride (1450 ppm %0.315), Sodium Saccharin, Sucralose, Titanium Dioxide, Sodium Hydroxide, Limonene
Kazein Fosfopetit-Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)	GC Tooth Mousse (GC AMERICA INC, USA) 	Su, gliserol, %10 CPP-ACP, D-sorbitol, CMC-Na, (GC Corporation, Japonya) propilen glikol, silikon dioksit, titanyumdioksit, ksilitol, fosforik asit, aroma, cinkooksit, sodyum sakkarin, etil p-hidroksibenzoatmagnezyum oksit, guar gum, propil, p-hidroksibenzoat, butil p-hidroksibenzoat
Doğal İçerikli (Propolis, Çay Ağacı Yağı, Aloe Vera)	Agarta (Güneyce LTD. TURKEY) 	Sorbitol, Aqua, Glycerin, Silica, Lauryl Glucoside, Zinc Oxide, Aroma, Xanthan Gum, Mentha Piperita Oil, Saliva Officinalis Oil, Malaleuca Alternifolia, Leaf Oil, Potassium Sorbate

3.10. Çalışma Tasarımının ve Deneyin Uygulanması

İn vitro ortamda gerçekleştirilen çalışmada tüm numunelerin başlangıçta 1. mikro-BT ve SEM taraması (T_1) tamamlandı. Ardından 7 gün boyunca demineralizasyon lezyonları oluşturularak 2. Mikro-BT ve SEM taraması (T_2) tamamlandı. Daha sonra 15 gün boyunca remineralizasyon sağlandı. 3. Mikro-BT ve SEM taramasının da tamamlanması (T_3) ile analizler yapılarak veriler elde edildi.



Şekil 3.14. Çalışma tasarımının gösterilmesi

3.10.1. Yapay Başlangıç Çürüklerinin Oluşturulması

Başlangıç çürük lezyonları, Vieira ve ark.'nın (63) 2005 yılında yaptığı çalışmada olduğu gibi pH siklus modeli kullanılarak kimyasal yolla yapay olarak oluşturuldu. Bu yöntemle göre 1. Gruptaki numuneler, 7 gün boyunca oda sıcaklığında pH'sı 4.4 olan demineralizasyon solüsyonunda 6 saat bekletildi. Ağız ortamındaki tükürük tamponlanmasını in-vitro ortamda da taklit edebilmek için numuneler, günün kalan 18 saati boyunca pH'sı 7.0 olan remineralizasyon solüsyonunda bekletildi (Şekil 3.24). Her gün solüsyonlar tazelendi ve numuneler bir solüsyondan diğerine her geçişinde distile su ile durulandı. Dişler üzerindeki deney alanlarında homojen şiddette lezyonların oluşması için deney kapları günde birkaç defa çalkalanarak dişlerin hareketi sağlandı. Ten Cate ve Featherston tarafından öne sürülen yapay çürük modellerinden kimyasal yolla olan, pH siklus modeli ile yapay çürük oluşturuldu (62, 199).

3.10.2.Yapay Erozyon Lezyonlarının Oluşturulması

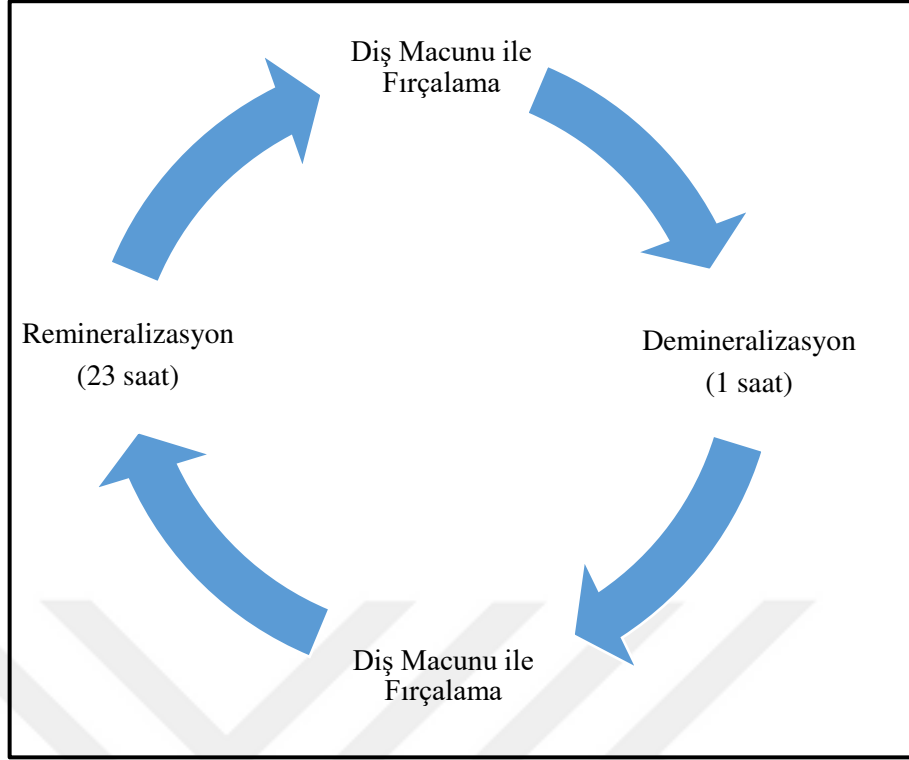
İn vitro şartlarda yapılan çalışmalarda asitli içeceklerin pH ve TA değerlerinin, maruz kalma süresinin, sıcaklık farklılıklarının erozyonu etkilediği belirtilmektedir (81, 200). Çalışmada erozyon lezyonları, in-vitro erozyon modellerine göre oda sıcaklığında oluşturuldu (79). Poggio ve ark. (82) 2010 yılında çalışmada olduğu gibi asitli içecekler kullanılarak oluşturuldu. Grup 2'deki numuneler 50 ml portakal suyu (sitrik asit), Grup 3'deki numuneler ise 50 ml kola (fosforik asit) içeren deney kaplarına günde 4 kez 2'şer dk daldırıldı. Geri kalan süreçte ise remineralizasyon solüsyonunda bekletildi. İçecekler her gün tazelandı. 7 gün boyunca bu döngü sürdürülerek erozyon lezyonları oluşturuldu.



Şekil 3.15. Başlangıç çürüğü ve erozyon lezyonlarının oluşturulması

3.10.3. Remineralizasyon Ajanları ile Tedavinin Uygulanması

Bu aşamada dişler, çocukların ana ve ara öğünlerde beslenme ile beraber karyojenik bakterilerin ürettikleri asitlere maruziyetini taklit etmek amacıyla Hamba ve ark. (17) çalışmasında yaptığı gibi, günde 1 saat demineralizasyon solüsyonunda (pH=4.4), kalan 23 saat ise tükürük tamponlanmasını taklit etmek amacıyla remineralizasyon solüsyonunda (pH=7.0) bekletildi. Her bir örnek yumuşak uçlu bir dental fırça eşliğinde (Voco Comp.), Sensodyne, Agarta ve GC Tooth Mousse firma önerileri ile günde 2 kez 2 dk, fırçalandı. Bu işlemler gerçekleştirilirken her bir gruptaki dişler ayrı birer örnek kabında muhafaza edildi. Her aşamadan sonra numuneler distile su ile yıkandı, kaplardaki solüsyonlar günlük olarak tazelandı. Gruplara 15 gün boyunca aynı döngü uygulandı (Şekil 3.17, 3.18).



Şekil 3.16. Deneyde uygulanan demineralizasyon-remineralizasyon siklusu



Şekil 3.17. Diş macunlarının uygulanması

3.11. Mikro-BT İncelemesi

3.11.1. Mikro-BT Taraması

Çalışmada demineralizasyon ve remineralizasyonun etkilerini görüntülemede kullanılan yöntemlerden birisi mikro-BT'dir. Numuneler 3 farklı zaman diliminde tarandı.

1.Tarama (T_1): deney öncesi kontrol grubu oluşturmak amacıyla başlangıçta,

2.Tarama (T_2): yapay olarak oluşturulan başlangıç çürüğü lezyonları ve erozyon lezyonlarının mineral yoğunluğu, hacmi, yüzey alanı ve derinliğinin gözlenmesi amacıyla demineralizasyondan sonra,

3.Tarama (T_3): yapay olarak oluşturulan lezyonlara diş macunları uygulanmasının ardından değişikliklerin gözlenmesi amacıyla remineralizasyondan sonra gerçekleştirildi.

Çalışmada, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma Merkezinde bulunan SkyScan 1172 (Kontich, Belgium) Mikro-BT sistemi kullanılmıştır. Sistem masa üstü bilgisayar, yüksek voltajlı mikro odaklama tüpü, X-ray kamera ve bir taşıyıcıdan oluşmaktadır (Şekil 3.18). Numuneler 3 farklı zaman diliminde de akrilik kısmında oluşturulan oluklar aynı konumda olacak şekilde taşıyıcıya yerleştirildi, her örnekte 80 kilovolt (kV) güç, 124 miliamper (mA) akım, 0.5 mm alüminyum-bakır filtre kullanılarak standart tarama yöntemi uygulandı. Dişlerin taranmasında rotasyon adımı 0.4° olarak, dikey ekseninde ise dönme açısı 200° olarak belirlendi. Tarama süresi ortalama 45-55 dakika sürdü. 11 Megapiksel kamera yardımıyla, her bir örnekten ortalama 9 μm boyutunda toplam 750-950 arasında kesit görüntü alındı. Mikro-BT analizinde kemik mineral yoğunluğunu (bone mineral density=BMD) ölçmek ve kalibrasyonu sağlamak, X-ışınının sertleşme artifaktını önlemek amacıyla BMD değerleri 0.25 ve 0.75 gram/santimetreküp (g/cm^3) olduğu önceden bilinen fantom dişlerde çalışmadaki standart parametreler kullanılarak tarandı.



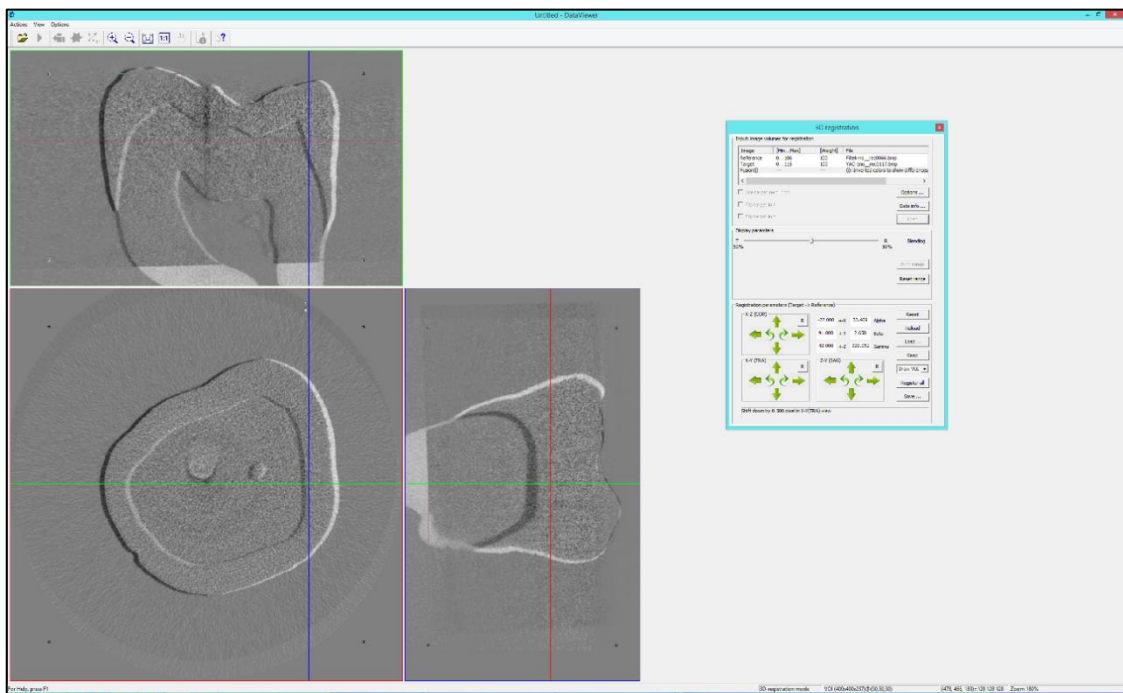
Şekil 3.18. SkyScan 1172 (Kontich, Belgium) Mikro-BT cihazı

3.11.2.Mikro-BT Görüntülerinin Yapılandırılması

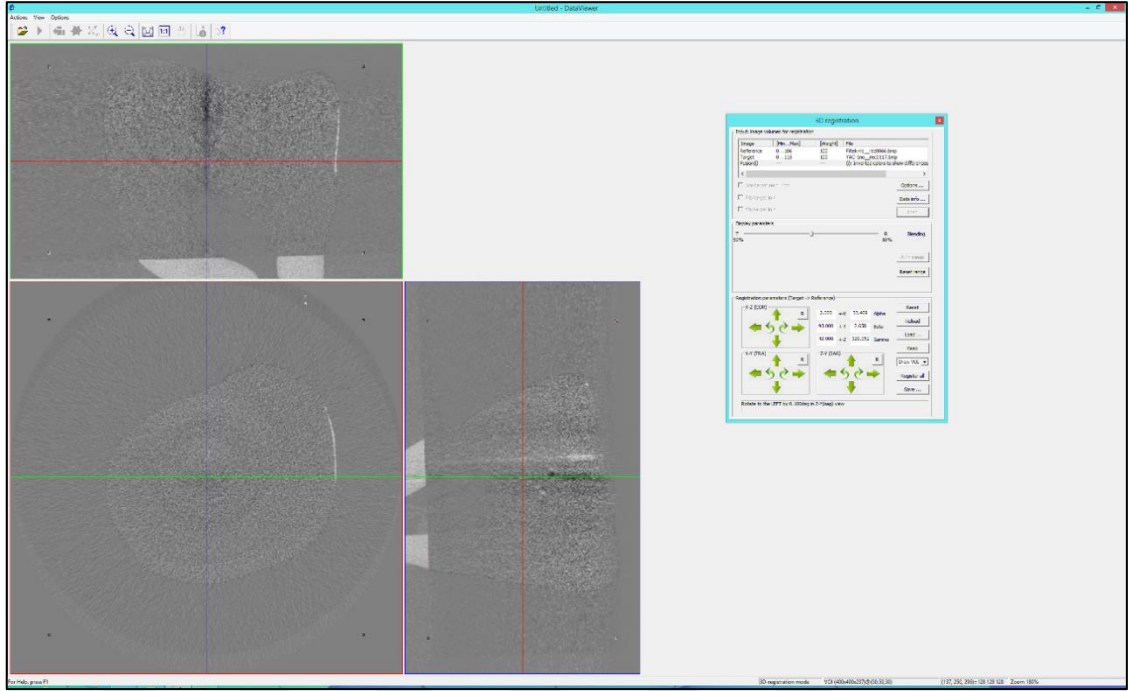
Kesitlerden alınan TIFF (Tagged Image File Format) uyumlu görüntüler BMP (Bit Map Picture) formatına dönüştürüldü. Her bir kesit görüntüsünün çözünürlüğü 2000x2000 piksel ve piksel boyutu 8.896 μm olarak elde edildi. Radyolojik görüntüler NRecon (1.6.10.6 SkyScan, Kontich, Belgium) programında %75 düzeltme oran ile X ışını sertleştirme (Beam Hardening Correction), 7 birim halkasal görüntü hatalarının düzeltimi (Ring Artifact Correction) ve 3 birim görüntü yumuşatma (Smoothing) kullanılarak görüntülerin yeniden yapılandırma (rekonstrüksiyon) işlemi tamamlandı. Analiz için hazır hale getirilen görüntüler data seti olarak dosyalandı.

3.11.3.Mikro-BT Görüntülerinin Analizi

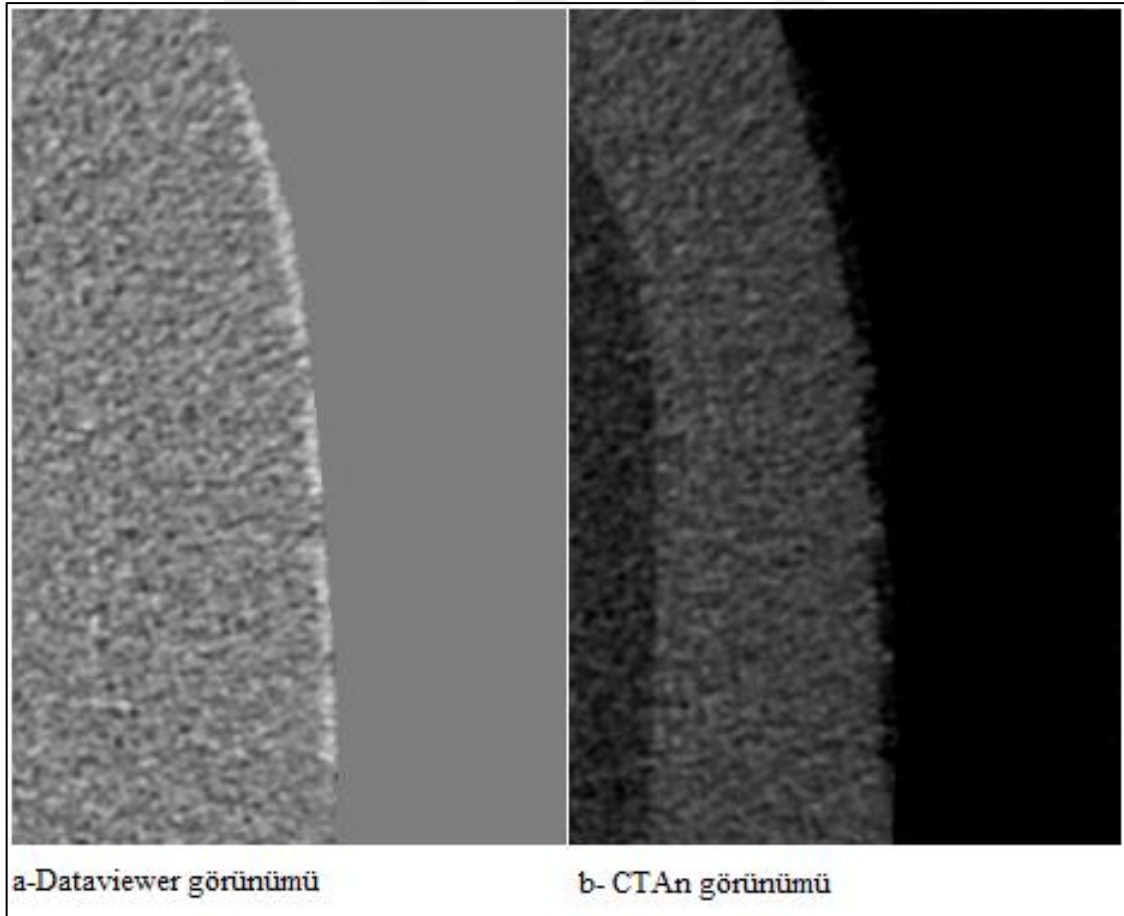
Numunelerden her 3 taramada da elde edilen görüntüler SkyScan Dataviewer 1.5.0 64 bit (SkyScan, Kontich, Belgium) programı kullanılarak düzenlendi. Numunelerin uzayda bulunduğu konumu coronal, sagittal ve transversal 3 ekseninde de aynı olacak şekilde birbirine göre (T_1-T_2 , T_1-T_3 , T_2-T_3) konumlandırma (3D Registration) işlemi yapıldı (Şekil 3.20, Şekil 3.21). Analizin daha hızlı ve detaylı yapılabilmesi amacıyla deney alanları haricindeki kısımlar uzaklaştırılarak, görüntü boyutları küçültülerek yeni data setleri oluşturuldu (Şekil 3.22).



Şekil 3.19. Dataviewer programında konumlandırma işlemi öncesi

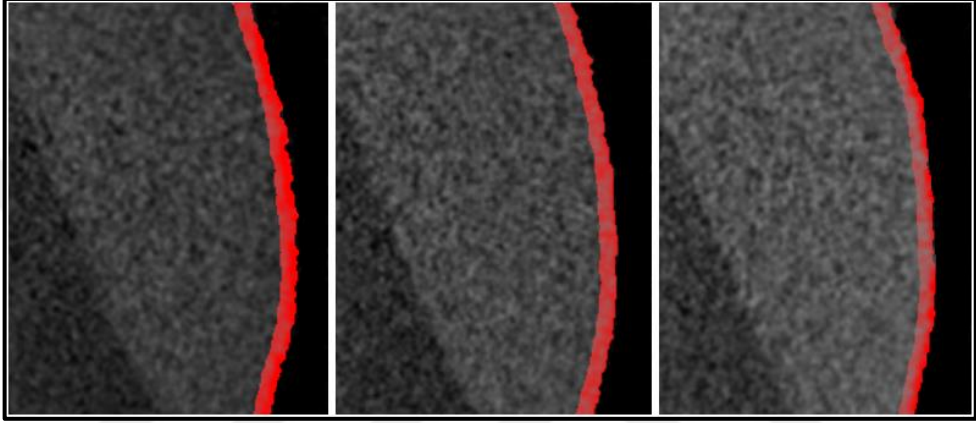


Şekil 3.20. Dataviewer programında konumlandırma işlemi sonrası

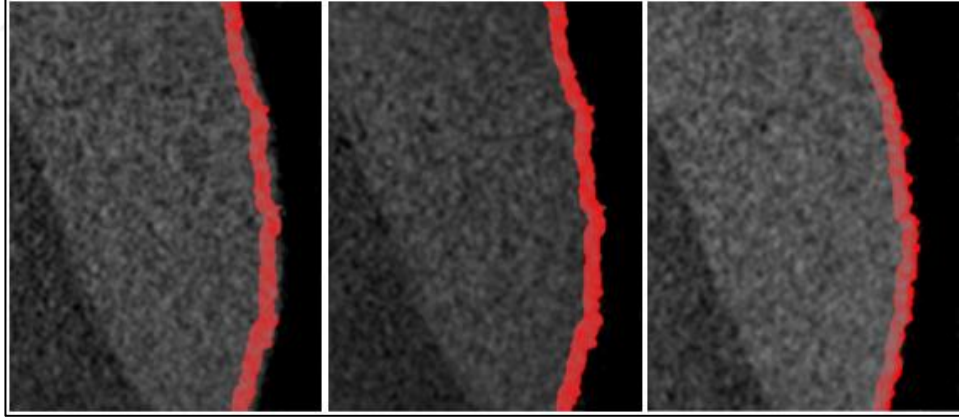


Şekil 3.21. a- Deney alanının Dataviewer ve CTAn programında görünümü

Elde edilen yeni data seti, CT-Analyser (CTAn) (1.13.5.1 SkyScan, Kontich, Belçika) programında açıldı. Deney alanının içinde kalacak şekilde, transversal kesitte serviko-okluzal yönde, coronal kesitte ise mezio-distal yönde lezyonun başladığı ve bittiği sınırlar 2.5 mm x 2.5 mm boyutlarında belirlendi. Bu çalışma alanı sınırları içinde kalan mine dokusunun mineral yoğunluğu Binary Page sayfasındaki mineral yoğunluğu fonksiyonu ile hesaplandı. Mineral yoğunluğu analizi minenin dış sınırından 100 μ m derinlikte (0-0.1 mm aralığında) ve lezyon tabanından 100 μ m derinlikte (0.1-0.2 mm aralığında) olmak üzere iki farklı derinlikte gerçekleştirildi (Şekil 3.22).

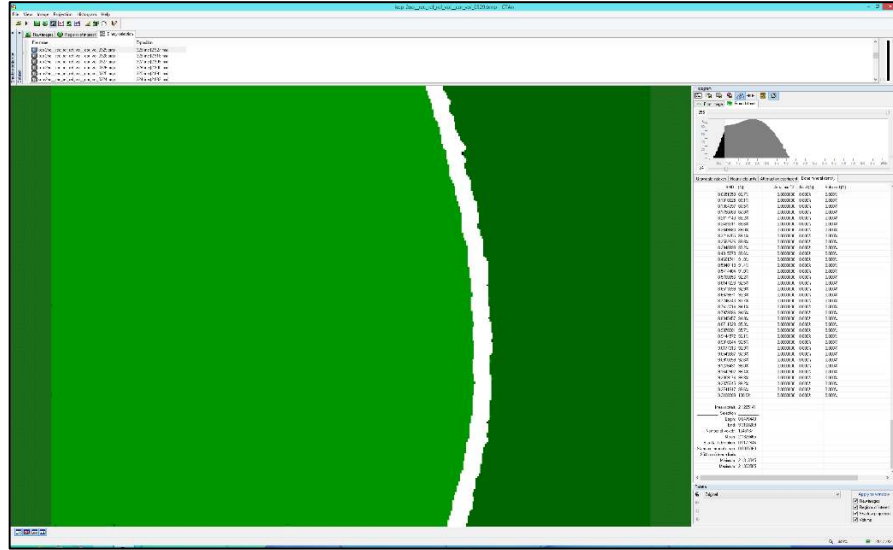


Şekil 3.22. 0-0.1 mm aralığında çalışma alanının T_1 , T_2 ve T_3 taramalarında belirlenmesi

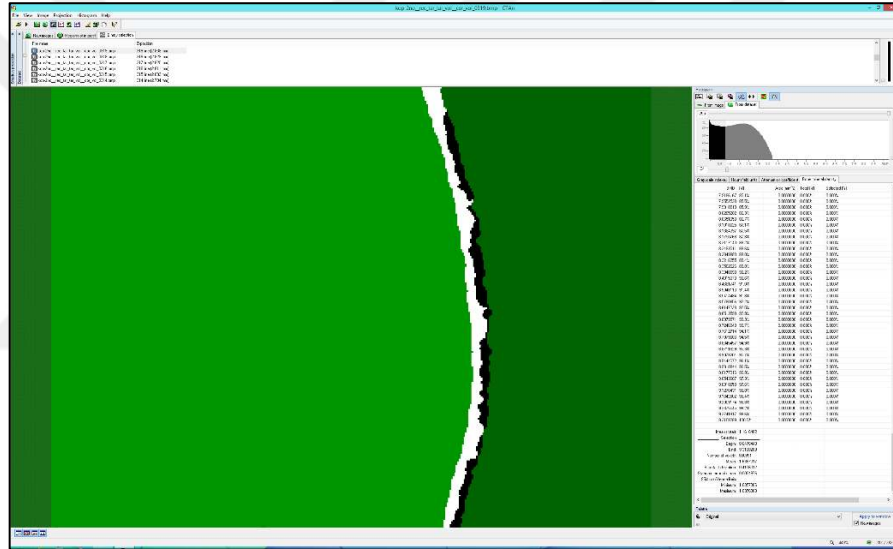


Şekil 3.23. 0.1-0.2 mm aralığında çalışma alanının T_1 , T_2 ve T_3 taramalarında belirlenmesi

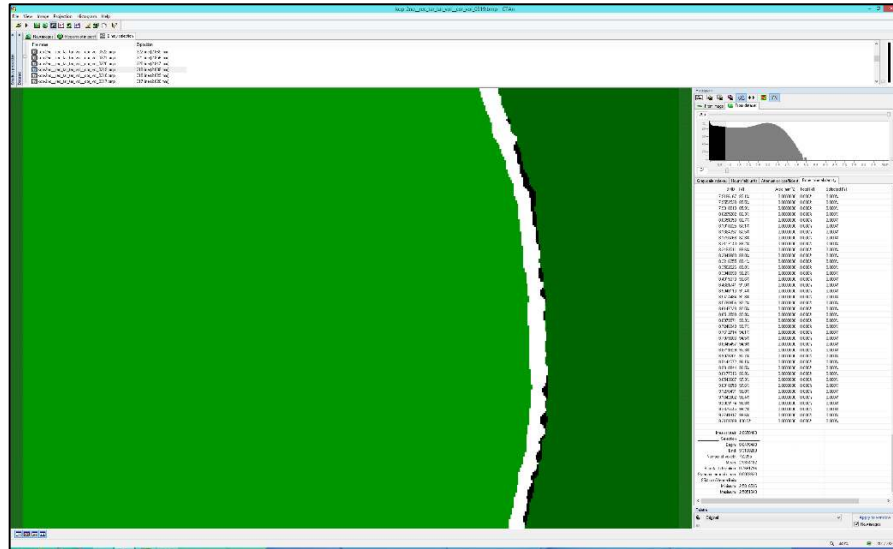
0-0.1 mm aralığında (T_1) mineral yoğunluğu; (BMD_1), demineralizasyondan sonra (T_2) mineral yoğunluğu; (BMD_2) ve remineralizasyondan sonra (T_3) mineral yoğunluğu; (BMD_3) olmak üzere hesaplandı (Şekil 3.24, 3.25, 3.26). 0.1-0.2 mm aralığında (T_1) mineral yoğunluğu; (BMD_1), demineralizasyondan sonra (T_2) mineral yoğunluğu; (BMD_2) ve remineralizasyondan sonra (T_3) mineral yoğunluğu; (BMD_3) olmak üzere hesaplandı (Şekil 3.27, 3.28, 3.29).



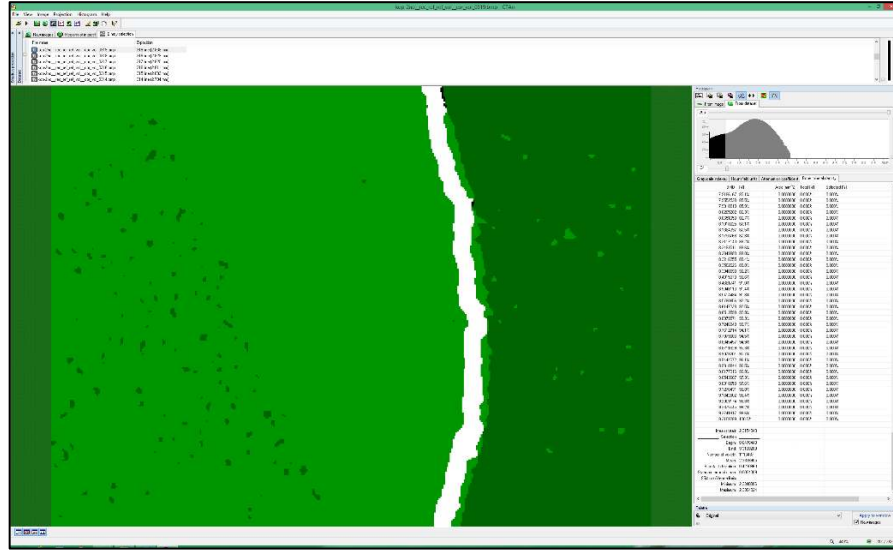
Şekil 3.24. 0-0.1 mm aralığında T_1 'de BMD_1 analizi



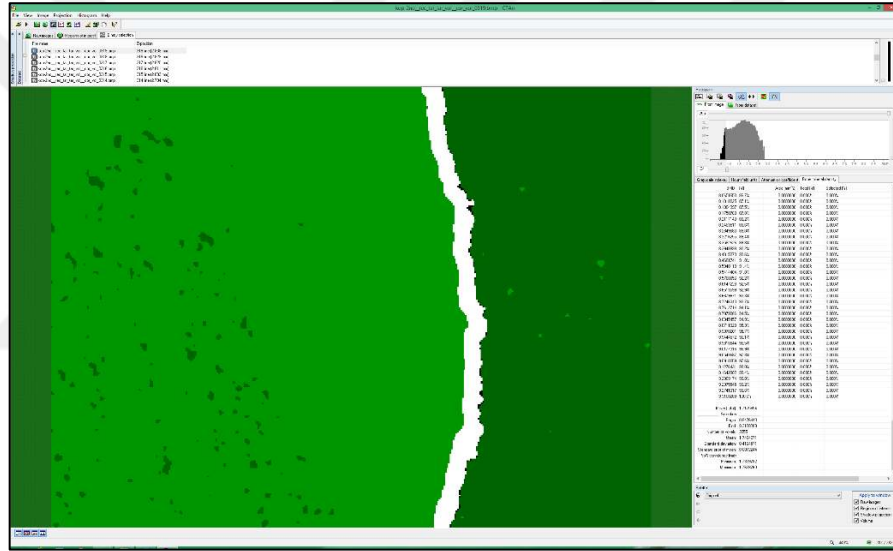
Şekil 3.25. 0-0.1 mm aralığında T_2 'de BMD_2 analizi



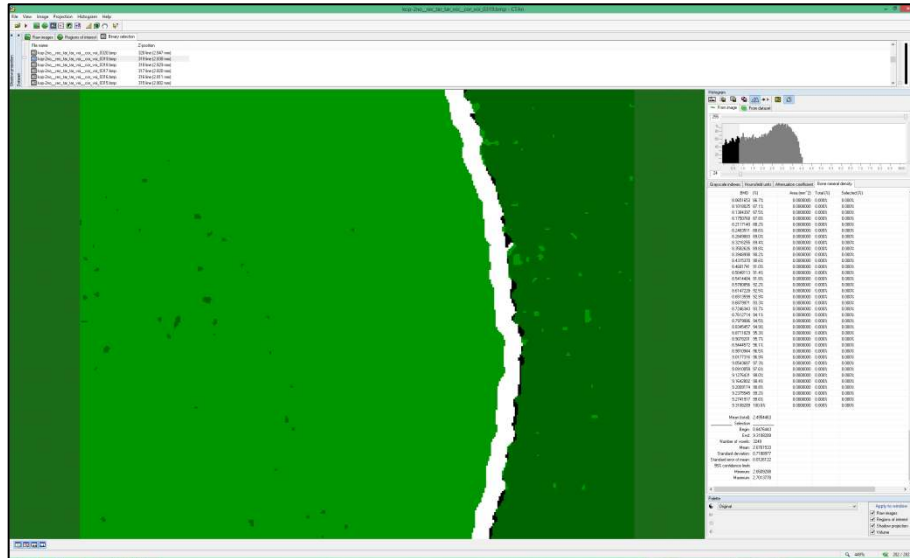
Şekil 3.26. 0-0.1 mm aralığında T_3 'de BMD_3 analizi



Şekil 3.27. 0.1-0.2 mm aralığında T_1 'de BMD_1 analizi

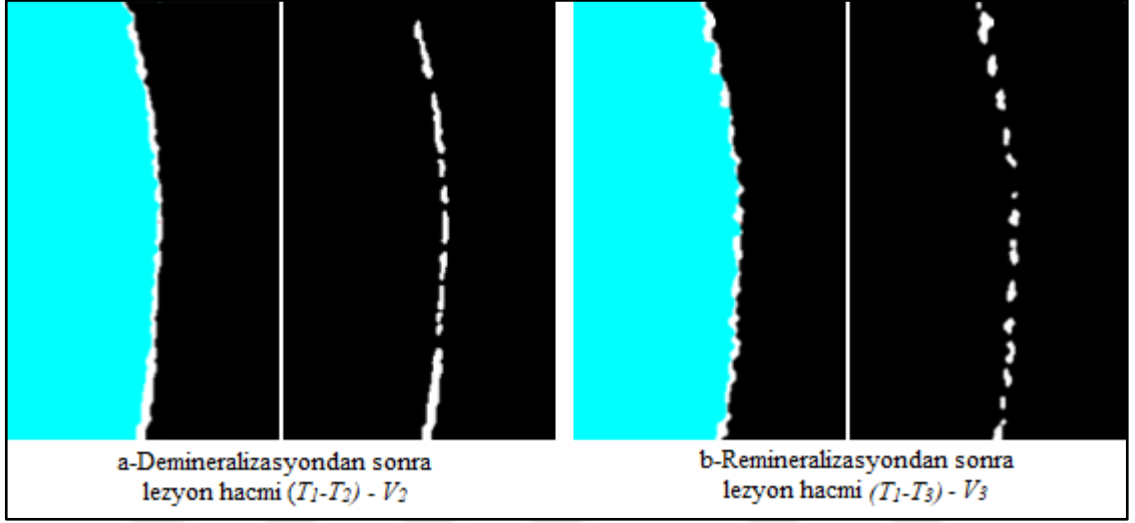


Şekil 3.28. 0.1-0.2 mm aralığında T_2 'de BMD_2 analizi



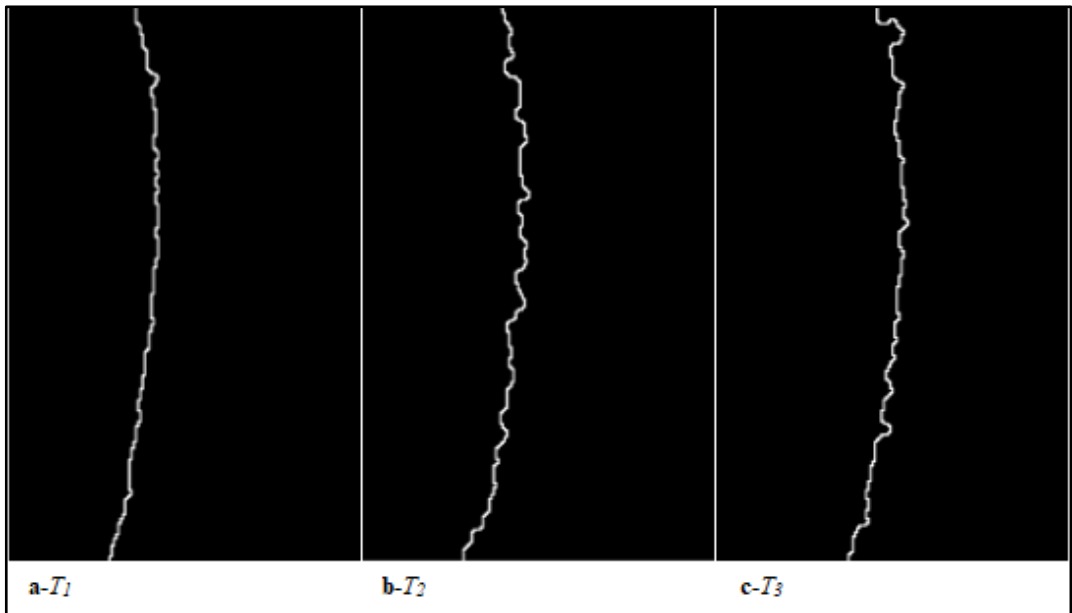
Şekil 3.29. 0.1-0.2 mm aralığında T_3 'de BMD_3 analizi

Hacim analizi yaparken; siyah-beyaz görüntü (Binary Page) sayfasından lezyon yoğunluğuna uygun çalışma aralığı (Theresholding) belirlendi. Ardından özel işlemler sayfasında (custom processing), standart olarak her örnek için aynı görev listesi (Task List) oluşturularak uygulandı. Her örnek için T_1-T_2 ve T_1-T_3 görüntüleri üst üste getirilerek lezyonların hacimleri (V); demineralizasyondan sonra lezyon hacmi (V_2) ve remineralizasyondan sonra lezyon hacmi (V_3) olmak üzere mm^3 cinsinden hesaplandı (Şekil 3.24).



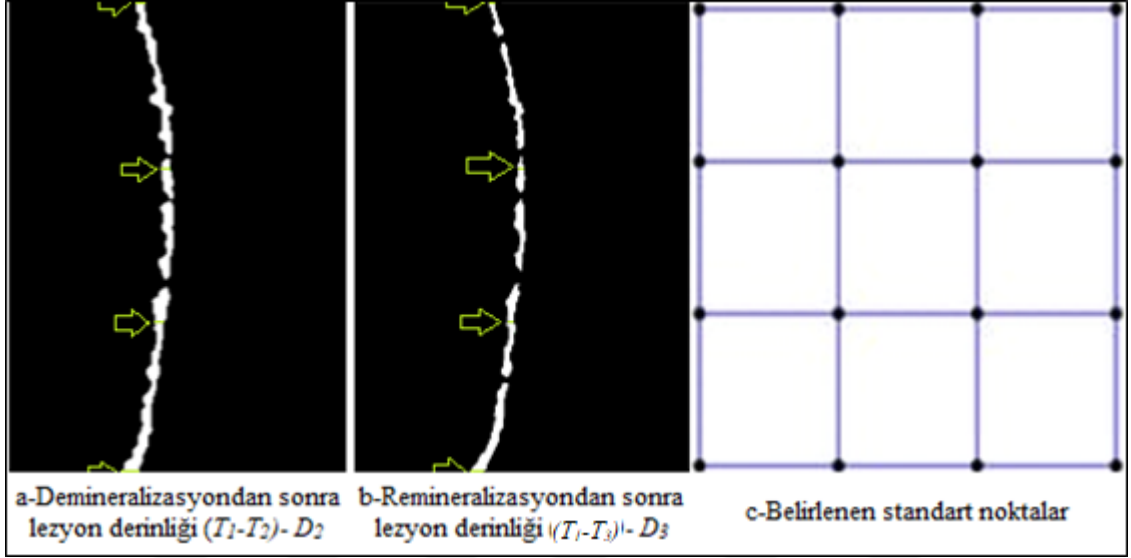
Şekil 3.30. Hacim analizi

Yüzey alanı analizi yaparken; Başlangıçta (T_1) mineral yoğunluğu; (A_1), demineralizasyondan sonra (T_2) mineral yoğunluğu; (A_2) ve remineralizasyondan sonra (T_3) mineral yoğunluğu; (A_3) olmak üzere g/cm^3 cinsinden hesaplandı (Şekil 3.25).



Şekil 3.31. Yüzey alanı analizi

Her örnek için T_1 - T_2 ve $(T_1$ - $T_3)$ görüntüleri üst üste getirilerek elde edilen lezyonların derinlikleri (D); demineralizasyondan sonra lezyon derinliği (D_2) ve remineralizasyondan sonra lezyon derinliği (D_3) olmak üzere mm cinsinden hesaplandı. Bütün yüzeyi temsil etmesi için coronal ve sagittal kesitlerde birbirlerine eşit uzaklıkta 4'er noktadan toplam 16 standart noktada belirlendi. Bu noktalardaki lezyon derinliklerinin ölçülüp ortalamasının bulunması ile hesaplandı.(Şekil 3.26).



Şekil 3.32. Derinlik analizi

Son analiz olarak T_2 'den T_3 'e remineralizasyon sonrasında minimal düzeyde hacim artışı dolayısıyla oluşan bu dokunun mineral yoğunluğu (ΔBMD) hesaplanmıştır (Tablo 4.11). Elde edilen bütün data setlerden görüntüleme için, CTVol programı ile 3 boyutlu görüntüler oluşturuldu.

3.12.SEM İncelemesi

Sağlam mine yüzeyi (1 adet), Grup 1, 1a, 1b, 1c (4 adet), Grup 2, 2a, 2b, 2c (4 adet), Grup 3, 3a, 3b, 3c (4 adet) olmak üzere toplam 13 adet örnek, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma Merkezi'nde taramalı elektron mikroskobu ile görüntülendi. Numuneler metal taşıyıcı üzerine sabitlendikten sonra püskürtme cihazına yerleştirildi. Tüm yüzeyler altın-palladyum (Au-Pd) ile kaplandıktan sonra 150 mA yüksek vakumda, 20 kV flaman gerilimde çalışan taramalı Elektron Mikroskobu'nda (LEO-EVO 40/Cambridge-İngiltere) tarandı. (Şekil 3.29). Her örnek üzerindeki çalışma alanından x2500, x5000 ve x10000'lik büyütmelemlerde görüntüler alınmıştır.



Şekil 3.33. LEO-EVO 40 (Cambridge-İngiltere) SEM cihazı

3.13. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler Microsoft Office Excel (2016) programında kayıt edildi. İstatistiksel analizler SPSS 21.0 V (IBM, Chicago, USA) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Normallik ve varyansların homojenliği varsayımları Shapiro-Wilk normallik testi ile kontrol edilerek tüm grupların normal dağılım gösterdiği doğrulandı. Çalışmada farklı zamanlarda (T_1, T_2, T_3) yapılan ölçümlerin, demineralizasyon lezyonlarına karşın uygulanan ajanların remineralizasyon etkinliğini; hacim, derinlik, mineral yoğunluğu ve yüzey alanı gibi faktörler ile karşılaştırmak için; One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey, Repeated Measures ANOVA, Post-Hoc Bonferroni, Paired Sample t -test analizleri uygulandı. $P < 0.05$ olması durumunda grup ortalamaları arası farklılıklar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada 45 örneğin 3 aşamalı mikro-BT taramasının ardından elde edilen 135 görüntünün ve 13 örneğin SEM taramasının ardından elde edilen görüntülerin analizleri yapıldı. Yapılan analizler sonucunda elde edilen veriler; mikro-BT bulguları ve SEM bulguları olmak üzere iki ayrı başlık altında incelendi.

4.1. Mikro-BT Bulguları

Mikro-BT analizlerinden elde edilen mineral yoğunluğu (Tablo 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.11), hacim (Tablo 4.5, 4.6), yüzey alanı (Tablo 4.7, 4.8) ve derinlik (4.9, 4.10) verileri ilgili tablolarda sunulmuştur.

4.1.1. Mineral Yoğunluğu Bulguları

0-0.1 mm arasında; başlangıçta (T_1), 3 farklı demineralizasyondan (1,2,3) sonra (T_2) ve 3 farklı diş macunu (a,b,c) ile remineralizasyondan sonra (T_3) ölçülen BMD değerleri ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

0-0.1 mm arasında kullanılan diş macunlarına bağlı olarak hiçbir zaman diliminde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Uygulama ve tarama zamanı değişimi arasındaki grup içi ilişkiye bakıldığında, hepsinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0.05$). Uygulanan demineralizasyon çeşitlerinin hepsinde T_1 ’den T_2 ’ye mineral yoğunluğu azaldı. Yalnızca Grup 1a ve Grup 2c’deki yoğunluk azalışında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken, diğer bütün gruplarda demineralizasyon sonucunda BMD anlamlı şekilde azaldı. Portakal suyu (Grup 2) ve kola (Grup 3) ile oluşturulan erozyon lezyonları sonucunda BMD’deki azalış başlangıç çürük lezyonlarına (Grup1) göre daha fazlaydı. Diş macunlarının remineralizasyon etkinliğine bakıldığında ise T_2 ’den T_3 ’e 0-0.1 mm arasında BMD değerlerinin hepsinin arttığı, ancak birbirine çok yakın olduğu görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. En fazla yoğunluk artışının 1.572 ± 0.251 ’den 1.919 ± 0.172 ’a çıkarak portakal suyu ile oluşturulan erozyon lezyonlarının CPP-ACP içerikli GC Tooth Mousse macunu ile fırçalandığı Grup 2b’de olduğu görüldü (Tablo 4.1). Her bir macunun, farklı demineralizasyon çeşitlerine etkinliğine ait veriler Tablo 4.2’de gösterildi. F, CPP-ACP ve doğal içerikli tüm macunlar her türlü demineralizasyon lezyonuna karşı mineral yoğunluğunda artış sağlasa da, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Bununla birlikte T_2 ’den T_3 ’e en az BMD artışı sağlayan macunun doğal içerikli (Agarta) olduğu görüldü (Tablo 4.2).

Tablo 4.1. 0-0.1 mm aralığında; başlangıç (BMD_1), demineralizasyon sonrası (BMD_2) ve remineralizasyon sonrası (BMD_3) mineral yoğunluklarının karşılaştırılması (g/cm^3)

Tarama Zamanı		T_1	T_2	T_3	p^{**}
		BMD_1 Ort $\pm$ SS	BMD_2 Ort $\pm$ SS	BMD_3 Ort $\pm$ SS	
Grup 1	Grup 1a	2.329 $\pm$ 0.184 ^a	1.765 $\pm$ 0.232 ^{ab}	1.843 $\pm$ 0.155 ^b	0.019
	Grup 1b	2.266 $\pm$ 0.090 ^a	1.788 $\pm$ 0.145 ^b	1.926 $\pm$ 0.053 ^b	0.001
	Grup 1c	2.282 $\pm$ 0.165 ^a	1.741 $\pm$ 0.172 ^b	1.759 $\pm$ 0.171 ^b	<0.001
	p^*	0.793	0.917	0.177	
Grup 2	Grup 2a	2.373 $\pm$ 0.085 ^a	1.635 $\pm$ 0.207 ^b	1.893 $\pm$ 0.266 ^b	<0.001
	Grup 2b	2.315 $\pm$ 0.070 ^a	1.572 $\pm$ 0.251 ^b	1.919 $\pm$ 0.172 ^b	<0.001
	Grup 2c	2.018 $\pm$ 0.209	1.633 $\pm$ 0.139	1.660 $\pm$ 0.139	0.019
	p^*	0.777	0.877	0.144	
Grup 3	Grup 3a	2.016 $\pm$ 0.148 ^a	1.590 $\pm$ 0.138 ^b	1.713 $\pm$ 0.075 ^b	0.002
	Grup 3b	2.070 $\pm$ 0.128 ^a	1.685 $\pm$ 0.113 ^b	1.757 $\pm$ 0.132 ^{ab}	0.003
	Grup 3c	2.289 $\pm$ 0.181 ^a	1.669 $\pm$ 0.157 ^b	1.875 $\pm$ 0.107 ^{ab}	0.001
	p^*	0.104	0.539	0.082	

*One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey; **Repeated Measures ANOVA, Post-Hoc Bonferroni $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

a-c: Farklı harfler aynı satırdaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir.

Tablo 4.2. 0-0.1 mm aralığında diş macunlarının, etkinliğinin üç farklı zaman dilimine (T_1 , T_2 , T_3) göre mineral yoğunluğu açısından karşılaştırılması (g/cm^3)

Tarama Zamanı		T_1	T_2	T_3
		BMD_1 Ortalama $\pm$ SS	BMD_2 Ortalama $\pm$ SS	BMD_3 Ortalama $\pm$ SS
Sensodyne (NaF)	Grup 1a	2.329 $\pm$ 0.184	1.765 $\pm$ 0.232	1.843 $\pm$ 0.155
	Grup 2a	2.373 $\pm$ 0.085	1.635 $\pm$ 0.207	1.893 $\pm$ 0.266
	Grup 3a	2.016 $\pm$ 0.148	1.590 $\pm$ 0.138	1.713 $\pm$ 0.075
	p^*	0.880	0.370	0.304
GC Tooth Mouse (CPP-ACP)	Grup 1b	2.266 $\pm$ 0.090	1.788 $\pm$ 0.145	1.926 $\pm$ 0.053
	Grup 2b	2.315 $\pm$ 0.070	1.572 $\pm$ 0.251	1.919 $\pm$ 0.172
	Grup 3b	2.070 $\pm$ 0.128	1.685 $\pm$ 0.113	1.757 $\pm$ 0.132
	p^*	0.715	0.182	0.140
Agarta (Doğal)	Grup 1c	2.282 $\pm$ 0.165	1.741 $\pm$ 0.172	1.759 $\pm$ 0.171
	Grup 2c	2.018 $\pm$ 0.203	1.633 $\pm$ 0.139	1.660 $\pm$ 0.139
	Grup 3c	2.289 $\pm$ 0.181	1.669 $\pm$ 0.157	1.875 $\pm$ 0.107
	p^*	0.090	0.538	0.080

*One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey
 $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

0.1-0.2 mm aralığında; başlangıç (T_1), 3 farklı ajan (1,2,3) ile oluşturulan demineralizasyon sonrası (T_2) ve 3 farklı diş macunu (a,b,c) ile remineralizasyon sonrası (T_3) ölçülen BMD değerleri ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4.3’de gösterilmiştir. Kullanılan diş macunlarına bağlı olarak hiçbir zaman diliminde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Uygulama ve tarama zamanı değişimi arasındaki grup içi ilişkiye bakıldığında, Grup 3b hariç hepsinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0.05$). 0.1-0.2 mm aralığında uygulanan demineralizasyon çeşitlerinin hepsinde T_1 ’den T_2 ’ye mineral yoğunluğu azaldı, ancak 0-0.1 mm aralığındaki kadar çok değildi. Diş macunlarının remineralizasyon etkinliğine bakıldığında, T_2 ’den T_3 ’e BMD değerlerinin hepsinin arttığı, ancak birbirine çok yakın olduğu ve artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. 0.1-0.2 mm aralığında; başlangıç (BMD_1), demineralizasyon sonrası (BMD_2) ve remineralizasyon sonrası (BMD_3) mineral yoğunluklarının karşılaştırılması (g/cm^3)

Tarama Zamanı		T_1	T_2	T_3	p^{**}
		BMD_1 Ort $\pm$ SS	BMD_2 Ort $\pm$ SS	BMD_3 Ort $\pm$ SS	
Grup 1	Grup 1a	2.478 $\pm$ 0.229	2.378 $\pm$ 0.199	2.414 $\pm$ 0.205	0.003
	Grup 1b	2.450 $\pm$ 0.125 ^a	2.331 $\pm$ 0.125 ^b	2.393 $\pm$ 0.113 ^a	0.001
	Grup 1c	2.453 $\pm$ 0.148 ^a	2.261 $\pm$ 0.145 ^b	2.286 $\pm$ 0.119 ^c	0.001
	p^*	0.964	0.398	0.403	
Grup 2	Grup 2a	2.556 $\pm$ 0.109 ^a	2.395 $\pm$ 0.079 ^b	2.435 $\pm$ 0.091 ^c	<0.001
	Grup 2b	2.516 $\pm$ 0.042 ^a	2.237 $\pm$ 0.084 ^b	2.340 $\pm$ 0.108 ^a	<0.001
	Grup 2c	2.219 $\pm$ 0.192	1.980 $\pm$ 0.219	2.149 $\pm$ 0.169	0.019
	p^*	0.881	0.233	0.490	
Grup 3	Grup 3a	2.235 $\pm$ 0.199	2.111 $\pm$ 0.119	2.167 $\pm$ 0.134	0.020
	Grup 3b	2.332 $\pm$ 0.400	2.077 $\pm$ 0.215	2.234 $\pm$ 0.321	0.151
	Grup 3c	2.546 $\pm$ 0.152	2.238 $\pm$ 0.147	2.411 $\pm$ 0.141	0.009
	p^*	0.211	0.310	0.218	

*One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey; **Repeated Measures ANOVA, Post-Hoc Bonferroni $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

a-c: Farklı harfler aynı satırdaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir.

0.1-0.2 mm aralığında her bir macunun, farklı demineralizasyon tiplerine etkinliğine ait veriler Tablo 4.4’de gösterilmiştir. F, CPP-ACP ve doğal içerikli tüm macunlar her türlü demineralizasyon lezyonuna karşı mineral yoğunluğunda artış sağladı, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bununla birlikte T_2 ’den T_3 ’e en az BMD artışı sağlayan macunun doğal içerikli Agarta olduğu görüldü (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. 0-0.1 mm aralığında diş macunlarının, etkinliğinin üç farklı zaman dilimine (T_1 , T_2 , T_3) göre mineral yoğunluğu açısından karşılaştırılması (g/cm^3)

Tarama Zamanı		T_1	T_2	T_3
		BMD_1 Ort $\pm$ SS	BMD_2 Ort $\pm$ SS	BMD_3 Ort $\pm$ SS
Sensodyne (NaF)	Grup 1a	2.478 $\pm$ 0.229	2.378 $\pm$ 0.199	2.414 $\pm$ 0.205
	Grup 2a	2.556 $\pm$ 0.109	2.395 $\pm$ 0.079	2.435 $\pm$ 0.091
	Grup 3a	2.235 $\pm$ 0.199	2.111 $\pm$ 0.119	2.167 $\pm$ 0.134
	p*	0.790	0.980	0.976
GC Tooth Mouse (CPP-ACP)	Grup 1b	2.450 $\pm$ 0.125	2.331 $\pm$ 0.125	2.393 $\pm$ 0.113
	Grup 2b	2.516 $\pm$ 0.042	2.237 $\pm$ 0.084	2.340 $\pm$ 0.108
	Grup 3b	2.332 $\pm$ 0.400	2.077 $\pm$ 0.215	2.234 $\pm$ 0.321
	p*	0.477	0.052	0.467
Agarta (Doğal)	Grup 1c	2.453 $\pm$ 0.148	2.241 $\pm$ 0.145	2.286 $\pm$ 0.119
	Grup 2c	2.219 $\pm$ 0.192	1.980 $\pm$ 0.219	2.149 $\pm$ 0.169
	Grup 3c	2.546 $\pm$ 0.152	2.238 $\pm$ 0.147	2.411 $\pm$ 0.141
	p*	0.660	0.083	0.389

*One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey
p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4.1.1. Hacim Bulguları

Numunelerin 3 farklı yöntemle oluşturulan (1,2,3) demineralizasyondan sonra (T_2) ve 3 farklı diş macunu (a,b,c) ile remineralizasyondan sonra (T_3) ölçülen lezyon hacmi değerleri ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4.5'te sunulmuştur. Kullanılan diş macunlarına bağlı olarak hiçbir zaman diliminde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Uygulama ve tarama zamanı değişimi arasındaki grup içi ilişkiye bakıldığında ise Grup 2a ve Grup 2c'de görülmezken, geri kalan hepsinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0.05$). Uygulanan demineralizasyon çeşitlerinin hepsinde bir lezyon hacminin oluştuğu ve kola uygulanan numunelerin bulunduğu Grup 3'ün hacim ortalamasının daha büyük olduğu görüldü. Remineralizasyon sonrası tüm gruplarda lezyon hacminin azaldığı bulundu. Remineralizasyon sonucunda hacim azalışı ortalama fark olarak tabloda verilirken, ek olarak T_2 ve T_3 'de elde edilen görüntülerin de birbiri ile karşılaştırılması ile elde edilen analiz sonucundaki hacim de Tablo 4.5 ve 4.6'da V_2 - V_3 şeklinde verilmiştir.

Tablo 4.5. Demineralizasyon sonrası (V_2) ve remineralizasyon sonrası (V_3) lezyon hacimlerinin karşılaştırılması (mm^3)

Tarama Zamanı		T_1-T_2	T_1-T_3	Ortalama Farkı	p	T_3-T_2
		V_2 Ort $\pm$ SS	V_3 Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS		ΔV Ort $\pm$ SS
Grup 1	Grup 1a	0.077 $\pm$ 0.004	0.036 $\pm$ 0.013	0.041 $\pm$ 0.013	0.002	0.036 $\pm$ 0.007
	Grup 1b	0.250 $\pm$ 0.037	0.173 $\pm$ 0.044	0.077 $\pm$ 0.046	0.020	0.020 $\pm$ 0.012
	Grup 1c	0.176 $\pm$ 0.050	0.120 $\pm$ 0.016	0.055 $\pm$ 0.043	0.045	0.029 $\pm$ 0.015
	p*	1.000	1.000			0.139
Grup 2	Grup 2a	0.283 $\pm$ 0.031	0.183 $\pm$ 0.098	0.100 $\pm$ 0.087	0.062	0.037 $\pm$ 0.025
	Grup 2b	0.238 $\pm$ 0.039	0.203 $\pm$ 0.023	0.035 $\pm$ 0.023	0.028	0.039 $\pm$ 0.036
	Grup 2c	0.206 $\pm$ 0.026	0.166 $\pm$ 0.041	0.040 $\pm$ 0.033	0.057	0.028 $\pm$ 0.010
	p*	0.119	0.637			0.763
Grup 3	Grup 3a	0.273 $\pm$ 0.015	0.242 $\pm$ 0.029	0.030 $\pm$ 0.021	0.037	0.003 $\pm$ 0.003
	Grup 3b	0.269 $\pm$ 0.014	0.260 $\pm$ 0.018	0.008 $\pm$ 0.005	0.035	0.005 $\pm$ 0.003
	Grup 3c	0.218 $\pm$ 0.016	0.163 $\pm$ 0.020	0.055 $\pm$ 0.023	0.006	0.004 $\pm$ 0.002
	p*	0.899	0.478			0.632

*One Way ANOVA, Post-Hoc Tukey **Paired Sample t-test
p< 0.05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 4.6. Diş macunlarının etkinliğinin remineralizasyon öncesi (T_2) ve sonrası (T_3) lezyon hacmi açısından karşılaştırılması (mm^3)

Tarama Zamanı		T_1-T_2	T_1-T_3	Ortalama Farkı	T_3-T_2
		V_2 Ort $\pm$ SS	V_3 Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	ΔV Ort $\pm$ SS
Sensodyne (NaF)	Grup 1a	0.077 $\pm$ 0.004	0.036 $\pm$ 0.013	0.041 $\pm$ 0.013	0.036 $\pm$ 0.007
	Grup 2a	0.283 $\pm$ 0.031	0.183 $\pm$ 0.098	0.100 $\pm$ 0.087	0.037 $\pm$ 0.025
	Grup 3a	0.273 $\pm$ 0.015	0.242 $\pm$ 0.029	0.030 $\pm$ 0.021	0.003 $\pm$ 0.003
	p*	0.718	0.289		0.994
GC Tooth Mouse (CPP-ACP)	Grup 1b	0.250 $\pm$ 0.037	0.173 $\pm$ 0.044	0.077 $\pm$ 0.046	0.020 $\pm$ 0.012
	Grup 2b	0.238 $\pm$ 0.039	0.203 $\pm$ 0.023	0.035 $\pm$ 0.023	0.039 $\pm$ 0.036
	Grup 3b	0.269 $\pm$ 0.014	0.260 $\pm$ 0.018	0.008 $\pm$ 0.005	0.005 $\pm$ 0.003
	p*	0.333	1.000		0.074
Agarta (Doğal)	Grup 1c	0.176 $\pm$ 0.050	0.120 $\pm$ 0.016	0.055 $\pm$ 0.043	0.029 $\pm$ 0.015
	Grup 2c	0.206 $\pm$ 0.026	0.166 $\pm$ 0.041	0.040 $\pm$ 0.033	0.028 $\pm$ 0.010
	Grup 3c	0.218 $\pm$ 0.016	0.163 $\pm$ 0.020	0.055 $\pm$ 0.023	0.004 $\pm$ 0.002
	p*	0.179	0.062		0.962

*One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey
p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Her bir macunun, farklı demineralizasyon çeşitlerine etkinliğine ait veriler Tablo 4.4’de gösterildi. F, CPP-ACP ve doğal içerikli tüm macunlar her türlü demineralizasyon lezyonunun hacminde azalma sağlasa da gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. V2’den V3’e en fazla hacim değişikliği sağlayan macun grubunun NaF içerikli Sensodyne’in portakal suyu ile oluşturulan erozyon lezyonuna karşı olduğu görüldü (Tablo 4.6).

4.1.2. Yüzey Alanı Bulguları

Başlangıçta (T_1), 3 farklı ajan (1,2,3) ile oluşturulan demineralizasyondan sonra (T_2) ve 3 farklı remineralizasyon ajanı (a,b,c) ile remineralizasyondan sonra (T_3) ölçülen yüzey alanı değerleri ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4.7’de gösterilmektedir. Kullanılan diş macunlarına bağlı olarak hiçbir zaman diliminde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Uygulama ve tarama zamanı arasındaki ilişkiye bakıldığında yalnızca grup 1b ve grup 3b’de grup içi yüzey alanındaki değişim istatistiksel olarak anlamlı değilken, kalan tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0.05$).

Tablo 4.7. Başlangıç (A_1), demineralizasyon sonrası (A_2) ve remineralizasyon sonrası (A_3) yüzey alanlarının karşılaştırılması (mm^2)

Tarama Zamanı		T_1	T_2	T_3	p^{**}
		A_1	A_2	A_3	
		Ortalama $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ SS	
Grup 1	Grup 1a	9.980 $\pm$ 0.540 ^a	11.705 $\pm$ 0.801 ^b	10.390 $\pm$ 0.594 ^c	0.007
	Grup 1b	10.328 $\pm$ 1.288 ^{ab}	11.408 $\pm$ 0.957 ^a	11.188 $\pm$ 0.876 ^b	0.052
	Grup 1c	10.005 $\pm$ 0.629 ^a	11.399 $\pm$ 0.532 ^b	11.174 $\pm$ 0.617 ^b	0.001
	p^*	0.810	0.813	0.217	
Grup 2	Grup 2a	9.661 $\pm$ 0.636 ^a	11.260 $\pm$ 0.339 ^b	10.602 $\pm$ 0.817 ^{ab}	0.002
	Grup 2b	10.051 $\pm$ 0.718 ^a	11.258 $\pm$ 0.779 ^b	10.775 $\pm$ 0.933 ^c	<0.001
	Grup 2c	9.833 $\pm$ 0.598 ^a	11.264 $\pm$ 0.440 ^b	11.103 $\pm$ 0.703 ^b	<0.001
	p^*	0.625	1.000	0.613	
Grup 3	Grup 3a	10.548 $\pm$ 1.179 ^a	10.884 $\pm$ 1.253 ^b	10.779 $\pm$ 1.279 ^{ab}	0.002
	Grup 3b	10.556 $\pm$ 1.377	11.024 $\pm$ 0.921	10.841 $\pm$ 1.033	0.120
	Grup 3c	9.615 $\pm$ 0.383 ^a	10.070 $\pm$ 0.610 ^b	9.973 $\pm$ 0.687 ^{ab}	0.037
	p^*	0.376	0.298	0.404	

*One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey; **Repeated Measures ANOVA, Post-Hoc Bonferroni $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

a-c: Farklı harfler aynı satırdaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir.

Uygulanan demineralizasyon çeşitlerinin hepsinde T_1 'den T_2 'ye yüzey alanı arttı. Yalnızca grup 1b'deki yüzey alanı artışında birbiri ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken diğer bütün gruplarda demineralizasyon sonucunda yüzey alanı anlamlı şekilde arttı. Diş macunlarının remineralizasyon etkinliğine bakıldığında T_2 'den T_3 'e yüzey alanı değerlerinin hepsinin azaldığı, ancak T_1 'deki değerlere ulaşamadığı görüldü. Yalnızca grup 1a ve grup 2b'deki yüzey alanı azalışı istatistiksel olarak anlamlı iken, diğerleri değildi. Yüzey alanındaki en ciddi azalmanın 11.705 ± 0.801 mm'den, 10.390 ± 0.594 mm'ye düşüş ile yapay çürük ile oluşturulan başlangıç çürük lezyonlarının NaF içerikli Sensodyne macun ile fırçalandığı Grup 1a'da olduğu görüldü (Tablo 4.8).

Her bir macunun, farklı demineralizasyon çeşitlerine etkinliğine ait veriler Tablo 4.4'de gösterilmiştir. F, CPP-ACP ve doğal içerikli tüm macunlar her türlü demineralizasyon lezyonuna karşı yüzey alanında azalma sağlasa da gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi. Bununla birlikte T_2 'den T_3 'e yüzey alanında en az azalışı sağlayan macunun doğal içerikli Agarta olduğu görüldü (Tablo 4.9)

Tablo 4.8. Diş macunlarının etkinliğinin üç farklı zaman diliminde (T_1 , T_2 , T_3) yüzey alanı açısından karşılaştırılması (mm²)

Tarama Zamanı		T_1	T_2	T_3
		A_1	A_2	A_3
		Ortalama $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ SS
Sensodyne (NaF)	Grup 1a	9.980 $\pm$ 0.540	11.705 $\pm$ 0.801	10.390 $\pm$ 0.594
	Grup 2a	9.661 $\pm$ 0.636	11.260 $\pm$ 0.319	10.602 $\pm$ 0.817
	Grup 3a	10.548 $\pm$ 1.179	10.884 $\pm$ 1.253	10.779 $\pm$ 1.279
	p*	0.252	0.337	0.794
GC Tooth Mouse (CPP-ACP)	Grup 1b	10.328 $\pm$ 1.283	11.408 $\pm$ 0.957	11.188 $\pm$ 0.876
	Grup 2b	10.051 $\pm$ 0.718	11.258 $\pm$ 0.779	10.775 $\pm$ 0.933
	Grup 3b	10.556 $\pm$ 1.377	11.024 $\pm$ 0.921	10.841 $\pm$ 1.033
	p*	0.776	0.778	0.776
Agarta (Doğal)	Grup 1c	10.005 $\pm$ 0.629	11.399 $\pm$ 0.532	11.174 $\pm$ 0.617
	Grup 2c	9.833 $\pm$ 0.598	11.261 $\pm$ 0.440	11.103 $\pm$ 0.703
	Grup 3c	9.615 $\pm$ 0.383	10.070 $\pm$ 0.610	9.973 $\pm$ 0.687
	p*	0.517	0.915	0.985

*One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey

p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4.1.3. Derinlik Bulguları

Numunelerin 3 farklı yöntemle oluşturulan demineralizasyon sonrası (T_2) ve 3 farklı diş macunu ile remineralizasyon sonrası (T_3) ölçülen lezyon derinliği değerleri ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4.9’da gösterilmektedir. Kullanılan diş macunlarına bağlı olarak hiçbir zaman diliminde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). Uygulama ve tarama zamanı değişimi arasındaki grup içi ilişkiye bakıldığında, Grup 3a ve Grup 3b’de görülmezken, geri kalan hepsinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p<0.05$). Uygulanan demineralizasyon çeşitlerinin hepsinde bir lezyon derinliğinin oluştuğu görüldü. Remineralizasyondan sonra tüm gruplarda lezyon derinliğinin azaldığı bulundu. Derinlikteki en fazla azalışın portakal suyu ile oluşturulan erozyon lezyonlarına karşı CPP-ACP içeren macun ile fırçalama sonrası Grup 1b’de olduğu bulundu. Remineralizasyon sonrası lezyon derinliğindeki azalış ortalama fark olarak tabloda verilirken, ek olarak T_2 ve T_3 ’de elde edilen görüntülerin de birbiri ile karşılaştırılması sonrası elde edilen analiz sonucundaki derinlik de Tablo 4.9 ve 4.10’da “ D_2 - D_3 ” şeklinde verilmiştir. Her bir macunun, farklı demineralizasyon çeşitlerine etkinliğine ait veriler Tablo 4.10’da sunulmuştur. F, CPP-ACP ve doğal içerikli tüm macunlar her türlü demineralizasyon lezyonunun derinliğinde azalma sağlasa da gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Tablo 4.9. Demineralizasyon sonrası (D_2) ve remineralizasyon sonrası (D_3) lezyon derinliğinin karşılaştırılması (mm)

Tarama Zamanı		T_2	T_3	Ortalama Farkı	p^{**}	T_3-T_2
		D_2 Ortalama $\pm$ SS	D_3 Ortalama $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ SS		ΔD Ortalama $\pm$ SS
Grup 1	Grup 1a	0.015 $\pm$ 0.004	0.011 $\pm$ 0.004	0.003 $\pm$ 0.002	0.023	0.014 $\pm$ 0.006
	Grup 1b	0.033 $\pm$ 0.010	0.015 $\pm$ 0.009	0.018 $\pm$ 0.007	0.005	0.010 $\pm$ 0.005
	Grup 1c	0.025 $\pm$ 0.011	0.019 $\pm$ 0.009	0.005 $\pm$ 0.004	0.048	0.005 $\pm$ 0.004
	p^*	0.375	0.347			0.065
Grup 2	Grup 2a	0.045 $\pm$ 0.010	0.029 $\pm$ 0.010	0.016 $\pm$ 0.009	0.021	0.014 $\pm$ 0.007
	Grup 2b	0.031 $\pm$ 0.012	0.022 $\pm$ 0.009	0.009 $\pm$ 0.006	0.031	0.009 $\pm$ 0.006
	Grup 2c	0.033 $\pm$ 0.010	0.027 $\pm$ 0.009	0.005 $\pm$ 0.002	0.010	0.006 $\pm$ 0.002
	p^*	0.170	0.553			0.114
Grup 3	Grup 3a	0.034 $\pm$ 0.007	0.028 $\pm$ 0.004	0.005 $\pm$ 0.005	0.078	0.007 $\pm$ 0.004
	Grup 3b	0.030 $\pm$ 0.011	0.029 $\pm$ 0.012	0.001 $\pm$ 0.003	0.620	0.002 $\pm$ 0.001
	Grup 3c	0.025 $\pm$ 0.003	0.019 $\pm$ 0.002	0.005 $\pm$ 0.005	0.043	0.006 $\pm$ 0.002
	p^*	0.288	0.133			0.123

*One Way ANOVA Tukey analizi; **Paired Sample t -test
 $p<0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 4.10. Diş macunlarının etkinliğinin remineralizasyondan önce (T_2) ve sonra (T_3) lezyon derinliği açısından karşılaştırılması (mm)

Tarama Zamanı		T_1-T_2	T_1-T_3	Ortalama Farkı	T_3-T_2
		D_2 Ort $\pm$ SS	D_3 Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	(ΔD) Ort $\pm$ SS
Sensodyne (NaF)	Grup 1a	0.015 $\pm$ 0.004	0.011 $\pm$ 0.004	0.003 $\pm$ 0.002	0.01 $\pm$ 0.006
	Grup 2a	0.045 $\pm$ 0.010	0.029 $\pm$ 0.010	0.016 $\pm$ 0.009	0.01 $\pm$ 0.007
	Grup 3a	0.034 $\pm$ 0.007	0.028 $\pm$ 0.004	0.005 $\pm$ 0.005	0.007 $\pm$ 0.004
	p*	0.095	0.977		0.161
GC Tooth Mousse (CPP-ACP)	Grup 1b	0.033 $\pm$ 0.010	0.015 $\pm$ 0.009	0.018 $\pm$ 0.007	0.01 $\pm$ 0.005
	Grup 2b	0.031 $\pm$ 0.012	0.022 $\pm$ 0.009	0.009 $\pm$ 0.006	0.001 $\pm$ 0.006
	Grup 3b	0.030 $\pm$ 0.011	0.029 $\pm$ 0.012	0.001 $\pm$ 0.003	0.002 $\pm$ 0.001
	p*	0.933	0.116		0.071
Agarta (Doğal)	Grup 1c	0.025 $\pm$ 0.011	0.019 $\pm$ 0.009	0.005 $\pm$ 0.004	0.005 $\pm$ 0.004
	Grup 2c	0.033 $\pm$ 0.010	0.027 $\pm$ 0.009	0.005 $\pm$ 0.002	0.006 $\pm$ 0.002
	Grup 3c	0.025 $\pm$ 0.003	0.019 $\pm$ 0.002	0.005 $\pm$ 0.005	0.006 $\pm$ 0.002
	p*	0.386	0.269		0.802

*One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey

p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

T_2 'den T_3 'e remineralizasyon sonrasında minimal düzeyde hacim artışı bulunmuştur. Yeni oluşan bu dokunun mineral yoğunluğuna bakıldığında (ΔBMD) tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi (Tablo 4.11). En fazla artış Grup 2a'da olurken, en az artış Grup 3c'de olmuştur.

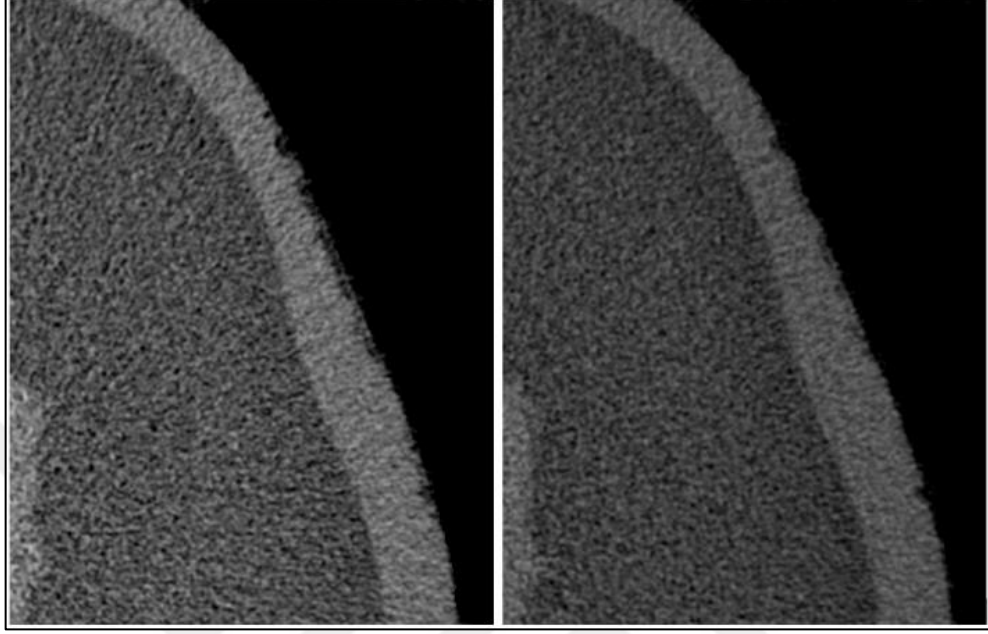
Tablo 4.11. T_2 'den T_3 'e oluşan yeni dokunun mineral yoğunluğu (ΔBMD)

ΔBMD		
Grup 1	Grup 1a	1.435 $\pm$ 0.171
	Grup 1b	1.343 $\pm$ 0.210
	Grup 1c	1.130 $\pm$ 0.122
	p*	0.043*
Grup 2	Grup 2a	1.860 $\pm$ 0.216
	Grup 2b	1.760 $\pm$ 0.181
	Grup 2c	1.313 $\pm$ 0.125
	p*	0.001*
Grup 3	Grup 3a	1.491 $\pm$ 0.069
	Grup 3b	1.333 $\pm$ 0.092
	Grup 3c	1.206 $\pm$ 0.134
	p*	0.003*

*One-Way ANOVA, Post-Hoc Tukey

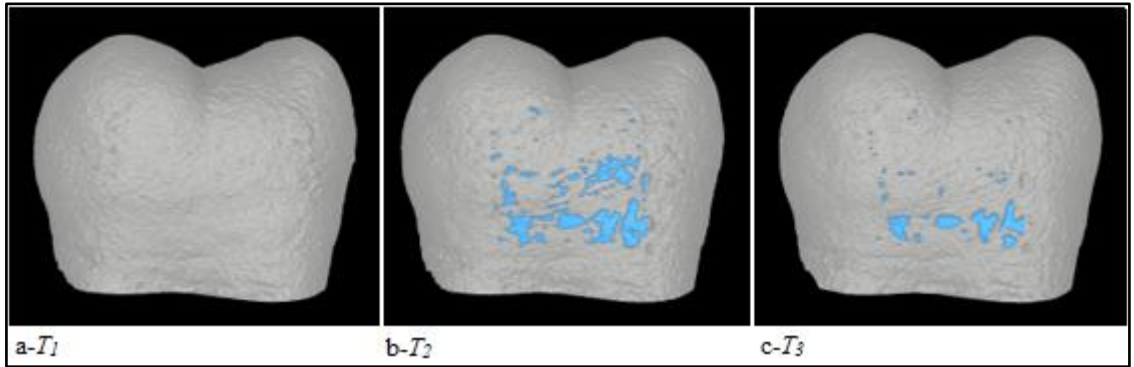
p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Demineralizasyon sağlandıktan sonra T_2 'de lezyon alanının görünümü ve ardından macunlar uygulandıktan sonra T_3 'de lezyon alanının remineralize olmuş CTAn görüntüsü Şekil 4.1'de gösterilmektedir.



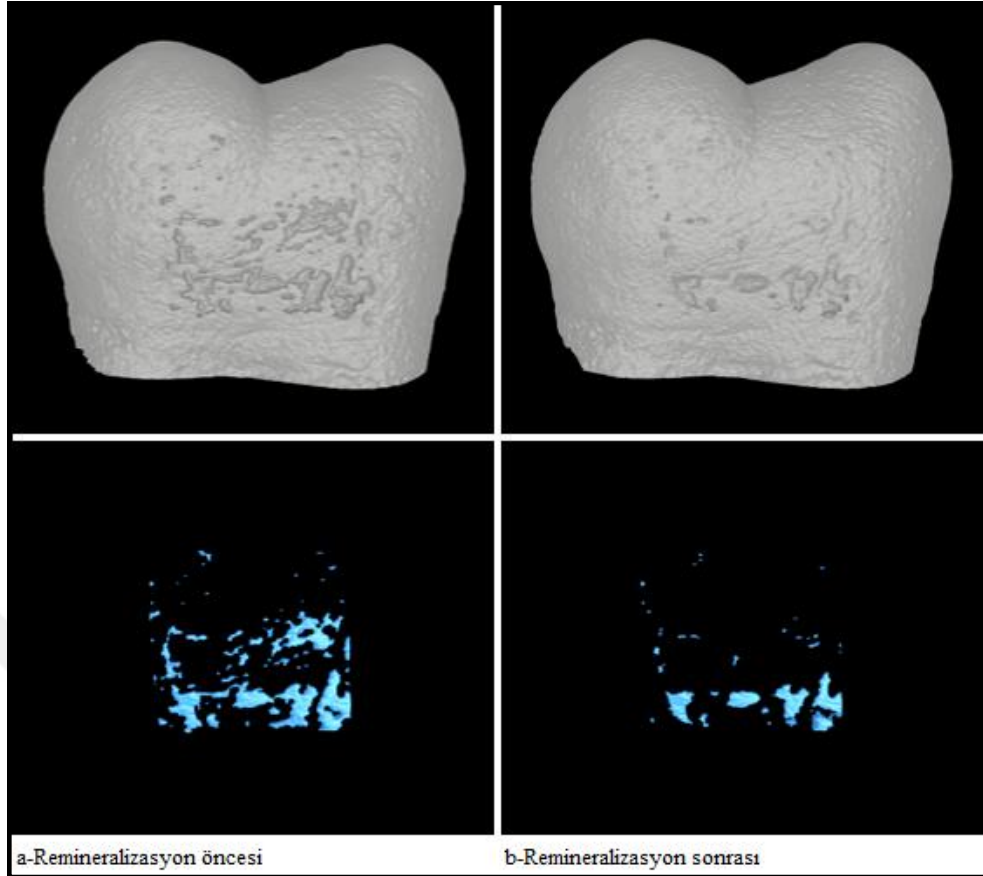
Şekil 4.1. Remineralizasyondan önce (T_2) ve sonra (T_3) lezyonun CTAn programında görünümü

Başlangıçta (T_1), demineralizasyondan sonra (T_2), ve remineralizasyondan sonra (T_3) yapılan taramalarda elde edilen data setleri ile CTvol programı ile elde edilen 3 boyutlu görüntüler Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Lezyon alanı mavi renkte sunulmuştur.



Şekil 4.2. T_1 , T_2 ve T_3 taramalarında 3 boyutlu görüntüleme

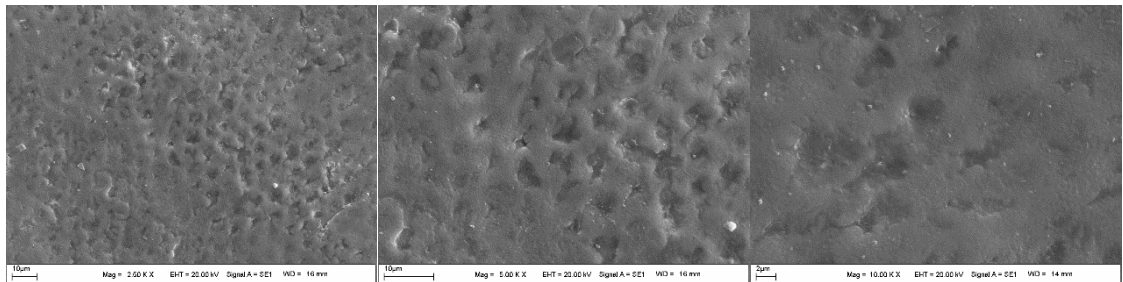
Demineralizasyondan sonra T_2 'de ve ardından macunlar ile remineralizasyondan sonra T_3 'de numunelerin çalışma alanları ve lezyonun CTvol programı ile elde edilen 3D görüntüleri Şekil 4.3'de gösterilmektedir.



Şekil 4.3. Remineralizasyon öncesi ve sonrasında numunelerin ve çalışma alanının 3D olarak görüntülenmesi

4.2. SEM Bulguları

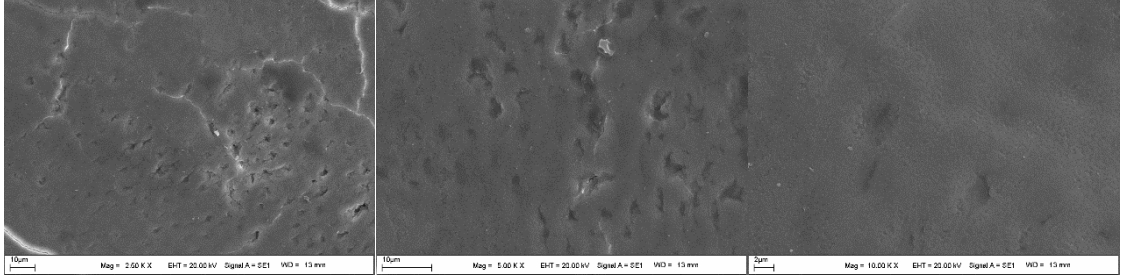
Bu tez çalışmasında demineralizasyon lezyonlarına karşı macunların remineralizasyon etkinliğinin minenin topografik görüntüsü SEM ile taranarak x2500, x5000, x10000 büyütmede incelenmiştir. Her örneğe ait görüntüler Resim 4.4 - 4.16'da sunulmaktadır. Numunelerin SEM ile değerlendirilmesi sonucunda; başlangıçta (T_1) sağlam mine yüzeyinin bütünlüğünün bozulmamış olduğu, mine prizmalarının ise “anahtar deliği” şeklinde dizilen bir yapı gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Sağlam mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüsü

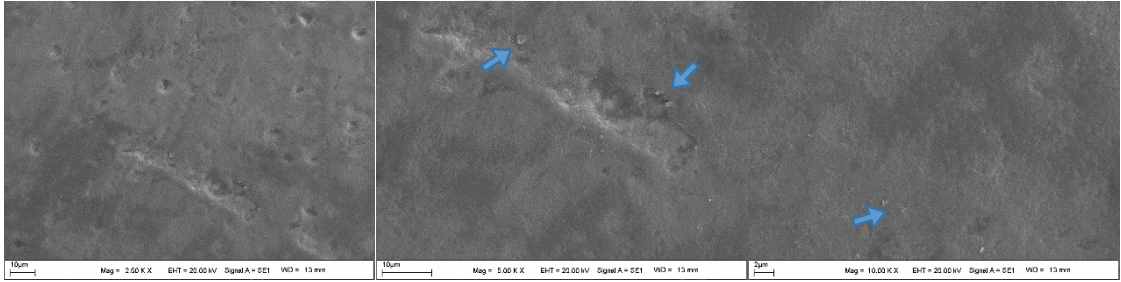
4.2.1. Yapay Başlangıç Çürüğü Görüntüleri

Numunelerde pH siklusu ile yapay başlangıç çürükleri oluşturulduktan sonra (T_2) alınan SEM görüntülerinde anahtar deliği yapısının kaybolduğu daha düz bir yüzey oluştuğu ve mine prizmalarında heterojen düzensizliklerin ortaya çıktığı izlendi. Demineralizasyondan sonra farklı büyüklüklerde çukurcuklar görüldü (Şekil 4.5)



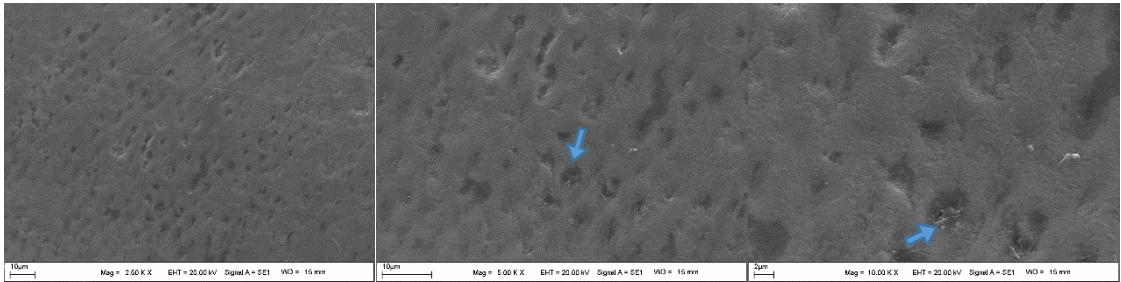
Şekil 4.5. Başlangıç çürüğünde mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 1)

Başlangıç çürüğü lezyonlarının NaF içerikli diş macunu uygulaması sonrası (T_3) SEM görüntülemesinde; oluşan porların tıklandığı ve bölgesel olarak daha düz yüzeyler elde edildiği gözlemlendi (Şekil 4.6).



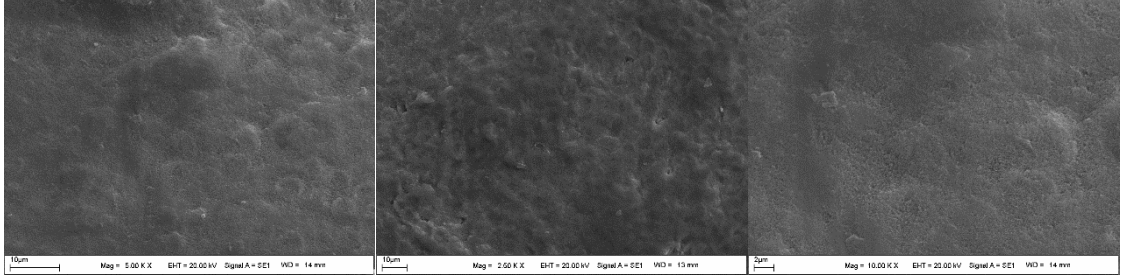
Şekil 4.6. Başlangıç çürüğüne karşı NaF içeren diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 1a)

Başlangıç çürüğü lezyonlarının CPP-ACP içerikli diş macunu uygulaması sonrası (T_3) SEM görüntülemesinde; mine yüzeyi homojen yapıda olmayan globüller şeklinde görüntülendi. Bazı mikroporların yüzeylerinin örtülmediği ve yer yer boşlukların olduğu görüldü (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Başlangıç çürüğüne karşı CPP-ACP içeren diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 1b)

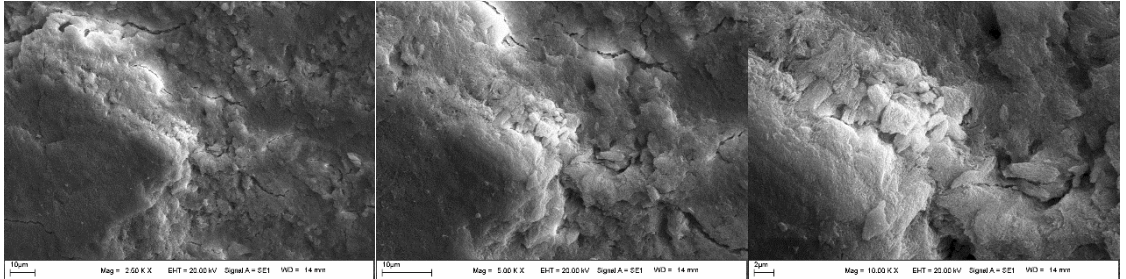
Başlangıç çürüğü lezyonlarının doğal içerikli diş macunu uygulaması sonrası (T_3) SEM görüntülemesinde; mine yüzeylerinin dağınık, bulutsu bir yapı izlediği, anahtar deliği görüntüsünü takip eden dolular olsa da homojen düz bir yüzey sergilemediği gözlemlendi (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Başlangıç çürüğüne karşı doğal içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 1c)

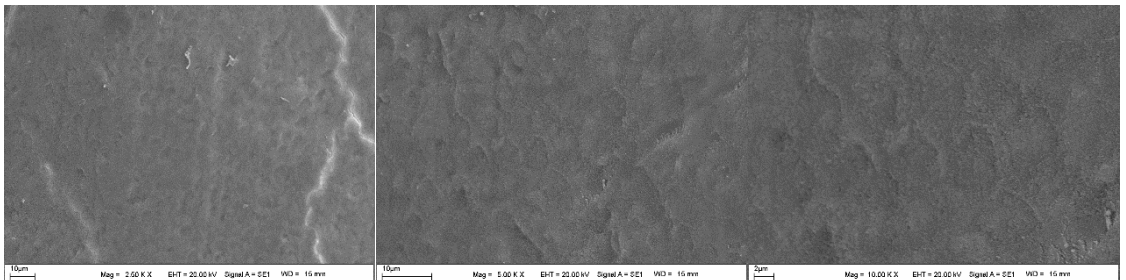
4.2.2. Portakal Suyu ile Oluşturulan Erozyon Görüntüleri

Portakal suyu ile oluşturulan (T_2) erozyon lezyonlarının SEM görüntülemesinde; mine yüzey bütünlüğünün tamamen bozulduğu, belirgin demineralizasyon alanları görülmektedir. Prizma yapısı tamamen yok olmuştur ve heterojen çukurlar izlenmektedir (Şekil 4.9).



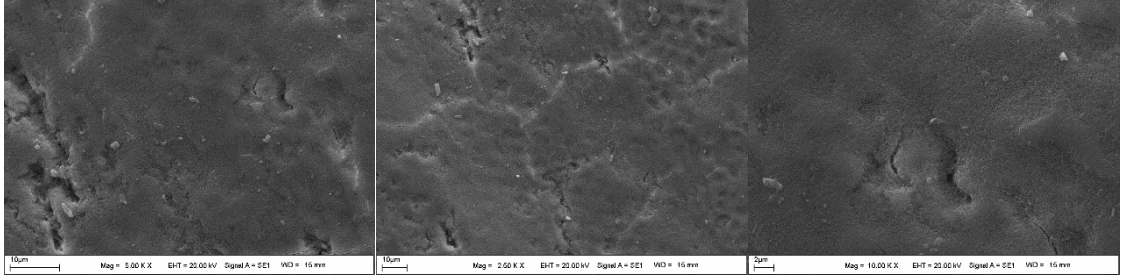
Şekil 4.9. Portakal suyu ile demineralize edilen mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 2)

Portakal suyu ile oluşturulmuş başlangıç erozyon lezyonuna karşı NaF içerikli diş macunu uygulaması sonrası (T_3); mine yüzeylerinde kristal parçacıkların biriktiği, anahtar deliği görüntüsü gibi porların yüzeylerinin kapandığı görüldü (Şekil 4.10).



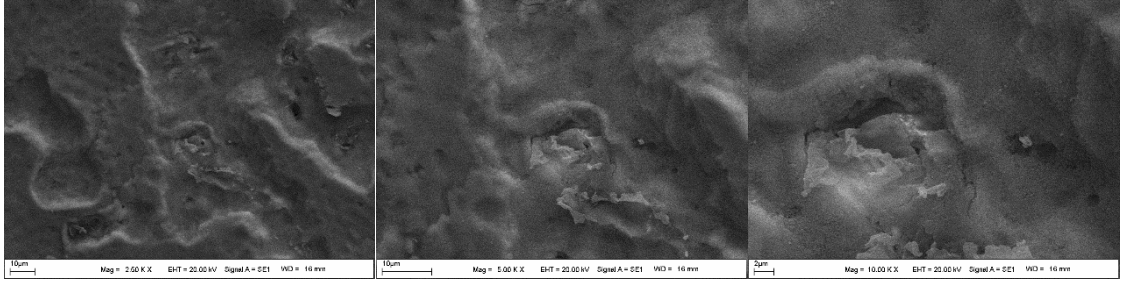
Şekil 4.10. Portakal suyu ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı NaF içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 2a)

Portakal suyu ile oluşturulmuş başlangıç erozyon lezyonuna karşı CPP-ACP içerikli diş macunu uygulaması sonrası (T_3), mine yüzeyleri üzerinde dağınık olarak kalsifiye çökeltiiler oluştuğu gözlemlendi (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Portakal suyu ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı CPP-ACP içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 2b)

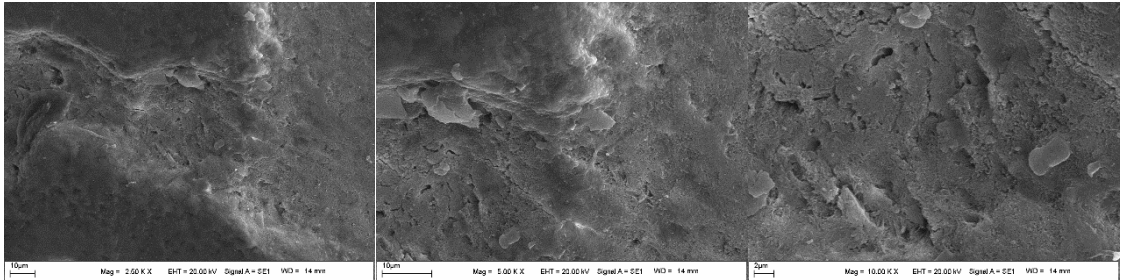
Portakal suyu ile oluşturulmuş başlangıç erozyonunun doğal içerikli diş macunu uygulaması sonrası (T_3); heterojen bir mine yüzeyi ve geniş porların ve çukurcukların tıklandığı görüldü (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Portakal suyu ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı doğal içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 2c)

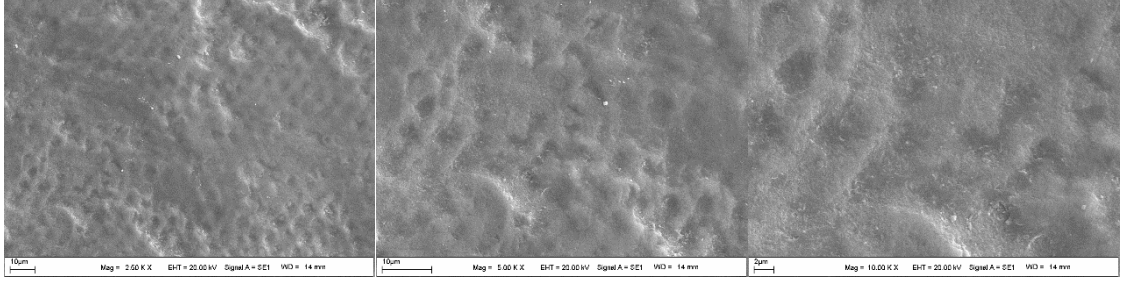
4.2.3. Kola ile Oluşturulan Erozyon Görüntüleri

Kola ile oluşturulan erozyon lezyonlarının (T_2) SEM görüntülemesinde; mine yüzey bütünlüğünün tamamen bozulduğu, belirgin demineralizasyon alanları oluştuğu, prizma yapısının tamamen yok olduğu ve yoğun porözite oluştuğu görüldü (Şekil 4.13).



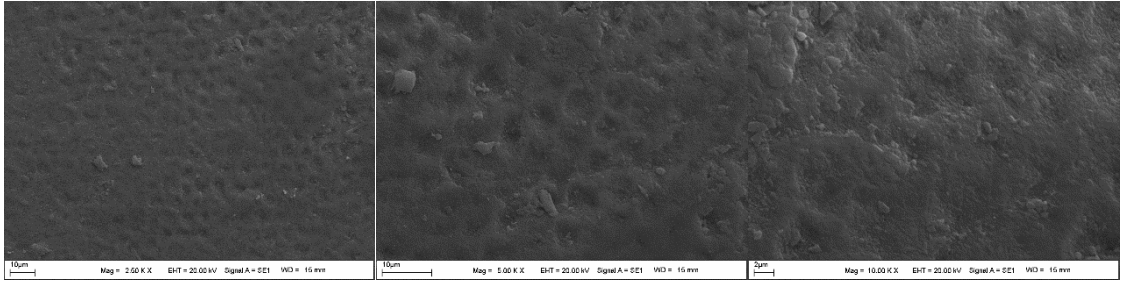
Şekil 4.13. Kola ile demineralize edilen mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 3)

Kola ile oluşturulmuş başlangıç erozyonunun NaF içerikli diş macunu uygulaması sonrası (T_3) mine yüzeylerinin globüller şeklinde örtüldüğü, anahtar deliğine paralel yapılar şeklinde birikimler olduğu görüldü (Şekil 4.14).



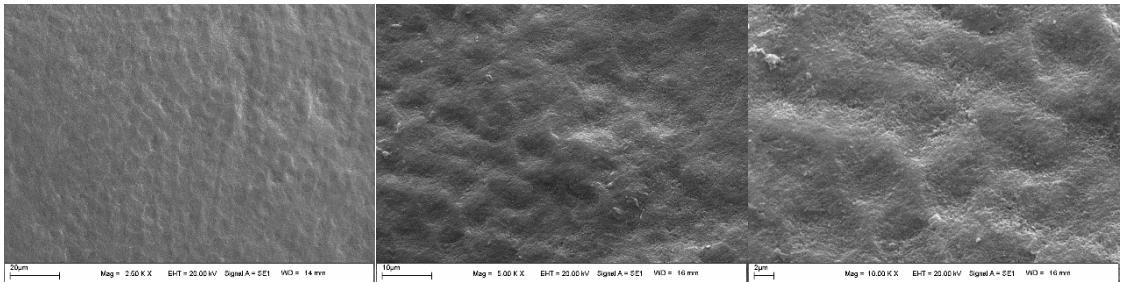
Şekil 4.14. Kola ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı NaF içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 3a)

Kola ile oluşturulmuş başlangıç erozyon lezyonlarının, CPP-ACP diş macunu uygulaması sonrası (T_3) mine yüzeylerinin yeni oluşan irili ufaklı kristaller ile örtüldüğü, bununla birlikte bazı mikroporların yüzeylerinin örtülmediği ve yer yer boşlukların olduğu görüldü (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Kola ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı CPP-ACP içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 3b)

Kola ile oluşturulmuş başlangıç erozyon lezyonlarının doğal diş macunu uygulaması sonrası (T_3) mine yüzeylerinin poröz yapısının değiştiği ve remineralizasyon alanlarının oluştuğu görüldü (Şekil 4.9).



Şekil 4.16. Kola ile oluşturulan başlangıç erozyonuna karşı doğal içerikli diş macunu ile fırçalama sonrası mine yüzeyinin $\times 2500$, $\times 5000$ ve $\times 10000$ büyütmedeki SEM görüntüleri (Grup 3c)

5. TARTIŞMA

Ağız ve diş sağlığı; genel sağlığın, beslenebilmek gibi yaşam fonksiyonlarının, iletişim kurabilmek ve estetik görünüm gibi bireysel ve sosyal yaşam kalitesinin önemli bir parçasıdır. Toplumlarda ağız ve diş sağlığının düzeyini artırmak, tedavi hizmetlerine erişimi kolaylaştırmak, uygulamaları kaliteli şekilde sağlamak hedeflenmektedir. Günümüzde diş hekimliğinin amacı; tanı koyucu ve tedavi edici ikincil (sekonder) ve üçüncül (tersiyer) koruyucu tedavilerin yanı sıra ağız ve diş sağlığını artıran yaşam tarzını desteklemektir. Bu kapsamda diş hastalıklarının nedenlerini ve risk faktörlerini kontrol ederek, başlangıç döneminde önlemeyi amaçlayan birincil (primer) koruyucu yöntemler geliştirilmiştir. Toplumda ağız ve diş sağlığı hastalıklarından en etkili korunma biçimi birincil korunmadır. Oral hijyen eğitimi ve motivasyon, diyet analizi ve öğütler, ebeveynlere ve gebelere ağız ve diş sağlığı eğitimi verilmesi, florlu diş macunları ile dişlerin fırçalanması, hekim tarafından periyodik olarak fissür örtücü ve flor jeli uygulanması, gözetim altında flor gargaraların kullanımı birincil koruma yöntemleri arasında yer alır (201).

Dünyada en pahalı uygulamalar arasında yer alan ağız diş hastalıklarının tedavisi; eğitimin aksaması, vakit ve iş gücü harcanması sebebiyle birçok ekonomik kaybı da beraberinde getirmektedir. Birincil koruyucu uygulamalar ile toplumun genel sağlığının korunması, yetersiz ağız ve diş bakımının önüne geçilerek ağız ve diş hastalıklarının azaltılması, bu hastalıklar dolayısıyla ortaya çıkan ekonomik kaybın azaltılması hedeflenmelidir (202). Her ülkede sosyoekonomik ve kültürel duruma göre farklılık gösteren ağız ve diş sağlığını artırıcı uygulamalar bulunmaktadır. Türkiye’de sağlık hizmetlerinin stratejisi ve değerlendirmesi raporu ile sağlık harcamalarından ağız-diş sağlığına ayrılan miktarın %5 olduğu, bu tutarın da %98’inin tedavi edici hizmetler için uygulanıyor olduğu bildirilmiştir (203). Dolayısıyla ülkemizde de birincil koruyucu uygulamaların ön plana çıkarılması gerekmektedir.

Sağlıklı bir toplumun geleceğinde rol oynayan çocukların büyüme ve gelişiminde, ağız ve diş sağlığı doğrudan etkilidir. Gereken birincil koruyucu uygulamalara erken yaşlarda başlanması ile diş çürüğü ve dental erozyon görülme sıklığının azaltılması, gelecekte sağlıklı yetişkinler ve dolayısıyla sağlıklı bir toplum oluşturacaktır (1).

Çocuklarda diş çürüğünün görülme sıklığı, özellikle sosyoekonomik düzeyi düşük toplumların halen en temel sağlık sorunu iken (204) son yıllarda asitli içeceklerin çocuklar tarafından sık tüketimindeki artış ile paralel olarak görülme sıklığı artan dental erozyon ise diğer bir ağız diş sağlığı sorunudur (205). Türkiye’de 6 yaş grubu çocuklarda çürük, dolgulu ve kayıp diş indeks (decayed, missing, filled, teeth = DMFT) değeri 2.73’tür. 6-7 yaş grubu çocuklarda %19, 11-12 yaş grubu çocuklarda ise %77 oranında diş çürüğü tespit edilmiştir (2). Bunun yanı sıra Türkiye’de son yıllarda yapılan çalışmalarda 7-14 yaş grubu çocuklarda dental erozyon görülme sıklığı %21.8 bulunurken (3), 11 yaş grubu çocuklarda portakal suyu tüketenlerin %32'sinde, gazlı içecek tüketenlerin %40'ında dental erozyon tespit edilmiştir (4). Birincil koruyucu uygulamaların çocuklarda gözlenen ağız ve diş hastalıkları prevalansını düşürdüğü bildirilmiştir (206). Sosyoekonomik düzeyleri genel olarak yüksek olan bireylerin düzenli diş hekimi kontrolüne gittiği, sosyoekonomik düzeyi düşük olan bireylerin ise yalnızca problem varlığında diş hekimine gittikleri görülmüştür (204). Bu nedenle florlu diş macunu ile fırçalamak gibi maliyeti düşük, erişimi kolay ve evde dahi uygulanabilen birincil koruyucu tedaviler önem kazanmıştır.

Koruyucu diş hekimliği alanındaki güncel bilimsel araştırmalar; demineralizasyonun önlenmesi, invaziv olmayan yöntemlerle remineralizasyonun sağlanması, teşhis yöntemleri konularında yapılmaktadır (14, 207). Yaygın olarak flor kullanılmasına rağmen, başlangıç çürük lezyonlarının ve erozyonun kontrolü için flora alternatif ajanlar içeren diş macunlarının remineralizasyon etkinliğini değerlendirmek amacıyla mikro-BT, SEM, profilometrik analiz, vickers sertlik analizi, ağırlık kaybı gibi yöntemler kullanan çalışmalar bulunmaktadır (16, 17, 23, 24, 26). Hem başlangıç çürük lezyonlarına hem de erozyon lezyonlarına karşı aynı macunların remineralizasyon etkinliğini mikro-BT ve SEM yöntemleri ile bir arada karşılaştıran bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada; asitli içeceklerin oluşturduğu erozyon lezyonlarına ve yapay olarak oluşturulan başlangıç çürük lezyonlarına karşı, bireysel uygulamalar ile herkesin ulaşabildiği NaF, CPP-ACP ve doğal (propolis/misvak/çay ağacı yağı) içerikli çocuk diş macunlarının remineralizasyon etkisi mikro-BT ve SEM ile incelenmiştir. Kullanılan ajanlardan hangisinin, çürükte ve erozyonda daha etkili remineralizasyon sağladığı belirlenerek referans sağlamak amaçlanmıştır.

5.1. Çalışma Tasarımının Tartışılması

Literatürde, hem erozyon hem de çürük için demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmaları in-vivo (182), in-situ (14, 91) ve in-vitro (17, 42) koşullarda yapılmaktadır. Farklı etiyolojiler sonucunda oluşan çürük ve erozyon lezyonlarına karşı, remineralizasyon ajanlarının etkinliği hakkında yapılan in-vivo ve in-situ çalışmalarda plak varlığı, tükürüğün tamponlama kapasitesi, doğal remineralizasyon mekanizmasının etkisi ile gerçeğe en yakın bulgular elde edilebilmektedir. Buna karşın hasta kooperasyonu gerektirmesi, tek bir faktörün incelenememesi, uzun süreler gerektiren çalışmalar olması ise başarısızlığa zemin hazırlayan etkenlerdir (59, 78). Ayrıca in-vivo ve in-situ çalışmalarda, sonuçları etkileyebilecek bireysel ve davranışsal değişikliklerin belirlenmesi ve kontrol altına alınması zordur. İn-vitro çalışmalarda bulunan, ağız içi koşulların taklit edilebilmesi, sonucu etkileyebilecek faktörlerin elimine edilebilmesi, kullanılan testlerin kolay, hızlı ve düşük maliyetli uygulanabilmesi gibi avantajlar (60, 77) sebebiyle sunulan bu çalışma in-vitro şartlarda tasarlanmıştır.

İn-vitro demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmaları insan dişleri (82, 142, 208) veya sığır dişleri (17, 26, 209) kullanılarak yapılmaktadır. İnsan dişlerinin farklı bireylerden toplanması sonucu genetik çeşitlilik göstermesi, mine yapısı, beslenme ve flor alımındaki farklılıklar, geçmişteki çürük atakları, dişlerin küçük boyutlu ve eğimli yüzeye sahip olması gibi dezavantajları sebebiyle alternatif bir deneysel doku arayışına girilmiştir (210). Daha kolay bulunabilmeleri ve büyük yapıya sahip olmaları dolayısıyla tercih edilse de sığır dişlerinin yapısının daha yumuşak ve daha poröz olduğu, minerallerin çok hızlı difüzyona uğrayıp devamlı deney periyotlarında mine yapısının bozulabildiği bildirilmiştir (211). Thaveesengpanich (212) ve Itthangarun (213) tarafından yapılan çalışmalarda süt dişleri kullanılmıştır. Süt dişinin daimi dişe göre minesinin ince olması, mineral içeriğinin daha az ve organik içeriğinin daha fazla olması, çürüksüz elde etmenin zorluğu ve küçük olması gibi dezavantajları vardır. Gömülü 3. büyük azı dişlerinin çekimi diğer dişlere oranla daha fazla gerçekleştiği, ağız ortamına sürmediğinden kariyojenik ve asidik etkenlerden zarar görmediği ve diğer faktörler elimine edilebildiği için daha çok tercih edilmektedir (214). Bu sebeplerle sunulan bu çalışmada deney grubu farklılıklarını ortadan kaldırabilmek için 20-25 yaş aralığındaki hastalardan henüz ağız içine sürmemiş olan gömülü 3. büyük azı dişleri seçilmiştir. Beyaz nokta lezyonu, hipoplazi ve mine defekti olmayanlar çalışmaya dâhil edilmiştir.

Çekilmiş dişler üzerinde farklı ajanların yapay başlangıç çürüğüne ve erozyona karşı koruyucu etkilerinin incelendiği in-vitro çalışmalarda deney gruplarının örnek sayıları 5 ile 10 arasında değişmektedir (17, 42). Çalışmamızı planlama aşamasında örneklem hacmini belirleyebilmek için ‘Güç Analizi’ uygulanarak ve %80 duyarlılık, %5 anlamlılık için en az 4 numunenin çalışmaya dahil edilmesi gerektiği bulunmuştur. Çalışmada kullanılacak örnek sayısı her grupta 5 olacak şekilde belirlenmiştir.

Daha önce yapılmış demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında; araştırma başlayıncaya kadar geçen süre zarfında, çekilmiş dişlerin dehidratasyonunu engellemek için çeşitli solüsyonlar içinde tutulması önerilmektedir. Saklama solüsyonlarının çalışma sonucunu etkilememesi önemlidir. Formaldehit, sodyum hipoklorit, kloramin T, gluteraldehit, ve timol gibi birçok antibakteriyel madde distile su ve salin solüsyona eklenmektedir (215). Kullanılan kimyasal maddeler diş dokusu üzerinde değişiklik yaratabilmektedir. Moura ve ark’nın (216) pH siklusuna tabi tutulan minenin demineralizasyonu üzerine depolama solüsyonunun etkisini inceledikleri bir çalışma sonucunda; formolün minenin çürüğe karşı direnci arttırabildiği, timolün ise herhangi bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Maranhao ve ark. (217) distile suyun en popüler saklama solüsyonu olmasına rağmen minenin alt tabakalarında değişiklik yaptığını, yapay tükürük ve salinin mine yüzeyinde Ca^{2+} ve tuz çöktürmesi oluşturduğunu, timolün ise mine yüzeyinde parlak, cilalı bir yüzey görünümü verse de bağlanmada herhangi bir farklılık yaratmadığını gözlemlemiştir. Shellis ve ark. (79) yapay erozyon modellerini standardize etmek için yaptıkları çalışmada; %0.1’lik timol içeren salin solüsyonu kullanmışlardır. Timolün lezyonunun histolojik yapısına zarar vermeden antimikrobiyal etki gösterdiğini, dişlerin mikrosertliğinde herhangi bir değişikliğe yol açmadığını bildirmişlerdir. Bu bilgiler ışığında çekilmiş olan dişler %0.1’lik timol içeren distile su solüsyonu hazırlanarak çalışma süresine kadar, +4°C’de karanlık ortamda bekletilmiştir.

Hem yapay başlangıç çürüğü hem de erozyon çalışmalarında dişlerin yüzeyindeki hipermineralize yapıyı kaldırmak ve dişlerde uygun çalışma standardını yakalamak için diskler ve zımparalar ile yüzey aşındırma, polisaj veya cilalama işlemleri yapılmıştır (20, 216, 218). Mine yüzeyleri Moura ve ark. (216) tarafından yapılan çalışmada olduğu gibi 320, 600, 1200 grid’lik alüminyum oksit disklerle zımparalanabileceği gibi, Poggio ve ark. (82) tarafından yapılan çalışmada olduğu gibi 600-1200 grade’lik silikon karbid kağıtlarla da zımparalanabilir.

Daha çok sığır dişlerinin kullanıldığı çalışmalarda uygulanan aşındırma işlemleri, insan dişlerinin kullanıldığı bu çalışmada minenin doğal halini yansıtması açısından uygulanmamıştır (65, 213). Ayrıca dişlerin gömülü olması dolayısıyla oral hijyen yetersizliğinden kaynaklı kalkulus vs. olmaması da aşındırma işlemini tercih etmeme nedenlerimiz arasındadır. Başlangıçta el aletleriyle temizlenerek yüzeyde bulunan debris ve artıklar uzaklaştırılmış ardından polisaj fırçaları ile fırçalanmıştır. 3 mm x 3 mm pencere şeklinde bir alan açıkta kalacak şekilde geriye kalan yüzeylere tırnak cilası uygulanarak deney alanı hazır hale getirilmiştir.

Ağız ortamında bulunan karyojenik bakterilerin karbonhidratları fermantasyonu sonucunda oluşan organik asitler, pH değerini ağız içi kritik değer olan 5.5'in altına düşürerek mine dokusunda hidroksiapatit kristallerini oluşturan Ca^{2+} ve PO_4^{3-} 'ı çözmekte ve mineral kaybına (demineralizasyon) neden olmaktadır. Azalan pH değerinin tekrar yükselmesi ile çözünen Ca^{2+} , PO_4^{3-} ve diğer iyonlar mine yüzeyine tekrar çökerek minenin mineral artışını (remineralizasyon) sağlamaktadır. Tükürük, plak gibi lokal çevre ile mine yüzeyi arasındaki iyon değişimi, bu döngüyü dinamik tutar. Bu denge demineralizasyon lehine kayarsa mine yüzeyinde kaviteasyon oluşur. Kaviteasyon oluşmadan mine lezyonlarının non-invaziv yöntemlerle iyileşebildiğini ve dengenin remineralizasyon lehine çevrilebildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (40-43).

Ağız içinde gerçekleşen demineralizasyon ve remineralizasyon dinamiğini in-vitro çalışmalarda taklit edebilmek için üç farklı yapay çürük modeli bulunmaktadır. Bunlardan ilki anti-mikrobiyal ajanların çürük süreci üzerine etkilerini değerlendirmek için bakteri kültürlerinin kullanıldığı modellerdir (60). Diğer asit tamponlarının kullanıldığı kimyasal modellerdir (61). Sonuncusu ise çürük önleyici ajanların demineralizasyon ve remineralizasyon üzerine etkilerini incelemek amacıyla pH sikluslarının kullanıldığı kimyasal modellerdir (62). Asit tamponlarının kullanıldığı kimyasal modellerde, numuneler pH'sı 4.4-5.0 arasında değişen jel (laktat/asetat) ya da asit tampon solüsyonlarında 16 saat ile 50 gün arasında devamlı bekletilerek oluşturulmuştur. Bu yöntemin detaylarının seçimi istenilen lezyon ile alakalıdır (211). Devamlı bir asidik ortama maruz bırakma, hem ağız içi demineralizasyon-remineralizasyon döngüsünü yansıtmayacağı hem de yüzeyden direkt madde kaybına ve aşınmaya yol açacağı için tercih edilmemiştir.

Karyojenik bakterilerin oluşturduğu asidik ortamı ve tükürük tamponlama fonksiyonunu yani gün içerisinde meydana gelen pH dinamiğini yansıtmak önemli olduğu için birçok pH siklus modeli geliştirilmiştir (57, 62-64, 85, 141, 212, 213, 219). Bu çalışmada da pH siklusu ile çürük oluşturma yöntemi seçilmiştir. Başlangıç çürük lezyonları oluşturulurken; Vieira ve ark.'nın (63) yaptığı çalışmadaki gibi; numuneler 7 gün boyunca oda sıcaklığında (25°C), asidik ortamı taklit edebilmek için pH'sı 4.4 olan demineralizasyon solüsyonunda 6 saat; tükürüğün tamponlama fonksiyonunu taklit edebilmek için pH'sı 7.0 olan remineralizasyon solüsyonunda 18 saat bekletilmiştir. Ten Cate ve ark. (62) tarafından oluşturulan, 2.2 mM kalsiyum klorür (CaCl_2), 2.2 mM monosodyum fosfat (NaH_2PO_4), 0.05 M asetik asit (CH_3COOH), 1 M potasyum hidroksit (KOH) içeren demineralizasyon solüsyonu ve 1.5 mM CaCl_2 , 0.9 mM NaH_2PO_4 , 0.15 M KCl, 1 M KOH içeren remineralizasyon solüsyonu kullanılmıştır.

Başlangıç erozyon lezyonlarının oluşturulmasında 2010 yılında Zürih'te Erozyon Araştırmaları Metodoloji Çalıştayı'nda oluşturulan erozyon raporu temel alınarak in-vitro erozyon modeli kullanılmıştır. Literatürde kullanılan asidik içeceğin türü, hacmi, sıcaklığı, pH'sı, tamponlama özellikleri, maruz kalma süresi, viskozitesi, ajanın ne sıklıkla değiştirildiği gibi birçok farklılık bulunmaktadır. Erozyon ataklarının süresi konusunda mutlak fikir birliği yoktur, ancak mide veya diyet kaynaklarından gelen erozyon atakları in-vivo ortamda birkaç dakikadan fazla sürmemektedir. Asit ataklara karşı insan daimi ya da süt dişi veya hayvan dişi sert dokularının duyarlılığı farklı olduğundan, kullanılan numune tipine göre sürenin ayarlanması gerekmektedir (79). Bu çalışmada; Poggio ve ark. (82) tarafından iki farklı diş macununun kola ile oluşturulan mine erozyonunu onarmak için değerlendirildiği çalışmada numunelerin günde 4 kez 2 dk boyunca asidik içeceğe maruz bırakılması örnek alınmıştır.

Sıcaklık asidik içeceklerin eroziv potansiyelini etkilemektedir. İçeceklerin buzdolabı sıcaklığında (4°C) tüketildiğinde eroziv etkisi azalmaktayken, oda sıcaklığı veya vücut sıcaklığında tüketildiğinde etkisi artmaktadır. Watanabe ve ark. (220) 37°C sıcaklıktaki karbonatlı bir içeceğin oluşturduğu erozyon sonucunda mine yüzeyinden Ca^{2+} salımını ölçerken, Agrawal ve ark. (221) 25°C sıcaklıktaki karbonatlı içeceğin süt ve daimi diş minesinde oluşturduğu erozyona karşı remineralizasyon ajanlarının etkinliklerini değerlendirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada da 25°C'de oda sıcaklığında deney gerçekleştirilmiş ve günlük olarak içecekler tazelenmiştir.

Erozyon çalışmalarında alkolsüz asitli meşrubatlar çeşitli şekillerde kullanılmaktadır. Portakal suyu (sitrik asit) kullanan araştırmacılar (26) olduğu gibi kola (fosforik asit) kullanan araştırmacılar (15, 83) da vardır. Yiyecek ve içeceklerin asit içeriğini belirlemenin pH ve TA değeri olmak üzere iki yolu vardır. pH, hidrojen (H^+) iyon konsantrasyonunu göstermektedir. 0 ile 14 arasında bir değeri alır. Yedinin altındaki değeri asit içeriğini veya ortamını gösterir. Titre edilebilirlik ise asidi nötrale etmek için gerekli alkali hacimdir. Titrasyonun fazla olması tamponlama kapasitesinin de o kadar yüksek olduğunu gösterir. Bunun sonucunda da diş minesinin erozyon potansiyeli artar. Zayıf asitlerin yüksek tamponlama kapasitesine sahip olması belirli bir pH'da tükürüğün nötrale edici etkisine karşı dirençli olacakları anlamına gelmektedir. Düşük pH değerine ve yüksek TA değerine sahip kuvvetli asitler, dişlerde daha yüksek oranda hidroksiapatitin demineralizasyonuna neden olacaktır. TA seviyesi, belirli bir içeceğin potansiyel asiditesini ölçmek için daha gerçekçi ve doğru bir yoldur. Erozyon yiyecek ve içeceklerin mineral içeriğinden ve kalsiyum-şelasyon özelliğinden etkilenmektedir.

Barac ve ark. (200) meşrubatların mine yüzeyine maruziyeti sonrası oluşan eroziv etkiyi araştırdıkları çalışmalarında, en düşük TA'ya sahip olmasına rağmen, kolanın maruziyetinden hemen sonra daha yüksek bir aşındırma potansiyeline sahip olduğunu ve zamanla azaldığını kaydetmişlerdir. Profilometrik parametre portakal suyu daha uzun maruziyetlerde daha fazla mine erozyonuna neden olmuştur. Ek olarak kolalı içeceklerde sadece fosforik asit bulunmasına rağmen, portakal suyunun sitrik asidin yanı sıra, tampon bileşenleri olarak kabul edilebilecek askorbik, malik, tartarik ve oksalik asit gibi birçok farklı zayıf organik asit içerdiği bilinmektedir. Portakal suyunun daha yüksek başlangıç pH'sının olması, kolaya kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük pürüzlülük yaratmasının sebebidir. Jensdottir ve ark. (222) yaptıkları çalışmada 3 dk boyunca her 15 saniyede kola ve portakal suyu litresi başına düşen apatit miktarını hesaplamışlardır. Kolalı içeceklerde aşındırıcı potansiyel, meyve sularına kıyasla on kat daha yüksektir. Bununla birlikte, tükürük proteinleri, kolalı içeceklerin aşındırıcı potansiyelini %50'ye kadar azaltmıştır. Bu çalışmada çocuklar tarafından en sık tüketilen içecek olduğu için pH ve TA değerleri Tablo 3.1'de sunulan portakal suyu ($pH=3.34$, $TA=5.01 \cdot 10^{-4}$) ve kola ($pH=2.24$, $TA=5.75 \cdot 10^{-3}$) kullanılmıştır.

Çalışmanın remineralizasyon aşamasında Hamba ve ark.'nın (17) çalışması kriter alınmıştır. Çocukların ana ve ara öğünlerde beslenme ile beraber karyojenik bakterilerin ürettikleri asitlere maruziyetini ve ağız içi kritik pH'nın 5.5'in altına düştüğü durumları yansıtmak için numuneler, günde 1 saat demineralizasyon solüsyonunda (pH=4.4), kalan 23 saat ise tükürük tamponlamasını taklit etmek amacıyla remineralizasyon solüsyonunda (pH=7.0) bekletilmiştir. Her bir örnek yumuşak uçlu bir dental fırça eşliğinde (Voco Comp.) gruplara rastgele atanan diş macunları ile günde 2 kez 2 dk boyunca fırçalanarak remineralizasyon protokolü uygulanmıştır.

Birincil koruma uygulamalarında kullanılan yöntem ve ürünün etkinliğinin güçlü olması kadar, bireysel uygulama ile herkese ulaşabilen, uygulaması kolay ve maliyetinin düşük olması da gerekmektedir. Bu aşamada remineralizasyon ajanlarını içeren diş macunları ön plana çıkmaktadır. Demineralizasyon lezyonlarının remineralizasyonunda en etkili ajan florudur (90). Topikal olarak uygulanan flor, plak ve tükürük içerisinde depolanır, gerektiği zaman kristal yapısına girer, kendisi ile benzer yarıçaplı hidroksil iyonu ile yer değiştirerek asitler karşısında daha az çözünen florapatit kristalini ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) oluşturur (36). Bununla birlikte, bir florapatit kristalinin oluşması için ortamda 2 flor, 10 kalsiyum ve 6 fosfat iyonuna ihtiyaç vardır. Bu nedenle, Ca^{2+} ve PO_4^{3-} iyonunun ortamdaki yokluğu remineralizasyonun başlaması için kısıtlayıcı faktör olabilmektedir (14). Songsiripraduboon ve ark.'nın (223) florür içeren ürünlerin farklı kullanımlarını (fırçalama/ fırçalama+gargara) inceledikleri çalışmalarında, en etkili ve kabul gören flor uygulama yöntemi günde 2 kez diş fırçalama ve 2 kez gargara kullanımı olarak bulunmuştur. Bu yüzden sunulan bu çalışmada, 1450 ppm florür içeren Sensodyne Promine çocuk diş macununu fırça ile uygulama, remineralizasyon yöntemlerinden biri olarak seçilmiştir.

Kronik şekilde düşük dozda flora maruz kalındığında solunum, gastrointestinal ve genitoüriner sistem rahatsızlıkları gibi sistemik rahatsızlıkların oluştuğu bildirilmiştir (86). Toksik etkisinin olması kullanım alanlarını ve miktarını kısıtlamaktadır. Diş çürüğünden korunmada en etkili ajan olarak hala flor ön plandadır. Remineralizasyon etkinliği uzun zaman önce kanıtlanan floridlerin yerine, bebekler, özel gereksinimli bireyler gibi tükürme kabiliyeti olmayan bireyler için yutulduğunda dahi toksik etki oluşturmayacak ve aynı zamanda remineralizasyonu destekleyecek bir materyal arayışı doğmuştur (86, 113, 116, 139).

Diş hekimliğinde kullanılan geleneksel ürünlerin yanı sıra CPP-ACP'nin ön sırayı aldığı yeni remineralizasyon ajanları dikkat çekmeye başlamıştır. Reynolds ve ark. (141) 1997 yılında yaptıkları in-vitro çalışmada, başlangıç mine lezyonlarına 10 günlük CPP-ACP uygulaması ile %72.3 remineralizasyon sağlandığını bildirmişlerdir. Kargül ve ark. (224) başlangıç çürük lezyonlarına karşı CPP-ACP ve NaF etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmalarında yüzey mikro sertliğini artırmada aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını ve her iki ajanda da remineralizasyon sağladığını belirtmiştir. Hamba ve ark. (16) CPP-ACP ve farklı birkaç remineralizasyon ajanının demineralizasyona karşı etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında; ajanlar uyguladıktan sonra, mine yüzeyindeki madde kaybını ve derinlik değişimlerini mikro-BT ile incelemiş ve CPP-ACP'nin remineralizasyonda etkili bir ajan olduğunu bildirmişlerdir. Somani ve ark. (225) CPP-ACP ve CPP-ACPF içeren diş macunlarının erozyona karşı remineralizasyon etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmalarında CPP-ACPF içeren macunun asidik içeceklere karşı erozyonu önlemede çok daha etkin olduğunu kaydetmişlerdir. F ve CPP-ACP'nin sinerjistik etkisinden bahsedilmiştir. Poggio ve ark. (226) ve Srinivasan ve ark. (148) yaptıkları çalışmalarında CPP-ACP içeren GC Tooth Mousse'u kullanmışlardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda hem başlangıç çürüğü hem de erozyon lezyonlarına karşı CPP-ACP'nin remineralizasyon etkisi göz önünde bulundurularak, bu çalışmada da CPP-ACP içeren GC Tooth Mousse diş macunu, üretici talimatları ile günde 2 kez 2 dk süre ile uygulanmıştır.

Son yıllarda çürük önlemede etkili doğal ürün arayışına gidilmiş ve bu amaçla teobramin, kitosan, galla chiensis, propolis gibi ajanların diş macunlarında kullanımı popüler hale gelmiştir (21, 25, 116). Bu çalışmada da propolis, aloe vera, çayağacı yağı bulunduran doğal içerikli Agarta diş macunu, üretici firma önerisine göre günde 2 kez 2 dk boyunca uygulanmıştır. Propolis ile ilgili glukozil transferaz enzimini inhibe ederek iyi bir karyostatik ajan olduğu (123), plak inhibisyonu ve antienflamatuar etki gösterdiği (124) gibi birçok çalışmaya rastlanmıştır. Ancak propolisin remineralize edici etkisine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Giamalia ve ark. (125) tarafından yapılan, propolis özütünün insan diş minesinin mikrosertliğine etkisinin araştırıldığı çalışmada; minenin vickers sertlik değeri çözeltideki propolis yüzdesi ile sabit bir artış göstermiştir. Wassel ve ark. (126) tarafından yapılan çalışmada misvak, propolis ve flor verniklerin, demineralizasyonu engelleme konusundaki yetenekleri karşılaştırılırken, propolisin flora karşı minimal bir demineralizasyon yeteneği gösterdiği bulunmuştur.

Amalina ve ark. (19) propolis özü ile birlikte CPP-ACP kompleksinin mineyi remineralize etme yeteneğinin yanı sıra; propolisin tek başına da remineralize etme potansiyeline sahip olabileceğini, antikaryojenik olarak umut verici olabileceğini belirtmişlerdir. Soekanto ve ark. (127) tarafından yapılan, CPP-ACP ve propolis kombinasyonundan oluşan jelin diş çürüklerini önleyip, remineralizasyonu destekleyebileceğini öngören çalışma; %2'lik propolisin demineralizasyonun inhibisyonu için en iyi bileşim olduğunu gösterdi. CPP-ACP ve propolisten oluşan diş jelinin S. mutans'ı inhibe ettiği ve remineralizasyonu desteklediği, diş çürüklerini önlemek için alternatif olarak kullanılabileceği belirtildi. Erozyon açısından bakıldığında, Aprillia ve ark. (128) en sık tüketilen karbonatlı alkolsüz içeceklerin yarattığı demineralizasyona karşı, farklı ajanların remineralizasyon etkinliklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında; propolis florür ve sodyum florürün, gazlı içeceklerin minedeki demineralizasyonunu önlemede aynı etkinliğe sahip olduğunu belirttiler.

Literatürde aloe veranın anti-inflamatuar, antibakteriyel, antiseptik ve bağışıklık artırıcı, plak oluşumu ve bakteri üremesini engelleyici etkilerinden, diş eti iltihabı ve oral enfeksiyonların tedavisinde kullanımından ve gargaralara katılmasından sıklıkla bahsedilmiştir (129, 130). Ancak propoliste olduğu gibi remineralizasyon etkinliğini gösteren sınırlı sayıda çalışma vardır. Al Haddad ve ark. (24) tarafından yapılan, diş macunlarının demineralize dişlere lokal olarak uygulanmasının in-vitro etkilerini değerlendiren çalışmada; aloe vera ve florür içeren jelin, 1450 ppm florürlü diş macunununkine eşit bir remineralizasyon kapasitesi gösterdiği, florür içermeyen aloe veralı diş macununun daha düşük bir remineralizasyon etkinliği gösterdiği bulunmuştur. Silva ve ark. (227) tarafından yapılan, florürlü diş macunu ve aloe vera diş jeli kullanarak diş fırçalamanın, yapay beyaz nokta lezyonları üzerindeki etkilerini sertlik analizi ile değerlendiren çalışmada, demineralizasyon ajanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülme de fırçalama döngüleri arasında görülmektedir. Ranjana ve ark. (228) tarafından yapılan, demineralize süt dişlerinde florür içerikli olmayan ve bitkisel içerikli pediatrik diş macunlarının remineralize edici etkisini polarize ışık mikrokobu ile değerlendiren çalışmada, florür içerikli diş macunu demineralize lezyonun remineralize edilmesinde önemli sonuçlar gösterirken, bitkisel içerikli diş macunu demineralize lezyonun remineralizasyonunda yetersiz kalmıştır.

Günümüzde geliştirilen ileri teknolojik yöntemler, lezyonların subklinik aşamalarda demineralizasyonun tespit edilmesini ve minenin remineralizasyonunu sağlayan ajanların etkinliklerinin karşılaştırılmasını sağlamaktadır. Mikroradyografi, polarize ışık mikroskopisi, iyot geçirgenliği testi, mikrosertlik ölçümü, lazer floresans, konfokal lazer tarayıcı mikroskopisi, mikro bilgisayarlı tomografi, elektron mikroskopları (SEM, TEM) gibi çeşitli tekniklerden yararlanılmaktadır (14, 146, 154). Dental erozyon araştırmalarında ise, kantitatif yöntemler olan mikrosertlik ölçümleri, yüzey profilometrisi, mikroradyografi ve kimyasal analizlerin yanı sıra kalitatif bir yöntem olan SEM yaygın olarak kullanılmaktadır (155).

5.2. Mikro-BT Bulgularının Tartışılması

Mikro-BT; demineralizasyon ve remineralizasyon amacıyla günümüze kadar kullanılan yöntemlere göre bazı avantajlara sahiptir. Tarama için örnek hazırlığı gerektirmemesi, numunelerin zarar görmeden tekrar taranabilmesi, elde edilen görüntülerin değerlendirme için istenen hassasiyette olması, 3D görüntülerin elde edilip analizlerinin yapılması bu sistemin avantajlarından (193, 223). Ayrıca kesit kalınlıkları sadece x-ray ışın büyüklüğüne bağlı olduğundan kesit alma makinelerine göre çok daha incedir (25). Mikro-BT'nin dezavantajları ise her bir örneğin üç boyutlu modelinin oluşturulması için uzun bir zamana ihtiyaç duyulması ve maliyetli bir işlem olmasıdır (194, 195). Loe ve ark. (208) tarafından 2010 yılında mikroradyografi ve mikro-BT ölçüm kalitesini değerlendiren bir çalışmada mikro-BT'nin daha doğru sonuçlar verdiği bulunmuştur. Mineral yoğunluğu ölçümünde yanılma payı 5-30 µm çözünürlüğünde belirlenebilmektedir (229). Son yıllarda mikro-BT sistemleri kemiklerin ve dişlerin mineral yoğunluklarını ölçmede güvenilir bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (193). Bu bilgiler ışığında bu çalışmada mineral yoğunluğu, hacim, yüzey alanı ve derinlik analizleri için mikro-BT kullanılmıştır.

Cheng ve ten Cate (21) tarafından Galla Chinensis isimli bitkisel ürününün mine remineralizasyonuna olan etkisi mikro-BT sistemi ile araştırılmış ve sistemin en büyük dezavantajının tarama, yapılandırma ve analiz için çok fazla zamana ihtiyaç olması şeklinde belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da zaman alan kısmını analizler oluşturmaktaydı.

Liu ve ark. (230) gümüş ve flor iyonunun mine demineralizasyonuna olan etkisini hem okluzal hem de bukkal yüzeyde inceledikleri mikro-BT çalışmalarında; pit ve fissürlerdeki düzensiz alanlarda bölgesel ayrıştırma (ROI) yapılırken lezyon sınırlarının seçiminin zor olduğunu, ilerde uygun bilgisayar programlarının geliştirilmesiyle bu işlemin daha da kolaylaşabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da demineralizasyondan sonra (T_2) ve remineralizasyondan sonra (T_3) lezyon yüzeyinin düzensiz olması lezyon dış sınırının seçiminde, Liu ve ark.'nın çalışmalarındaki gibi zor bir süreç gerektirmiştir. Bu çalışma da lezyon dış sınırlarının belirlenmesinde programın geliştirilmesi gerektiğini desteklemektedir

Schwass ve ark. (195) mine ve dentinle ilgili ölçümlerde Mikro-BT'nin kalibrasyonu için 0.25 ve 0.75 g/cm³'lük iki farklı yoğunlukta hidroksiapatitten oluşan fantomlar kullanılması gerektiğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla aynı yoğunluğa sahip iki adet HAP fantom kullanılarak, benzer şekilde analiz öncesinde kalibrasyon sağlanmıştır.

Reynolds ve Black (141), demineralizasyon solüsyonu içerisinde 4 gün beklettikleri numunelerde Mikro-BT taramasında 110-150 µm derinliğinde lezyonlar gözlemlerken, Itthagarun ve ark. (213) benzer şekilde demineralizasyon solüsyonu içerisinde 4 gün beklettikleri numunelerde Mikro-BT taramasında 100-150 µm derinliğinde lezyonlar elde etmişlerdir. Ten-Cate ve Duijsters (88) ve Vieira ve ark. (63) pH siklusu uygulanarak oluşturulan yapay çürük lezyonlarında 80-100 µm derinliğinde yapay çürük oluşturulduğunu bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada ise 50-200 µm aralığında lezyonlar elde edilmiştir. Bu yüzden 0-100 µm ve 100-200 µm aralığında iki ayrı derinlikte mineral yoğunluğu analizi yapılmıştır.

Çalışmamızda mineral yoğunluğu g/cm³ cinsinden hesaplanmıştır (Tablo 4.1 ve Tablo 4.3). Her alt grupta numunelerin mineral yoğunluğu ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Uygulanan remineralizasyon materyaline her iki derinlikte de alt grupların (NaF, CPP-ACP, Doğal içerikli) zamana bağlı grup içi karşılaştırılmasında; demineralizasyon sonrası yoğunluğun başlangıçtan düşük ($BMD_2 < BMD_1$), remineralizasyon sonrası yoğunluğun ise remineralizasyon öncesinden yüksek ($BMD_2 < BMD_3$) olduğu bulunmuştur.

0-0.1 mm aralığında BMD_1 'den BMD_2 'ye olan yoğunluk azalışı bize yapay başlangıç çürük lezyonu ve yapay başlangıç erozyon lezyonu oluşturmada bu çalışmanın başarılı olduğunu göstermiştir. Gruplar arası mineral yoğunluğu ortalamalarına bakılacak olursa; pH siklusu ile yapay başlangıç çürüğü oluşturulan grupta (Grup1) $BMD_1=2.292\pm0.143$ 'den $BMD_2=1.764\pm0.174$ 'e düşüş gözlenmiştir. Portakal suyu ile yapay erozyon oluşturulan grupta (Grup 2) $BMD_1=2.236\pm0.203$ 'ten $BMD_2=1.613\pm0.191$ 'e, kola ile yapay erozyon oluşturulan grupta (Grup 3) ise $BMD_1=2.125\pm0.187$ 'ten $BMD_2=1.648\pm0.134$ 'e düşmüştür. Portakal suyu daha yüksek pH ve daha düşük TA'ya sahip olmasına rağmen, kolaya göre daha çok mineral kaybına sebep olmuştur. Bunun sebebi Barac ve ark.'nın (200) ifade ettikleri gibi kolalı içeceklerin maruziyetinden hemen sonra aşındırma potansiyelinin yüksek olması ve zamanla azalması; portakal suyunun ise daha uzun süreli maruziyetlerde daha fazla mine erozyonuna neden olması olarak düşünülmektedir.

0.1-0.2 mm aralığında BMD_1 'den BMD_2 'ye olan yoğunluk azalışı az miktardadır. Gruplar arası mineral yoğunluğu ortalamalarına bakılacak olunursa; pH siklusu ile yapay başlangıç çürüğü oluşturulan grupta (Grup1) $BMD_1=2.446\pm0.161$ 'den $BMD_2=2.317\pm0.159$ 'a düşmüştür. Portakal suyu ile yapay erozyon oluşturulan grupta (Grup 2) $BMD_1=2.431\pm0.196$ 'dan $BMD_2=2.204\pm0.221$ 'e, kola ile yapay erozyon oluşturulan grupta (Grup 3) ise $BMD_1=2.371\pm0.286$ 'dan $BMD_2=2.142\pm0.169$ 'a düştüğü görülmektedir. 0-0.1 mm derinlikte mineral kaybının "kola ile oluşturulan erozyon > portakal suyu ile oluşturulan erozyon > başlangıç çürüğü" şeklinde olduğu görüldü. 0-0.1 mm aralığında portakal suyu daha yıkıcı iken, 0.1-0.2 mm aralığındaki kayıp çok az olmakla beraber kola derinlere daha çok etki etmiştir. Bununla beraber demineralizasyonun 0.1-0.2 mm aralığında da devam ettiği ortaya koyulmuştur. 0.1-0.2 mm aralığında BMD_3 'ten BMD_2 'ye mineral yoğunluğu artışına bakıldığında neredeyse 15 günlük süreçte başlangıca yaklaştığı görülürken, 0-0.1 mm derinlikte bu daha az oranda yakalanmıştır. Bu durum bize diş macunlarının tüm gruplar için lezyon tabanı altındaki 100 μm 'de demineralizasyonun daha az olduğu ve remineralizasyonun daha etkin olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmaya benzer şekilde Özekici ve ark. (22) çalışmalarında 0.3 mm ve 0.3-0.6 mm olmak üzere iki ayrı derinlikte NaF, NaF-ACP, propolis-kitosan ve propolis-Carbopol içerikli verniklerin etkinliklerini mineral yoğunluğu açısından gözlemlemiştir.

0.3 mm’de pH siklusu sonrası mineral yoğunluk ortalamalarına göre iyi sonuçlar; NaF-ACP içerikli vernikte gözlenirken, en düşük sonuçlar kontrol grubunda gözlemlendi (NaF-ACP > NaF > propolis-kitosan > propolis-Carbopol® > kontrol grubu). 0.3-0.6 mm arasındaki pH siklusu sonrası mineral yoğunluk ortalamalarına göre iyi sonuçlar NaF içerikli vernikte gözlenirken, en düşük sonuçlar kontrol grubunda gözlemlendi (NaF > NaF-ACP = propolis-kitosan > propolis-Carbopol® > kontrol grubu). Sunulan bu çalışmada ise yapay başlangıç çürüğü grubuna bakılacak olursa; hem 0-0.1 mm hem de 0.1-0.2 mm derinlikte diş macunlarından en çok mineral yoğunluğu artışını CCP-ACP içerikli olan GC Tooth Mousse sağlarken, en az propolis içerikli Agarta sağlamıştır (CPP-ACP > F > Propolis). Her iki çalışma arasında farklı demineralizasyon ve remineralizasyon siklusları uygulandığı ve farklı ajanlar kullanıldığı için karşılaştırma yapılamasa da demineralizasyondan sonra mineral yoğunluğu azalışının Özekici ve ark.’nın (22) çalışmasında da bu çalışmadaki gibi derin tabakada daha az olduğu ve daha kolay remineralize olduğu görülmüştür. Erozyon lezyonlarının farklı derinliklerde mineral yoğunluğu açısından remineralizasyonunu değerlendiren bir mikro-BT çalışmasına rastlanmamıştır. Literatürde macunların başlangıç çürüklerine ve erozyona farklı derinliklere göre etkinliklerini inceleyen daha çok çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

Taramalar sonucunda, remineralizasyondan sonra T_2 ’den T_3 ’e bütün numunelerde minimal bir hacim artışı bulunmuştur. Bu artan mine dokusunun mineral yoğunluğu (ΔBMD) ölçülerek Tablo 4.11’de verilmiştir. ΔBMD gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir ($p < 0.05$). Her üç demineralizasyon türüne karşı; NaF içerikli Sensodyne Promine çocuk diş macununun, CPP-ACP içerikli GC Toothmousse’dan, onun da doğal içerikli macun Agarta’dan daha fazla mineral yoğunluğu artışı sağladığı görülmektedir ($\Delta BMD_{1a>1b>1c}$, $\Delta BMD_{2a>2b>2c}$, $\Delta BMD_{3a>3b>3c}$, Şekil 4.1). Oluşan bu hacmin yoğunluğu ile ilgili herhangi bir mikro-BT çalışmasına rastlanmamıştır. Uzayın 3 boyutunda da taramaları aynı şekilde konumlandırmada yaşanabilecek hatalara, tarama şartlarına bağlı gerçekleşen ışımalara, lezyon dış sınırının seçilmesinde, datasetin histogram ve rekonstrüksiyon ayarındaki farklılıklara bağlı olarak değişebilir. Bu yüzden bu veri hesaplanmasının standardizasyonun sağlanabilmesi için çok sayıda çalışmanın literatüre kazandırılması önem arz etmektedir.

Literatürde önceki Mikro-BT çalışmalarına; bakıldığında mineral yoğunluğu, hacim, yüzey alanı ve derinlik analizlerinin hepsini bir arada yapan, NaF, CPP-ACP ve doğal içerikli macunların, hem başlangıç çürüğü hem de erozyon lezyonlarına karşı remineralizasyon etkinliğini değerlendiren benzer bir çalışma tasarımı olmaması dolayısıyla sunulan bu çalışma objektif olarak kıyaslanamamıştır.

Hamba ve ark. (17) 2020 yılında yaptıkları başka bir çalışmada 36 adet sığır dişi minesini 10 gün boyunca demineralizasyon solüsyonuna daldırdı ve ardından 12 günlük pH siklusunda TCP ve flor, içeren ve içermeyen macunlar ile remineralizasyon tedavisi uygulayarak 3 farklı zaman diliminde mikro-BT taraması yaptılar. TCP ve florür içeren deneysel diş macununun, pH siklusu sırasında yapay mine başlangıç çürüğü lezyonlarının remineralizasyonunu artırdığını bildirdiler.

Hamba ve ark. (16) 2011 yılında sığır dişleri üzerinde yaptıkları çalışmada, numunelere günde 30 dk 7 gün boyunca, 90, 900 ve 9000 ppm F, CPP-ACP, CPP-ACFP içerikli macunları uyguladılar ve ardından 24, 72 ve 120 saatlik demineralizasyon süreçlerinden sonra mikro-BT ile mineral yoğunluğu ve lezyon derinliğini incelediler. 72. saatte demineralizasyondan sonrası mineral kaybı açısından CPP-ACP grubu haricindeki gruplar deiyonize sudan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermekteydi. 120 saat sonrasında ise tüm gruplar deiyonize su grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterirken, gruplar arasında florürün, CPP-ACP grubundan istatistiksel olarak daha az mineral kaybı sağladığı bildirilmiştir.

Mete ve ark. (231) teobromin içeren çocuk diş macununun 70 süt, 70 daimi çekilmiş insan dişleri üzerindeki remineralizasyon etkinliğini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, 10 günlük pH siklusu uygulayarak miko-BT analizi yapmışlardır. Mineral iyileşme yüzdesinin gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişler ve bu oranı 0.50 mm derinlikte süt ve daimi dişlerde Theodent Kids > R.O.C.S. Baby > Sensodyne Pronamel Çocuk > Colgate Total > Kontrol grubu şeklinde bulmuşlardır.

Cortu ve ark. (53) süt ve daimi dişlerde başlangıç lezyonlarını, 30 gün boyunca NaF, CPP-ACP ve novamin içeren diş macunları ile düzenli olarak günde 2 kez fırçalamışlardır. 7., 15., ve 30. günlerde ve 2. demineralizasyondan sonra mikro-BT ile bizim çalışmamıza benzer şekilde yoğunluk, hacim, derinlik ve alan analizi yapmışlar. Sunulan bu çalışmadaki gibi NaF ve CPP-ACP içerikli diş macunları kullanmışlardır.

Çalışmamıza benzer şekilde 2. haftanın sonunda her iki ajanda da mineral yoğunluğu artışı görülmüştür. Gruplar arasında anlamlı bir istatistiksel farklılık bulunamamıştır. Deney tasarımıındaki farklılıklardan dolayı sayısal veriler kıyaslanamamıştır.

Çalışmamızda hacim analizlerine bakıldığında (Tablo 4.5); T_1 ve T_2 görüntülerinin uzayda aynı şekilde konumlandırılmasıyla oluşan fark bize demineralizasyondan sonra (T_2) lezyonun hacmini (V_2) mm³ cinsinden vermektedir. Aynı şekilde T_1 ve T_3 görüntülerinin uzayda aynı şekilde konumlandırılmasıyla oluşan fark bize remineralizasyondan sonra (T_3) lezyonun hacmini (V_3) vermektedir. Tüm gruplarda demineralizasyondan sonra bir lezyon hacmi oluşmuş, remineralizasyondan sonra ise bu lezyon hacmi azalmıştır. Diş macunlarının etkinliklerine baktığımızda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmazken ($p>0.05$), grup içi karşılaştırmalarda Grup 2c dışındaki gruplarda zamana bağlı lezyon hacminin azalmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0.05$). Doğal içerikli diş macununun portakal suyu erozyon lezyonuna karşı etkinliği dışında, diğer tüm macunların remineralizasyonda etkili olduğu ve lezyon hacmini azalttığı görülmüştür. Portakal suyu ile oluşturulan erozyon lezyonların ve kola ile oluşturulan erozyon lezyonlarının hacim ortalamalarının (V_2), yapay başlangıç çürük lezyon hacim ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Eroziv lezyonlar direkt aşınma şeklinde olup, daha fazla hacim kaybına sebep olurken, başlangıç çürüğü lezyonlarının pH siklusu etkisiyle tamponlanabildiği görülmüştür.

Her bir macunun hangi demineralizasyon türünde hacim azalışı açısından daha çok etki ettiğine bakıldığında (Tablo 4.6); Sensodyne Promine ve GC Tooth Mousse'un başlangıç çürüğüne, Agarta'nın ise hem başlangıç çürüğüne hem de kola erozyonuna en fazla etki ettiği bulunmuştur. Gruplar arası istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Tablo 4.5 ve Tablo 4.6'da T_1 - T_2 ve T_1 - T_3 konumlandırmalarının yanı sıra T_2 - T_3 görüntülerinin de uzayda aynı şekilde konumlandırılmasıyla elde edilen hacim farklılığı ΔV olarak ifade edilmiştir. T_2 'den T_3 'e remineralizasyon sonrasında artan hacmin V_3 - V_2 'nin ortalama farkı tabloda 4.5'te verilmiştir. Standart şartlarda aynı olmasını beklediğimiz ortalama fark ve ΔV değerlerinin birbirlerine çok yakın, ancak farklı olduğu görülmektedir. Bu durum her taramanın farklı zaman diliminde yapılmış olması, numunelerin her ne kadar üzerlerinde oluk şeklinde referans noktaları oluşturulmuş olsa da mikro-BT tarama cihazına yerleştirme farklılıkları, T_1 - T_2 - T_3 'ün konumlandırma farklılıkları ve ışıma farklılıklarından kaynaklanabilmektedir.

Çalışmamızda yüzey alanı analizlerine bakıldığında (Tablo 4.7); yüzey alanındaki değişiklikler mm^2 cinsinden hesaplanmaktadır. Grup 1b ve Grup 3b haricindeki her alt grupta numunelerin yüzey alan ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık sergilemiştir ($p<0.05$). Grup içinde beklediğimiz gibi demineralizasyon sonrası yüzey alanı daha yüksek ($A_1<A_2$), remineralizasyon sonrası ise yüzey alanı öncesine göre daha düşük ($A_3<A_2$) bulunmuştur. A_1 'den A_2 'ye yüzey alanının artışı yapay başlangıç çürüğü ve yapay erozyon oluşmasıyla lezyon dış sınırının artık düz bir alan olmayıp, girintili çıkıntılı olmasından kaynaklanmaktadır. Bu düzensiz yüzey, yüzey alanını artırmaktadır. A_2 'den A_3 'e yüzey alanının azalması, fırçalamanın etkisiyle remineralizasyondan sonra lezyon dış sınırının daha düz bir yüzey haline gelmesinden kaynaklanmaktadır. pH siklusu ile yapay başlangıç çürüğü oluşturulan grup, portakal suyu ile erozyon oluşturulan grup ve kola ile erozyon oluşturulan grup arasında belirgin bir fark yoktur. T_2 'den T_3 'e en fazla yüzey alanı azalışı Grup 1a 'da gözlenirken, yüzey alanındaki en az azalış Grup 2c 'de görülmektedir.

Diş macunlarının, hangi demineralizasyon türüne daha etkili olduğu araştırıldı (Tablo 4.8) gruplar arasındaki ilişkide istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemektedir ($p>0,05$). A_2 'den A_3 'e yüzey alanı ortalamasının azalması, her üç macunun da remineralizasyonda başarılı olduğunu göstermektedir. Her bir macunun hangi demineralizasyon türüne daha çok etki ettiğine bakıldığında, yüzey alanı azalışının kola gruplarında en az olduğu görülmüştür (Tablo 4.8). Kolanın eroziv etkisi dolayısıyla diş sert dokularında hızlı ve direkt bir aşınma oluşturması sebebiyle yıkımın geri döndürülmesinin daha zor olduğu düşünülmektedir.

Nakata ve ark. (232) ile Zhi ve ark.(233) demineralizasyondan sonra yaklaşık 100-150 μm derinliğinde radyolusent alanlar ve mine yüzeyindeki demineralizasyon sonrası prizma yapısındaki bozulmalara bağlı mine yüzeyini grintili ve çıkıntılı görmüşlerdir. Remineralizasyon sonrasında mineral yoğunluğunda artmaya bağlı radyoopasitenin arttığını bildirmişlerdir. Lezyon derinliğinde azalma ve yüzeylerde iyileşmeler ile girinti ve çıkıntıların ortadan kalktığını ve daha düz yüzeylerin oluştuğunu görmüşlerdir. Farklı demineralizasyon türleri ve remineralizasyon ajanları kullanılsa da bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda derinlik analizlerine bakıldığında (Tablo 4.9); T_1 ve T_2 görüntülerinin uzayda aynı şekilde konumlandırılmasıyla oluşan fark bize demineralizasyon sonrasında (T_2) lezyon derinliğini (D_2) “mm” cinsinden vermektedir. Sunulan bu çalışmadan 0-50 μ m arasında demineralizasyon lezyonları elde edilmiştir. Aynı şekilde T_1 ve T_3 görüntülerinin uzayda konumlandırılmasıyla oluşan fark bize remineralizasyon sonrasında (T_3) lezyon derinliğini (D_3) vermektedir. Tüm gruplarda demineralizasyondan sonra oluşan lezyon derinliği remineralizasyondan sonra azalmıştır. Diş macunlarının etkinliklerine baktığımızda gruplar arasında istatistiksel bir farka rastlanmazken ($p>0.05$), grup içinde Grup 3a ve Grup 3b dışındaki gruplarda zamana bağlı lezyon derinliğinin azalmasında anlamlı fark vardır ($p<0.05$). Bu veri doğal ve CPP-ACP içerikli diş macununun kola ile oluşturulan erozyon lezyonuna karşı etkinliği dışında diğer tüm macunların remineralizasyonda etkili olduğunu ve lezyon derinliğini azalttığını gösterir. En belirgin derinlik azalışı Grup 1b’de olmuştur. Yani GC Tooth Mousse’un başlangıç çürüğüne etkisi diğer tüm gruplardan daha fazladır.

Lezyon derinliğinin azalışı açısından diş macunlarının etkinliğine bakıldığında (Tablo 4.10); NaF içerikli Sensodyne Promine’nin portakal suyu erozyonuna ve CPP-ACP içerikli GC Tooth Mousse’un başlangıç çürüğüne en çok etki ettiği görülürken, doğal içerikli diş macunu Agarta’nın ise tüm grupların derinliğini eşit şekilde azalttığı bulunmuştur. Ancak gruplar arası istatistiksel bir fark yoktur ($p>0.05$). Tablo 4.9 ve Tablo 4.10’da T_1 - T_2 ve T_1 - T_3 konumlandırmalarının yanı sıra T_2 - T_3 görüntülerinin de uzayda konumlandırılmasıyla elde edilen hacim farklılığı ΔD olarak ifade edilmiştir. T_2 ’den T_3 ’e remineralizasyon sonrasında artan hacmin D_3 - D_2 ’nin ortalama farkı tabloda verilmiştir. Aynı olmasını beklediğimiz ortalama fark ve ΔD değerleri birbirlerine çok yakın, ancak farklıdır. Bu durum her taramanın farklı zaman diliminde yapılmış olması, numunelerin mikro-BT tarama cihazına yerleştirme farklılıkları, ışınma farklılıkları ve T_1 - T_2 - T_3 ’ün konumlandırma farklılıklarından kaynaklanabilmektedir.

Özekici ve ark. (22) mineral yoğunluğu açısından propolis vernikleri florür verniklerden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulmuş, ancak antibakteriyel, sitotoksik biyoyumluluk gibi konularda çalışma sayısının artırılarak flora alternatif olarak ileri sürülebileceğini belirtmiştir. Bildiğimiz kadarıyla literatürde erozyon lezyonlarının oluşumunu ve tedavisini buna ek olarak propolis ve aloe vera gibi doğal içerikli diş macunlarının remineralizasyon etkinliğini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır.

5.3.SEM Bulgularının Tartışılması

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), başlangıç mine lezyonlarının yüzey morfolojilerinin incelendiği birçok in-vitro çalışmada altın standart olarak kullanılmaktadır (86, 113, 180) Yalnızca başlangıç mine lezyonları değil, erozyon lezyonlarının araştırılmasında da yaygın olarak kullanılan kalitatif bir yöntemdir (183). Numunelerin tekrar kullanılamıyor olması gibi bir dezavantjı bulunmasına karşın, diş hekimliğinde organik içerikli materyallerin ultramikroskopik düzeyde incelenmesine olanak sağlamaktadır. Yüksek çözünürlükte ve düşük elektron voltajı kullanılarak morfolojik yüzey özelliklerinin net bir şekilde incelenebilmesine olanak sağlamak SEM kullanımının avantajlarıdır (179). Çalışmamızda demineralize yüzeyleri incelemek ve diş macunlarının bu demineralize yüzeylerde yarattığı remineralizasyon etkisi ile morfolojik değişiklikleri değerlendirebilmek amacıyla SEM kullanılmıştır.

Sunulan çalışmada, başlangıçta (T_1) sağlam mine yüzeyinin bütünlüğünün bozulmamış olduğu, mine prizmalarının ise anahtar deliğine benzer düzgün dizilen bir yapı gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.4). Başlangıç çürükleri oluşturulmadan önce mine yüzeyi, Huang ve ark.'nın (86) çalışmasında olduğu gibi sağlam, pürüzsüz ve bütünlük gösteren yapıdadır. Başlangıç çürükleri oluşturulan yüzeylerin incelenmesi sonucu pürüzsüz yapının kaybolduğu ve birçok mikro gözenek ortaya çıktığı görülmüştür. Benzer şekilde bu çalışmada da pH siklusu ile kimyasal yola yapay olarak oluşturulan başlangıç çürüğünün SEM görüntülerinde, 'anahtar deliği' görüntüsünün kaybolduğu daha düz tabaka halinde bir yüzey olduğu ve mine prizmalarında homojen olmayan düzensizliklerin ortaya çıktığı izlenmiştir (Şekil 4.5).

Başlangıç çürüğü olan dişlerde, flor içeren Sensodyne Promine çocuk diş macunu ile fırçalanan örnek SEM görüntülemesinde; oluşan porların tıkanığı ve bölgesel olarak daha düz yüzeyler elde edildiği ve kristaller ile örtülü olduğu görülmektedir (Şekil 4.6). Altan ve ark. (27) florürlü diş macunu ile oluşturulan remineralizasyon yüzeyinin SEM görüntülerinde homojen bir yapı elde edildiğini ve mineral depolandığını, CPP-ACP içeren GC Tooth Mousse ile elde edilen remineralizasyon yüzeylerinin daha heterojen olduğunu ve bazı pitlerin minerallerle tam doldurulamadığını bildirmektedir. Bu tez çalışmasının sonuçları Altan ve ark.'nın çalışmasına paralel olarak mine yüzeyi homojen yapıda olmayan globüller şeklinde görüntülenmektedir. Bazı mikroporların yüzeylerinin örtülmediği ve yer yer boşlukların olduğu görülmektedir (Şekil 4.7).

Başlangıç çürüğü lezyonlarının doğal içerikli diş macunu ile remineralizasyonu sonrasında (T_3) yapılan SEM görüntülemesinde; mine yüzeylerinin dağınık bulutsu bir yapı izlediği, anahtar deliği görüntüsünü takip eden dolular olsa da homojen düz bir yüzey sergilemediği gözlenmiştir (Şekil 4.8). Doğal içerikli macunların yapay başlangıç çürüğüne etkisini inceleyen bir SEM çalışmasına rastlanmamıştır.

Portakal suyu ile oluşturulan (T_2) erozyon lezyonlarının SEM incelemesinde; mine yüzey bütünlüğü tamamen bozulmuş, belirgin demineralizasyon alanları gözlemlenmiştir. Prizma yapısı tamamen yok olmuş ve heterojen çukurlar oluşmuştur (Şekil 4.9). Lussi ve ark. (75) portakal suyu veya sitrik asit sonucu aşınmanın SEM görüntülerini inceledikleri çalışmalarında, yüzeyde kayıp bildirmiş ve başlangıç aşamasında olan erozyon lezyonlarında ise parlaklık kaybı ile beraber bizim çalışmamıza benzer şekilde yüzeyde 'dağlama' şeklinde yıkımlar olduğunu belirtmişlerdir.

Portakal suyu ile oluşturulmuş başlangıç erozyon lezyonuna karşı NaF içerikli diş macunu ile fırçalama sonrasında (T_3); mine yüzeylerinde oluşan kristal parçacıkların biriktiği, anahtar deliği görüntüsü ile paralel olarak porların yüzeylerinin örtüldüğü görülmüştür (Şekil 4.10). Eisenburger ve ark. (85) yaptıkları çalışmada, mine yüzeyinde farklı pH derecelerinde sitrik asit ile oluşturdukları erosiv lezyonlu dişleri, flor içeren yapay tükürük ya da serum fizyolojik solüsyonu içinde bekletmiş, ardından SEM ile incelemişlerdir. Yapay tükürük içinde bekletilen numunelerin mine yüzeylerinde gözlenen karmaşık ve heterojen yapıyı remineralize mine olarak değerlendirmişlerdir.

Portakal suyu ile oluşturulmuş başlangıç erozyon lezyonuna karşı CPP-ACP diş macunu ile fırçalama sonrası (T_3), mine yüzeyleri üzerinde dağınık olarak kalsifiye çökelti oluştuğu gözlenmiştir. (Şekil 4.11). Wang ve ark. (234) yaptıkları çalışmada SEM görüntülerinde diş yüzeyinde dağınık granüler tortular olduğunu bildirmişlerdir.

Portakal suyu ile oluşturulmuş başlangıç erozyonunun doğal içerikli diş macunu ile remineralizasyonu sonrasında (T_3); heterojen bir mine yüzeyi ve geniş porların ve çukurcukların tıkandığı görülmektedir (Şekil 4.12). Propolis veya aleo vera içerikli diş macunlarının portakal suyu ile oluşan erozyon lezyonlarına etkisini inceleyen bir SEM çalışmasına rastlanmamıştır.

Kola ile oluşturulan erozyon lezyonlarının (T_2) SEM incelemesinde; mine yüzey bütünlüğünün tamamen bozulduğu, belirgin demineralizasyon alanları olduğu, prizma yapısının tamamen değiştiği ve yoğun porözitelerin olduğu izlenmektedir (Şekil 4.13). Poggio ve ark. (226) bizim çalışmamıza benzer şekilde numunelerin günde 4 kez 2 dk kolaya maruz kalması sonrasında, yüzeyden madde kaybının dikkate değer olduğunu belirtmiştir. SEM görüntülerinde mine morfolojisi, prizma boyutu 3 ile 5 μm arasında değişen tipik bir prizmatik yapı göstermiş, dağlama işlemi esas olarak prizmanın petek benzeri bir yapı oluşturduğunu göstermiştir.

Kola ile oluşturulmuş başlangıç erozyonu NaF içerikli diş macunu ile fırçalama sonrasında (T_3) mine yüzeylerinin globüller şeklinde örtüldüğü, anahtar deliğine paralel yapılar şeklinde birikimler olduğu görülmüştür (Şekil 4.14). Çetin ve ark. (235) yaptıkları çalışmada insan azı dişlerinden hazırlanan 40 çift mine örneğinin kola ile maruziyeti sonrasında minede prizmalar, çatlaklar ve küçük erozyon alanlarına rastladıklarını kaydetmişlerdir. Bizim çalışmamızdan farklı olarak bu örnek grubunda mine çatlağına rastlanmamıştır. Benzer şekilde yer yer erozyon devam etse de flor etkisi ile belirli çökelmeler gözlenmiştir.

Kola ile oluşturulmuş başlangıç erozyon lezyonlarının, CPP-ACP diş macunu ile fırçalama sonrasında (T_3) mine yüzeylerinin yeni oluşan irili ufaklı kristaller ile örtüldüğü, bununla birlikte bazı mikroporların yüzeylerinin örtülmediği ve yer yer boşlukların olduğu görülmüştür (Şekil 4.15). Poggio ve ark. (226), günde 4 kez 2 dk kolaya maruz kalan numunelerin CPP-ACP macunu ile tedavisi sonrası, prizmalar arası boşlukları dolduran ve prizmaları uzun süre kısmen kaplayan kristal bir tabakanın oluştuğunu ve böylece bir sonraki asit saldırısını önlediğini belirtmişlerdir (236).

Kola ile oluşturulmuş başlangıç erozyon lezyonlarının doğal diş macunu ile fırçalanması sonrasında (T_3) mine yüzeylerinin poröz yapısı değişmiş ve remineralizasyon görülmüştür (Şekil 4.16). Propolis veya aloe vera içerikli diş macunlarının kola ile oluşan erozyon lezyonlarına etkisini inceleyen bir SEM çalışmasına rastlanmamıştır.

Mikro-BT ve SEM analizleri sonucunda elde edilen bulgular neticesinde çalışmanın hem erozyon hem de başlangıç çürüğü demineralizasyon lezyonlarına karşın macunların remineralizasyon etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmeyeceği şeklindeki H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

Çocuklar tarafından sık tüketilen asitli içeceklerin oluşturduğu erozyon ve pH siklusu ile yapay olarak oluşturulan başlangıç çürüğü lezyonlarına karşı Sensodyne Promine, GC Toooth Mousse ve Agarta çocuk diş macunları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Her macunun zamana bağlı remineralizasyon başarısı ise istatistiksel olarak anlamlıdır.

Literatürde hem başlangıç çürüğü hem de erozyon lezyonlarına karşın, NaF, CPP-ACP ve doğal içerikli çocuk diş macunlarının (Sensodyne Promine, GC Tooth Mousse, Agarta) remineralizasyon etkinliğini eşzamanlı olarak; mineral yoğunluğu, yüzey alanı, hacim ve derinlik gibi mikro-BT analizleri ve SEM analizleri ile bir arada değerlendiren kapsamlı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ek olarak başlangıç mine lezyonlarının mikro-BT ile incelendiği demineralizasyon-remineralizasyon çalışmaları olsa da erozyon lezyonlarının incelendiği herhangi bir mikro-BT çalışması bulunmamaktadır. Bu yönleri çalışmanın gücünü oluşturmaktadır. Buna karşın standardizasyon sağlamak amacıyla da olsa süt dişlerinin çalışmaya dahil edilememesi, çalışmanın doğala daha yakın in-situ ya da in-vivo şartlarda yapılamaması, remineralizasyon süresinin (15 gün) kısa olması ise bu çalışmanın limitasyonlarını oluşturmaktadır. Çalışmanın limitasyonlarını giderecek şekilde; daha uzun demineralizasyon-remineralizasyon siklus sürelerinin uygulandığı, diş çeşitlerinin ve örnek sayılarının artırıldığı, ağız içi ortamı daha doğal koşullar ile yansıtabilecek mikro-BT ve SEM çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bununla birlikte hem yapay erozyon hem de yapay çürük oluşturma, remineralizasyon sağlama prosedürlerinin standardizasyonuna ihtiyaç vardır. Mikro-BT ile çok kapsamlı veriler elde edilebilecek demineralizasyon-remineralizasyon çalışmalarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. İnsan üçüncü büyük azı dişleri kullanılarak elde edilen başlangıç çürüğüne ve kola ve portakal suyu erozyonuna karşın, NaF, CPP-ACP ve doğal içerikli çocuk diş macunlarından (Sensodyne Promine, GC Tooth Mousse, Agarta) istatistiksel olarak anlamlı şekilde remineralizasyon elde edildi.
2. Tüm macunlar, mineral yoğunluğunda artış sağlarken, lezyon hacminde, derinliğinde ve yüzey alanında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma sağladı.
3. NaF, CPP-ACP ve doğal içerikli çocuk diş macunları (Sensodyne Promine, GC Tooth Mousse, Agarta) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.
4. Bu çalışma florun geçmişten beri bilinen remineralizasyon etkisini ve gelişmekte olan CPP-ACP'in remineralizasyon etkisini desteklemektedir.
5. Propolis ve aloe vera gibi doğal ajanlar içeren, yeni geliştirilmiş olan çocuk diş macunlarının antikaryojenik, biyoyumluluk, sitotoksosite, remineralizasyon gibi konulardaki etkinliklerinin araştırıldığı daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. İleride flora alternatif olarak sunulabilir.
6. Koruyucu hekimliğin birincil basamakları arasında yer alan, herkes tarafından kolayca elde edebilecek diş macunlarının kullanılarak düzenli diş fırçalamanın; henüz başlangıç aşamasında olan çürük ve erozyon lezyonlarını iyileştirebileceği görüldü.
7. Kola ve portakal suyu ile oluşturulan yapay erozyon lezyonlarında, pH siklusu ile oluşturulan yapay çürük lezyonlarına göre daha çok mineral yoğunluğu kaybı, hacim ve derinlik kaybı olduğu bulundu.
8. Kola ve portakal suyunun yarattığı erozyonun maruz kalma süresi, pH ve titre edilebilir asit faktörlerine bağlı olduğu görüldü.
9. Mikro-BT, başlangıç çürüklerinin ve başlangıç erozyonunun saptanabilmesine, diş sert dokularının mineral yoğunluğu kaybının sayısal olarak ifade edilebilmesine, 3 boyutlu yani hacimsel olarak lezyonun görüntülenebilmesine olanak tanımaktadır.
10. Diş hekimliğinde birçok farklı alana ışık tutan mikro-BT ile demineralizasyon-remineralizasyonun değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç vardır.
11. SEM görüntüleri mikro-BT bulgularını desteklemiştir.

KAYNAKÇA

1. Alshunaiber R, Alzaid H, Meaigel S, Aldeeri A, Adlan A. Early childhood caries and infant's oral health; pediatricians' and family physicians' practice, knowledge and attitude in Riyadh city, Saudi Arabia. *Saudi Dent J* 2019, 31: 96-105.
2. Gökalp S, Guciz D, Tekçiçek M, Berberoglu A, Ünlüer S. National survey of oral health status of children and adults in Turkey. *Community Dent Health* 2010, 27: 12.
3. Korkmaz E, Kaptan A. Cross-sectional analysis of prevalence and aetiological factors of dental erosion in turkish children aged 7-14 years. *Oral Health Prev Dent* 2020, 18: 959-71.
4. Caglar E, Kargul B, Tanboga I, Lussi A. Dental erosion among children in an Istanbul public school. *J Dent Child (Chic)* 2005, 72: 5-9.
5. Petersen P. Changing oral health profiles of children in Central and Eastern Europe—Challenges for the 21st century: Citeseer; 2008.
6. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on early childhood caries (ECC): Unique challenges and treatment options. <https://www.aapd.org/research/oral-health-policies--recommendations/early-childhood-caries-unique-challenges-and-treatment-options/.02.02.2022>.
7. Bayraktar I. Çürük ve Erozyon Lezyonlarının Remineralizasyonlarının In situ Olarak Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diş Hastalıkları Ve Tedavisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2012.
8. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. Dental caries: the disease and its clinical management: John Wiley & Sons; 2015.
9. Silk H. Making oral health a priority in your preventive pediatric visits. *Clinical pediatrics* 2010, 49: 103-9.
10. Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci* 1996, 104: 151-5.
11. Johansson A, Omar R, Carlsson G, Johansson A. Dental erosion and its growing importance in clinical practice: from past to present. *Int J Dent* 2012, 2012: 632907.
12. Dentistry. AAOA. Guideline on caries-risk assessment and management for infants, children, and adolescents. *Clin Pract Guidel* 2014, 37: 15-6.
13. Ganss C, Klimek J, Giese K. Dental erosion in children and adolescents--a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dent Oral Epidemiol* 2001, 29: 264-71.

14. Reynolds E. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Aust Dent J* 2008, 53: 268-73.
15. Ranjitkar S, Rodriguez J, Kaidonis J, Richards L, Townsend G, Bartlett D. The effect of casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate on erosive enamel and dentine wear by toothbrush abrasion. *J Dent* 2009, 37: 250-4.
16. 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: 405-13.
17. Hamba H, Nakamura K, Nikaido T, Tagami J, Muramatsu T. Remineralization of enamel subsurface lesions using toothpaste containing tricalcium phosphate and fluoride: an in vitro μ CT analysis. *BMC Oral Health* 2020, 20: 1-9.
18. Vieira A, Danelon M, Camara D, Rosselli E, Stock S, Cannon M, Xiao X, Carlo F, Delbem A. In vitro effect of amorphous calcium phosphate paste applied for extended periods of time on enamel remineralization. *J Appl Oral Sci* 2017, 25: 596-603.
19. Amalina R, Soekanto S, Gunawan H, Sahlan M. Analysis of CPP-ACP complex in combination with propolis to remineralize enamel. *J Int Dent Med Res* 2017, 10: 814-9.
20. Oliveira G, Ritter A, Heymann H, Swift E, Donovan T, Brock G, Wright T. Remineralization effect of CPP-ACP and fluoride for white spot lesions in vitro. *J Dent* 2014, 42: 1592-602.
21. Cheng L, Ten Cate J. Effect of galla chinensis on the in vitro remineralization of advanced enamel lesions. *Int J Oral Sci* 2010, 2: 15-20.
22. Ozekici A. Yeni geliştirilen propolis içerikli vernik formülasyonlarının remineralizasyona etkilerinin florid vernikleri ile karşılaştırılmalı olarak incelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti Anabilim Dalı. Doktora Tezi: Yeditepe Üniversitesi, 2019.
23. Taneja V, Nekkanti S, Gupta K, Hassija J. Remineralization potential of theobromine on artificial carious lesions. *J Int Soc Prev Community Dent* 2019, 9: 576-83.
24. Al Haddad T, Khoury E, Farhat Mchayleh N. Comparison of the remineralizing effect of brushing with aloe vera versus fluoride toothpaste. *Eur J Dent* 2021, 15: 133-8.
25. Kargul B, Özcan M, Peker S, Nakamoto T, Simmons W, Falster A. Evaluation of human enamel surfaces treated with theobromine: a pilot study. *Oral Health Prev Dent* 2012, 10: 275-82.

26. Wang Y, Chang C, Chi C, Chang H, Chiang Y, Chuang Y, Chang H, Huang G, Liao Y, Lin C. Erosive potential of soft drinks on human enamel: an in vitro study. *J Formos Med Assoc* 2014, 113: 850-6.
27. Altan H, Göztaş Z, Kahraman K, Kuş M, Tosun G. Inhibition effects of different toothpastes on demineralisation of incipient enamel lesions. *Oral Health Prev Dent* 2019, 17: 179-85.
28. Ferrazzano G, Coda M, Cantile T, Sangianantoni G, Ingenito A. SEM investigation on casein phosphopeptides capability in contrasting cola drinks enamel erosion: an in vitro preliminary study. *Eur J Paediatr Dent* 2012, 13: 285-8.
29. Hu J, Chun Y, Al Hazzazzi T, Simmer J. Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs* 2007, 186: 78-85.
30. Featherstone J. Remineralization, the natural caries repair process--the need for new approaches. *Adv Dent Res* 2009, 21: 4-7.
31. Avery J, PF S. Oral Development And Histology. New York; Stuttgart: Thieme New York ; Georg Thieme Verlag; 2002.
32. Piesco N, Simmelink J. Histology of enamel. *Oral development and histology* 2002: 153-71.
33. Radlanski R, Renz H, Willersinn U, Cordis C, Duschner H. Outline and arrangement of enamel rods in human deciduous and permanent enamel. 3D-reconstructions obtained from CLSM and SEM images based on serial ground sections. *Eur J Oral Sci* 2001, 109: 409-14.
34. Zachrisson B, Brobakken B. Clinical comparison of direct versus indirect bonding with different bracket types and adhesives. *Am J Orthod* 1978, 74: 62-78.
35. Hara A, Zero D. The caries environment: saliva, pellicle, diet, and hard tissue ultrastructure. *Dent Clin North Am* 2010, 54: 455-67.
36. Featherstone J. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999, 27: 31-40.
37. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *J Clin Pediatr Dent* 2003, 28: 47-52.
38. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). *J Clin Pediatr Dent* 2004, 28: 203-14.

39. García-Godoy F, Hicks M. 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: 25S-34S.
40. Yu O, Mei M, Zhao I, Li Q, Lo E, Chu C. Remineralisation of enamel with silver diamine fluoride and sodium fluoride. *Dent Mater* 2018, 34: e344-e52.
41. Vieira AEdM, Danelon M, Camara DMd, Rosselli ER, Stock SR, Cannon ML, Xiao X, Carlo F, Delbem A. In vitro effect of amorphous calcium phosphate paste applied for extended periods of time on enamel remineralization. *J Appl Oral Sci* 2017, 25: 596-603.
42. Kitchens M, Owens B. Effect of carbonated beverages, coffee, sports and high energy drinks, and bottled water on the in vitro erosion characteristics of dental enamel. *The J Clin Pediatr Dent* 2007, 31: 153-9.
43. Maden E, Acar Ö, Altun C, Polat G. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and acidulated phosphate fluoride gel on dental erosion in primary teeth: An in vitro study. *J Clin Pediatr Dent* 2017, 41: 275-9.
44. Miller WD. The Micro-organisms of the Human Mouth. The Local and General Diseases Which are Caused by Them. 1st ed. Philadelphia, Basel, Karger Press 1980: 45-67.
45. Black G. Dr. Black's conclusions reviewed again. *Dent Cosmos* 1898, 40: 440.
46. Keyes P. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. *Arch Oral Biol* 1960, 1: 304-20.
47. Newbrun E. Dental research: problems, progress, and prognosis. *J Dent Res* 1989, 68: 1377-8.
48. Bowden G. The Microbial Ecology of Dental Caries. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2000, 12: 138-48.
49. Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries-risk assessment. *Int Dent J* 1999, 49: 15-26.
50. Fejerskov O, Manji F. Risk assessment in dental caries. *Risk Assessment in Dentistry Chapel Hill, University of North Carolina Dental Ecology* 1990: 215-7.
51. Celik E, Katirci G. Başlangıç çürük lezyonlarının tedavisi. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg* 2011, 2011: 48-56.
52. Arends J, Christoffersen J. Invited review article: the nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res* 1986, 65: 2-11.

53. Cortu M. Farklı remineralizasyon ajanları uygulanmış mine lezyonlarının aside dirençlerinin “micro-computerized tomography” ile incelenmesi. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 2016.
54. 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 *J Clin Pediatr Dent* 2004, 28: 119-24.
55. Robinson C, Shore RC, Brookes S, Strafford S, Wood S, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000, 11: 481-95.
56. Silverstone L. Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev* 1973, 3: 100-60.
57. Buzalaf M, Hannas A, Magalhães A, Rios D, Honório H, Delbem A. pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. *J Appl Oral Sci* 2010, 18: 316-34.
58. Stookey G, Warrick J, Miller L, Greene A. Animal caries models for evaluating fluoride dentifrices. *Adv Dent Res* 1995, 9: 198-207.
59. Featherstone J, Zero D. An in situ model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. *J Dent Res* 1992, 71: 804-10.
60. Yu O, Zhao I, Mei M, Lo E. A review of the common models used in mechanistic studies on demineralization-remineralization for cariology research. *Dent J (Basel)* 2017, 5.
61. Featherstone J, Mellberg J. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981, 15: 109-14.
62. Ten Cate J, Duijsters P. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982, 16: 201-10.
63. Vieira A, Delbem A, Sasaki K, Rodrigues E, Cury J, Cunha R. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res* 2005, 39: 514-20.
64. Featherstone J, Glena R, Shariati M, Shields C. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res* 1990, 69 Spec No: 620-5; discussion 34-6.
65. Erbek Ş. Çocukların sık tükettiği aromalı süt ürünlerinin minesini üzerine etkilerinin in vitro incelenmesi. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2019.

66. Tolia V, Vandenplas Y. Systematic review: the extra-oesophageal symptoms of gastro-oesophageal reflux disease in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2009, 29: 258-72.
67. Cender E, Güler E. Dental erosion. *The Journal of Ondokuz Mayıs University Faculty of Dentistry* 2013, 14: 27-38.
68. O'Brien M, Great B. Children's dental health in the United Kingdom, 1993 : a survey carried out by the Social Survey Division of OPCS, on behalf of the United Kingdom health departments, in collaboration with the Dental Schools of the Universities of Birmingham and Newcastle. London: H.M.S.O.; 1994.
69. Yan-Fang Ren D. Dental erosion: etiology, diagnosis and prevention. *ADA: The academy of dental therapeutic and stomatology* 2011: 11-20.
70. Atila E, Eden E. Dental erozyon: Etiyoloji, tanı ve tedavi yaklaşımı. *EÜ Dişhek Fak Derg* 2011, 33: 56-63.
71. Buzalaf M, Magalhães A, Rios D. Prevention of erosive tooth wear: targeting nutritional and patient-related risks factors. *Br Dent J* 2018, 224: 371-8.
72. Buzalaf M, Hannas A, Kato M. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci* 2012, 20: 493-502.
73. Taji S, Seow W. A literature review of dental erosion in children. *Aust Dent J* 2010, 55: 358-67.
74. Lussi A, Jaeggi T. Erosion diagnosis and risk factors. *Clin Oral Investig* 2008, 12 5-13.
75. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res* 2011, 45 2-12.
76. Wiegand A, Waldheim E, Magalhães AC, Attin T. Comparison of the Effects of TiF₄ and NaF Solutions at pH 1.2 and 3.5 on Enamel Erosion in vitro. *Caries Res* 2009, 43: 269-77.
77. West N, Davies M, Amaechi B. In vitro and in situ Erosion Models for Evaluating Tooth Substance Loss. *Caries Res* 2011, 45: 43-52.
78. Young A, Tenuta L. Initial erosion models. *Caries Res* 2011, 45: 33-42.
79. Shellis R, Ganss C, Ren Y, Zero D, Lussi A. Methodology and models in erosion research: Discussion and conclusions. *Caries Res* 2011, 45: 69-77.

80. Amaechi B, Higham S, Edgar W. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil* 1999, 26: 624-30.
81. Von Fraunhofer J, Rogers M. Effects of sports drinks and other beverages on dental enamel. *Gen Dent* 2005, 53: 28-31.
82. Poggio C, Lombardini M, Colombo M, Bianchi S. Impact of two toothpastes on repairing enamel erosion produced by a soft drink: An AFM in vitro study. *J Dent* 2010, 38: 868-74.
83. Colombo M, Dagna A, Moroni G, Poggio C, Chiesa M, Pietrocola G. Effect of different protective agents on enamel erosion: An in vitro investigation. *J Clin Exp Dent* 2019, 11: 113-8.
84. Cochrane N, Cai F, Huq N, Burrow M, Reynolds E. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 2010, 89: 1187-97.
85. Eisenburger M, Addy M, Hughes J, Shellis R. Effect of time on the remineralisation of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. *Caries Res* 2001, 35: 211-5.
86. Huang S, Gao S, Yu H. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater* 2009, 4: 034104.
87. Keskin G. Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat ve amelogeninin mine remineralizasyonuna etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Pedodonti Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2014.
88. Ten Cate J, Duijsters P. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. *Caries Res* 1983, 17: 193-9.
89. Hutton W, Linscott B, Williams D. The Brantford fluorine experiment. Interim report after five years of water fluoridation. *Can J Public Health* 1951, 42: 81-7.
90. Lynch R, Navada R, Walia R. Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes. *Int Dent J* 2004, 54: 304-9.
91. Ganss C, Klimek J, Brune V, Schürmann A. Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res* 2004, 38: 561-6.
92. Ganss C, Hardt M, Lussi A, Cocks A, Klimek J, Schlueter N. Mechanism of action of tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in dentine - an in vitro tin-uptake, tissue loss, and scanning electron microscopy study. *Eur J Oral Sci* 2010, 118: 376-84.

93. Walsh T, Worthington H, Glenny A, Marinho V, Jeroncio A. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane Database Syst Rev* 2019, 3: 68-78.
94. Aldhaian B, Balhaddad A, Alfaifi A, Levon J, Eckert G, Hara A, Lippert F. In vitro demineralization prevention by fluoride and silver nanoparticles when applied to sound enamel and enamel caries-like lesions of varying severities. *J Dent* 2021, 104: 103536.
95. Gao S, Zhao I, Hiraishi N, Duangthip D, Mei M, Lo E, Chu C. Clinical Trials of Silver Diamine Fluoride in Arresting Caries among Children: A Systematic Review. *J JDR Clin Trans Res* 2016, 1: 201-10.
96. Cunha W A, Palma L, Shitsuka C, Corrêa F, Duarte D, Corrêa M. Efficacy of silver diamine fluoride and sodium fluoride in inhibiting enamel erosion: an ex vivo study with primary teeth. *Eur Arch Paediatr Dent* 2021, 22: 387-92.
97. Buzalaf M, de Moraes Italiani F, Kato M, Martinhon C, Magalhães A. Effect of iron on inhibition of acid demineralisation of bovine dental enamel in vitro. *Arch Oral Biol* 2006, 51: 844-8.
98. Kato M, Maria A, Sales-Peres S, Buzalaf M. Effect of iron on the dissolution of bovine enamel powder in vitro by carbonated beverages. *Arch Oral Biol* 2007, 52: 614-7.
99. Söderling E, Isokangas P, Pienihäkkinen K, Tenovuo J. Influence of maternal xylitol consumption on acquisition of mutans streptococci by infants. *J Dent Res* 2000, 79: 882-7.
100. Mäkinen K, Saag M, Isotupa K, Olak J, Nömmela R, Söderling E, Mäkinen PL. Similarity of the effects of erythritol and xylitol on some risk factors of dental caries. *Caries Res* 2005, 39: 207-15.
101. Gaffar A, Blake-Haskins J, Sullivan R, Simone A, Schmidt R, Saunders F. Cariostatic effects of a xylitol/NaF dentifrice in vivo. *Int Dent J* 1998, 48: 32-9.
102. Sano H, Nakashima S, Songpaisan Y, Phantumvanit P. Effect of a xylitol and fluoride containing toothpaste on the remineralization of human enamel in vitro. *J Oral Sci* 2007, 49: 67-73.
103. Chunmuang S, Jitpukdeebodintr S, Chuenarrom C, Benjakul P. Effect of xylitol and fluoride on enamel erosion in vitro. *J Oral Sci* 2007, 49: 293-7.
104. Amaechi B, Higham S, Edgar W. The influence of xylitol and fluoride on dental erosion in vitro. *Arch Oral Biol* 1998, 43: 157-61.

105. Takatsuka T, Exterkate R, ten Cate J. Effects of Isomalt on enamel de- and remineralization, a combined in vitro pH-cycling model and in situ study. *Clin Oral Investig* 2008, 12: 173-7.
106. Hayes M, Roberts K. The breakdown of glucose, xylitol and other sugar alcohols by human dental plaque bacteria. *Arch Oral Biol* 1978, 23: 445-51.
107. Splieth C, Alkilzy M, Schmitt J, Berndt C, Welk A. Effect of xylitol and sorbitol on plaque acidogenesis. *Quintessence Int* 2009, 40: 279-85.
108. Gonçalves N, Del Bel Cury A, Simões G, Hara A, Rosalen P, Cury J. Effect of xylitol:sorbitol on fluoride enamel demineralization reduction in situ. *J Dent* 2006, 34: 662-7.
109. Arnaud T, de Barros Neto B, Diniz F. Chitosan effect on dental enamel remineralization: an in vitro evaluation. *J Dent* 2010, 38: 848-52.
110. Hayashi Y, Ohara N, Ganno T, Yamaguchi K, Ishizaki T, Nakamura T, Sato M. Chewing chitosan-containing gum effectively inhibits the growth of cariogenic bacteria. *Arch Oral Biol* 2007, 52: 290-4.
111. Ramadhany Y, Achmad H, Khairunnisa P, Mardiana M. The efficacy of chitosan toothpaste based white shrimp (*litopenaeus vannamei*) to decrease streptococcus mutans colonies in children with early childhood caries. *Advances in Health Sciences Research* 2018, 4: 77-84
112. Bae K, Jun E, Lee S, Paik D, Kim J. Effect of water-soluble reduced chitosan on Streptococcus mutans, plaque regrowth and biofilm vitality. *Clin Oral Investig* 2006, 10: 102-7.
113. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Combined effects of nano-hydroxyapatite and Galla chinensis on remineralisation of initial enamel lesion in vitro. *J Dent* 2010, 38: 811-9.
114. Xie Q, Li JY, Zuo Y, Zhou X. The effect of galla chinensis on the growth of cariogenic bacteria in vitro. *Hua xi kou qiang yi xue za zhi* 2005, 23: 82-4.
115. Strålfors A. Inhibition of hamster caries by cocoa. Caries inhibition of water and alcohol extracts of cocoa. *Arch Oral Biol* 1966, 11: 323-8.
116. Amaechi B, Porteous N, Ramalingam K, Mensinkai P, Ccahuana Vasquez R, Sadeghpour A, Nakamoto T. Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Res* 2013, 47: 399-405.

117. Lakshmi A, Vishnurekha C, Baghkomeh P. Effect of theobromine in antimicrobial activity: An in vitro study. *Dent Res J* 2019, 16: 76-80.
118. Xie Q, Bedran-Russo A, Wu C. In vitro remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries. *J Dent* 2008, 36: 900-6.
119. Mirkarimi M, Eskandarion S, Bargrizan M, Delazar A, Kharazifard M. Remineralization of artificial caries in primary teeth by grape seed extract: an in vitro study. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2013, 7: 206-10.
120. Rubel M, Prashant G, Kumar P, VH S, Imranulla M, Potlia I, Mallick S. Effect of grape seed extract on remineralization of artificial caries: An in-vitro study. *Asian J Pharm Clin Res* 2016, 9: 174-6.
121. Zulhendri F, Felitti R, Fearnley J, Ravalia M. The use of propolis in dentistry, oral health, and medicine: A review. *J Oral Biosci* 2021, 63: 23-34.
122. Abbasi A, Mohammadi F, Bayat M, Gema S, Ghadirian H, Seifi H, Bayat H, Bahrani N. Applications of propolis in dentistry: A review. *Ethiop J Health Sci* 2018, 28: 505-12.
123. Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of Propolis on Dental Caries in Rats. *Caries Res* 1991, 25: 347-51.
124. Botushanov P, Grigorov G, Aleksandrov G. A clinical study of a silicate toothpaste with extract from propolis. *Folia Med* 2001, 43: 28-30.
125. Giamalia I, Steinberg D, Grobler S, Gedalia I. The effect of propolis exposure on microhardness of human enamel in vitro. *J Oral Rehabil* 1999, 26: 941-3.
126. Wassel M, Khattab M. Antibacterial activity against Streptococcus mutans and inhibition of bacterial induced enamel demineralization of propolis, miswak, and chitosan nanoparticles based dental varnishes. *J Adv Res* 2017, 8: 387-92.
127. Soekanto S, Husniah N, Purwanti L, Sulistyani N, Hermansyah H, Wijanarko A, Sahlan M. Tooth coating gel with casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate and propolis to prevent dental caries. *J Int Dent Med Res* 2019, 12: 1298-304.
128. Aprillia I, Ricardo S, Setiadi K. Preventing enamel demineralization using propolis fluoride and sodium fluoride varnishes: A comparison. *Journal of Indonesian Dental Association* 2021, 4: 15-20.
129. Hajiahmadi M, Faghri J, Salehi Z, Heidari F. Comparative evaluation of antibacterial effect of propolis and aloe vera, xylitol, and cpp-acp gels on streptococcus mutans and lactobacillus in vitro. *Int J Dent* 2021, 2021: 5842600.

130. Al-Maweri S, Nassani M, Alaizari N, Kalakonda B, Al-Shamiri H. Efficacy of aloe vera mouthwash versus chlorhexidine on plaque and gingivitis: A systematic review. *Int J Dent Hyg* 2020, 18: 44-51.
131. Burwell A, Litkowski L, Greenspan D. Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin): remineralization potential. *Adv Dent Res* 2009, 21: 35-9.
132. Wang Y, Mei L, Gong L, Li J, He S, Ji Y, Sun W. Remineralization of early enamel caries lesions using different bioactive elements containing toothpastes: An in vitro study. *Technol Health Care* 2016, 24: 701-11.
133. Diamanti I, Koletsi-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: 671-7.
134. Wang Y, Li X, Chang J, Wu C, Deng Y. Effect of tricalcium silicate (Ca_3SiO_5) bioactive material on reducing enamel demineralization: an in vitro pH-cycling study. *J Dent* 2012, 40: 1119-26.
135. Chiang Y, Chen H, Liu H, Kang S, Lee B, Lin F, Lin H, Lin C. A novel mesoporous biomaterial for treating dentin hypersensitivity. *J Dent Res* 2010, 89: 236-40.
136. Roveri N, Battistella E, Bianchi C, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, Lelli M, Naldoni A, Palazzo B, Rimondini L. Surface enamel remineralization: Biomimetic apatite nanocrystals and fluoride ions different effects. *Journal of Nanomaterials* 2009, 2009: 1-9.
137. Tschoppe P, Zandim D, Martus P, Kielbassa A. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent* 2011, 39: 430-7.
138. Yuan P, Shen X, Liu J, Hou Y, Zhu M, Huang J, Pingping X. Effects of dentifrice containing hydroxyapatite on dentinal tubule occlusion and aqueous hexavalent chromium cations sorption: a preliminary study. *PloS One* 2012, 7: e45283.
139. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res* 2011, 45: 460-8.
140. King N, Itthagarun A, Cheung M. Remineralization by nanohydroxyapatite-containing dentifrice: A pH cycling study using slurry. *J Dent Res* 2006, 85.
141. Reynolds E. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997, 76: 1587-95.

142. Kumar V, Itthagarun A, King N. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aust Dent J* 2008, 53: 34-40.
143. Velagala D, Reddy V, Achanta A, Snehika G, Ramavath B, Mareddy R. Enamel erosion: A possible preventive approach by casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate-an in vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent* 2020, 13: 486-92.
144. Reynolds E, Cain C, Webber F, Black C, Riley P, Johnson I, Perich J. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995, 74: 1272-9.
145. 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: 405-13.
146. Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds E. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res* 2004, 38: 551-6.
147. Cross K, Huq N, Stanton D, Sum M, Reynolds E. NMR studies of a novel calcium, phosphate and fluoride delivery vehicle- α S1-casein(59–79) by stabilized amorphous calcium fluoride phosphate nanocomplexes. *Biomaterials* 2004, 25: 5061-9.
148. Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan S. Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: An in situ study. *Arch Oral Biol* 2010, 55: 541-4.
149. Cochrane N, Saranathan S, Cai F, Cross K, Reynolds E. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res* 2008, 42: 88-97.
150. Somani R, Jaidka S, Singh DJ, Arora V. Remineralizing potential of various agents on dental erosion. *J Oral Biol Craniofac Res* 2014, 4: 104-8.
151. Walsh L. Contemporary technologies for remineralization therapies: A review. *Int Dent SA* 2009, 11: 6-16.
152. Rehder Neto F, Maeda F, Turssi C, Serra M. Potential agents to control enamel caries-like lesions. *J Dent* 2009, 37: 786-90.
153. Amaechi B, Van Loveren C. Fluorides and non-fluoride remineralization systems. *Monogr Oral Sci* 2013, 23: 15-26.

154. Lussi A, Megert B, Longbottom C, Reich E, Francescut P. Clinical performance of a laser fluorescence device for detection of occlusal caries lesions. *Eur J Oral Sci* 2001, 109: 14-9.
155. Schlueter N, Hara A, Shellis R, Ganss C. Methods for the Measurement and Characterization of Erosion in Enamel and Dentine. *Caries Res* 2011, 45: 13-23.
156. Elton V, Cooper L, Higham S, Pender N. Validation of enamel erosion in vitro. *J Dent* 2009, 37: 336-41.
157. Arends J, Ten Bosch J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 1992, 71 Spec No: 924-8.
158. Arends J, Ruben J, Inaba D. Major topics in quantitative microradiography of enamel and dentin: R parameter, mineral distribution visualization, and hyper-remineralization. *Adv Dent Res* 1997, 11: 403-14.
159. Hall A, Sadler J, Strang R, de Josselin de Jong E, Foye R, Creanor S. Application of transverse microradiography for measurement of mineral loss by acid erosion. *Adv Dent Res* 1997, 11: 420-5.
160. Amaechi B, Higham S, Edgar W. Use of transverse microradiography to quantify mineral loss by erosion in bovine enamel. *Caries Res* 1998, 32: 351-6.
161. Darling CL, Le CQ, Featherstone JD, Fried D. An automated digital microradiography system for assessing tooth demineralization. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng* 2009, 7162: 71620T.
162. Brudevold F. A study of the phosphate solubility of the human enamel surface. *J Dent Res* 1948, 27: 320-9.
163. Featherstone J, ten Cate J, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 1983, 17: 385-91.
164. Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. *Eur J Oral Sci* 2000, 108: 110-4.
165. Maggio B, Guibert R, Mason S, Karwal R, Rees G, Kelly S, Zero D. Evaluation of mouthrinse and dentifrice regimens in an in situ erosion remineralisation model. *J Dent* 2010, 38 Suppl 3: S37-44.
166. Attin T, Becker K, Hannig C, Buchalla W, Hilgers R. Method to detect minimal amounts of calcium dissolved in acidic solutions. *Caries Res* 2005, 39: 432-6.

167. Grenby T. Methods of assessing erosion and erosive potential. *Eur J Oral Sci* 1996, 104: 207-14.
168. Bjelkhagen H, Sundström F, Angmar-Månsson B, Rydén H. Early detection of enamel caries by the luminescence excited by visible laser light. *Swed Dent J* 1982, 6: 1-7.
169. Lussi A, Hibst R, Paulus R. DIAGNOdent: an optical method for caries detection. *J Dent Res* 2004, 83: 80-3.
170. Stookey G. Quantitative light fluorescence: a technology for early monitoring of the caries process. *Dent Clin North Am* 2005, 49: 753-70.
171. Watson T. Applications of confocal scanning optical microscopy to dentistry. *Br Dent J* 1991, 171: 287-91.
172. Paris S, Meyer-Lueckel H, Mueller J, Hummel M, Kielbassa A. Progression of sealed initial bovine enamel lesions under demineralizing conditions in vitro. *Caries Res* 2006, 40: 124-9.
173. Shimada Y, Sadr A, Sumi Y, Tagami J. Application of optical coherence tomography (oct) for diagnosis of caries, cracks, and defects of restorations. *Curr Oral Health Rep* 2015, 2: 73-80.
174. Huang D, Swanson E, Lin C, Schuman J, Stinson W, Chang W, Hee M, Flotte T, Gregory K, Puliafito C, Fujimoto J. Optical coherence tomography. *Science* 1991, 254: 1178-81.
175. Wilder-Smith C, Wilder-Smith P, Kawakami-Wong H, Voronets J, Osann K, Lussi A. Quantification of dental erosions in patients with GERD using optical coherence tomography before and after double-blind, randomized treatment with esomeprazole or placebo. *Am J Gastroenterol* 2009, 104: 2788-95.
176. Yavuz BS, Kargul B. Erken çürük lezyonlarının görüntülenmesinde ve değerlendirilmesinde optik koherens tomografi (OCT)'nin kullanımı. *Çürük Tespitinde Güncel Yaklaşımlar* 2019, 5: 38-44.
177. McMullan D. Scanning electron microscopy 1928–1965. *Scanning* 1995, 17: 175-85.
178. Dunlap M, JE A. Introduction to the scanning electron microscope: Theory, practise & procedures. . In: *Facility for Advance Instrumentation* 1997, 52.
179. Joshi M, Joshi N, Kathariya R, Angadi P, Raikar S. Techniques to Evaluate Dental Erosion: A Systematic Review of Literature. *J Clin Diagn Res* 2016, 10: ZE01-ZE7.

180. Najibfard K, Ramalingam K, Chedjieu I, Amaechi B. Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *J Clin Dent* 2011, 22: 139-43.
181. Patil N, Choudhari S, Kulkarni S, Joshi S. Comparative evaluation of remineralizing potential of three agents on artificially demineralized human enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2013, 16: 116-20.
182. Lelli M, Putignano A, Marchetti M, Foltran I, Mangani F, Procaccini M, Procaccini M, Roveri N, Orsini G. Remineralization and repair of enamel surface by biomimetic Zn-carbonate hydroxyapatite containing toothpaste: a comparative in vivo study. *Front Physiol* 2014, 5: 333.
183. Barbour M, Rees J. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent* 2004, 32: 591-602.
184. Webb S. From the watching of shadows: the origins of radiological tomography: CRC Press; 1990.
185. Hounsfield G. Method of an apparatus for examining a body by radiation such as x or gamma radiation. 1975.
186. Elliott J, Dover S. X-ray microtomography. *J Microsc* 1982, 126: 211-3.
187. Magne P. Efficient 3D finite element analysis of dental restorative procedures using micro-CT data. *Dent Mater* 2007, 23: 539-48.
188. Parsa A, Ibrahim N, Hassan B, van der Stelt P, Wismeijer D. Bone quality evaluation at dental implant site using multislice CT, micro-CT, and cone beam CT. *Clin Oral Implants Res* 2015, 26: 1-7.
189. Özkan G, Kanli A, Başeren N, Arslan U, Tatar I. Validation of micro-computed tomography for occlusal caries detection: an in vitro study. *Braz Oral Res* 2015, 29: 01-7.
190. Keleş A, Keskin C, Versiani M. Micro-CT assessment of radicular pulp calcifications in extracted maxillary first molar teeth. *Clin Oral Investig* 2021: 1-8.
191. Esentürk G, Akkas E, Cubukcu E, Nagas E, Uyanik O, Cehreli Z. A micro-computed tomographic assessment of root canal preparation with conventional and different rotary files in primary teeth and young permanent teeth. *Int J Paediatr Dent* 2020, 30: 202-8.
192. Ribeiro T, Costa F, Soares E, Williams J, Fonteles C. Enamel and dentin mineralization in familial hypophosphatemic rickets: a micro-CT study. *Dentomaxillofac Radiol* 2015, 44: 20140347.

193. Swain M, Xue J. State of the art of Micro-CT applications in dental research. *Int J Oral Sci* 2009, 1: 177-88.
194. Neves Ade A, Coutinho E, Vivan Cardoso M, Jaecques S, Van Meerbeek B. Micro-CT based quantitative evaluation of caries excavation. *Dent Mater* 2010, 26: 579-88.
195. Schwass D, Swain M, Purton D, Leichter J. A system of calibrating microtomography for use in caries research. *Caries Res* 2009, 43: 314-21.
196. González-Sotelo A, Contreras-Bulnes R, Rodríguez-Vilchis L, Moyaho-Bernal M, Rubio-Rosas E, Cerna-Cortez J. Enamel demineralization model in primary teeth: Micro-CT and SEM assessments of artificial incipient lesion. *Microsc Res Tech* 2021.
197. Nakamura K, Hamba H, Miyayoshi Y, Ishizuka H, Muramatsu T. In vitro remineralization of enamel with a solution containing casein and fluoride. *Dent Mater J* 2021, 40: 1109-14.
198. Ten Cate J. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. *Dental caries: the disease and its clinical management* 2003.
199. Featherstone J. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater* 1996, 12: 194-7.
200. Barac R, Gasic J, Trutic N, Sunaric S, Popovic J, Djekic P, Radenkovic G, Mitic A. Erosive effect of different soft drinks on enamel surface in vitro: Application of stylus profilometry. *Med Princ Pract* 2015, 24: 451-7.
201. Çubukcu C E. Neden Koruyucu Dişhekimliği? *HÜ Toplum Hekimliği Bülteni* 2003, 1: 22-1.
202. Karabekiroğlu S, Unlu N. The importance and role of early prevention practices in community-based preventive oral health programs. *EÜ Dişhek Fak Derg* 2017, 38: 89-100.
203. Akar Ç. Türkiye’de ağız-diş sağlığı hizmetlerinin strateji değerlendirmesi. *Türk Dişhekimleri Birliği Yayınları, Araştırma Dizisi* 2014, 9.
204. Armfield J, Roberts-Thomson K, Spencer A. Australia’s Health 2000: the seventh biennial health report of the Australian Institute of Health and Welfare. *Canberra: Australian Institute of Health and Welfare* 2000.
205. Wongkhantee S, Patanapiradej V, Maneenut C, Tantbirojn D. Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials. *J Dent* 2006, 34: 214-20.

206. Stecksén-Blicks C, Arvidsson S, Holm A. Dental health, dental care, and dietary habits in children in different parts of Sweden. *Acta Odontol Scand* 1985, 43: 59-67.
207. Rainey J. Air abrasion: an emerging standard of care in conservative operative dentistry. *Dent Clin North Am* 2002, 46: 185-209, v.
208. Lo E, Zhi Q, Itthagarun A. Comparing two quantitative methods for studying remineralization of artificial caries. *J Dent* 2010, 38: 352-9.
209. Argenta R, Tabchoury C, Cury J. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesqui Odontol Bras* 2003, 17: 241-6.
210. Zero D. In situ caries models. *Adv Dent Res* 1995, 9: 214-30.
211. Lynch R, Mony U, Ten Cate J. Effect of lesion characteristics and mineralising solution type on enamel remineralisation in vitro. *Caries Res* 2007, 41: 257-62.
212. Thaveesangpanich P, Itthagarun A, King N, Wefel J, Tay F. In vitro model for evaluating the effect of child formula toothpastes on artificial caries in primary dentition enamel. *Am J Dent* 2005, 18: 212-6.
213. Itthagarun A, King N, Rana R. Effects of child formula dentifrices on artificial caries like lesions using in vitro pH-cycling: preliminary results. *Int Dent J* 2007, 57: 307-13.
214. Hooper S, Seong J, Macdonald E, Claydon N, Hellin N, Barker M, He T, West N. A randomised in situ trial, measuring the anti-erosive properties of a stannous-containing sodium fluoride dentifrice compared with a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice. *Int Dent J* 2014, 64: 35-42.
215. Ziskind D, Gleitman J, Rotstein I, Friedman M. Evaluation of cetylpyridinium chloride for infection control in storage solution. *J Oral Rehabil* 2003, 30: 477-81.
216. Moura J, Rodrigues L, Cury A, Lima E, Garcia R. Influence of storage solution on enamel demineralization submitted to pH cycling. *J Appl Oral Sci* 2004, 12: 205-8.
217. de Melo Maranhão K, Klautau E, Pereira P, Guimarães R, Pantoja V. The effect of storage solutions on enamel of bovine teeth. *Salusvita, Bauru* 2009, 28: 129-34.
218. Gomez J, Pretty I, Santarpia R, Cantore B, Rege A, Petrou I, Ellwood R. Quantitative light-induced fluorescence to measure enamel remineralization in vitro. *Caries Res* 2014, 48: 223-7.
219. Thaveesangpanich P, Itthagarun A, King N, Wefel J. The effects of child formula toothpastes on enamel caries using two in vitro pH-cycling models. *Int Dent J* 2005, 55: 217-23.

220. Watanabe K. Longitudinal evaluation of mineral loss at the earliest stage of enamel demineralization using micro-computed tomography. *Health* 2012, 04: 334-40.
221. Agrawal N, Shashikiran N, Singla S, Ravi K, Kulkarni V. Atomic force microscopic comparison of remineralization with casein-phosphopeptide amorphous calcium phosphate paste, acidulated phosphate fluoride gel and iron supplement in primary and permanent teeth: An in-vitro study. *Contemp Clin Dent* 2014, 5: 75-80.
222. Jensdottir T, Holbrook P, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A. Immediate erosive potential of cola drinks and orange juices J Dent Res 2006, 85: 226-30.
223. Songsiripradubboon S, Hamba H, Trairatvorakul C, Tagami J. Sodium fluoride mouthrinse used twice daily increased incipient caries lesion remineralization in an in situ model. *J Dent* 2014, 42: 271-8.
224. Kargul B, Altinok B, Welbury R. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel surface rehardening. An in vitro study. *Eur J Paediatr Dent* 2012, 13: 123-7.
225. Somani R, Jaidka S, Singh D, Arora V. Remineralizing potential of various agents on dental erosion. *J Oral Biol Craniofac Res* 2014, 4: 104-8.
226. Poggio C, Lombardini M, Dagna A, Chiesa M, Bianchi S. Protective effect on enamel demineralization of a CPP-ACP paste: an AFM in vitro study. *J Dent* 2009, 37: 949-54.
227. Silva T, Fonseca B, Sales A, Holleben P, Valera M, AraÚjo M. Effects of fluoride and Aloe vera tooth gel in artificial white spot lesions in vitro. *Rev Gaúch Odontol* 2016, 64: 56-61.
228. Ranjana B, Chowdhary N, Kiran N, Chaitan S, Reddy V, Prabakar T. Remineralization efficacy of nonfluoride versus herbal-based pediatric dentifrice in demineralized primary teeth. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2021, 39: 67.
229. Davis G, Wong F. X-ray microtomography of bones and teeth. *Physiol Meas* 1996, 17: 121.
230. Liu B, Lo E, Li C. Effect of silver and fluoride ions on enamel demineralization: a quantitative study using micro-computed tomography. *Aust Dent J* 2012, 57: 65-70.
231. S. M. Teobromin İçeren diş macununun remineralizasyon potansiyelinin değerlendirilmesi. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı. Doktora Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, 2014.

232. Nakata K, Nikaido T, Nakashima S, Nango N, Tagami J. An approach to normalizing micro-CT depth profiles of mineral density for monitoring enamel remineralization progress. *Dent Mater J* 2012, 31: 533-40.
233. Zhi Q, Lo E, Kwok A. An in vitro study of silver and fluoride ions on remineralization of demineralized enamel and dentine. *Aust Dent J* 2013, 58: 50-6.
234. Wang X, Megert B, Hellwig E, Neuhaus K, Lussi A. Preventing erosion with novel agents. *J Dent* 2011, 39: 163-70.
235. Çetin B, Avşar A, Ulusoy A. Kazein İçerikli Besinler Ve Dental Ürünler. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.* 2011, 2011: 24-31.
236. Çetin N, Tekçiçek M, Turgut M. In vitro evaluation of the effect of xylitol and fluoride on the dental erosion caused by an acidic beverage *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2007, 31: 95-103.

EKLER

EK 1. Özgeçmiş Formu

EK 2. Etik Kurul Kararı

