



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ

UZMANLIK TEZİ

**NANO GÜMÜŞ FLORÜRÜN FARKLI FLOR AJANLARI İLE
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK REMİNERALİZASYON
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Bahar Melis AKYILDIZ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ

AYDIN-2016

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**NANO GÜMÜŞ FLORÜRÜN FARKLI FLOR AJANLARI İLE
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK REMİNERALİZASYON
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Bahar Melis AKYILDIZ
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
DHF-15001 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

Çocuk Diş Hekimliği Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşğıdaki jüri tarafından ‘‘Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi’’ olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18 / 10 / 2016

Jüri Başkanı Prof.Dr.Ece EDEN

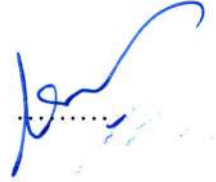
Ege Üniversitesi



Diş Hekimliği Faköltesi

Tez.Danışmanı Prof.Dr.Işıl SÖNMEZ

Adnan Menderes Üniversitesi



Üye:

Diş Hekimliği Faköltesi

Üye : Yrd.Doç.Dr.K.Görkem
ULU GÜZEL

Adnan Menderes Üniversitesi



Diş Hekimliği Faköltesi

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde büyük emeği geçen, yardımlarını ve sevgisini, hoşgörüsünü ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli hocam Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı, Sayın Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ'e;

Tezimin yapım aşamasında yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ve tanıdığım için kendimi şanslı hissettiği değerli hocam Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Organik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Yüksel ŞAHİN ve Anabilim dalı çalışanlarına;

Bilgi birikimlerini sabır ve anlayışla paylaşarak bana bu süre boyunca destek olan değerli hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Kadriye Görkem ULU GÜZEL'e;

Uzmanlık eğitimim süresince kıymetli bilimsel ve mesleki tecrübelerinden yararlandığım, her zaman güler yüzüyle beni aydınlatan değerli hocam Ortodonti Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Alev YILMAZ'a;

Laboratuvar koşullarının sağlanmasında tüm yardım ve desteklerini sunan Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Bülent BOZDOĞAN ve ekibine; Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı çalışanı Sayın Neslihan KARACA'ya;

Tez süresince kimyasal solüsyonlarının hazırlanmasında yardımlarını ve imkanlarını esirgemeyen Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı Öğr. Gör. Dr. Mert SOYSAL'a;

Mikrosertlik değerlendirmelerinde yardımlarını eksik etmeyen İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Makine Mühendisliği Anabilim Dalı Mekanik Laboratuvarı çalışanlarına;

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) çalışmalarındaki yardımlarından ötürü Dokuz Eylül Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı çalışanlarına,

Tez konumu proje olarak değerlendirerek destekleyen ve tez çalışmalarımın maddi giderlerini karşılayan Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına;

İstatistik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen olan sevgili Arş. Gör. Dr. Ayşe TAŞ'a;

Örneklerin hazırlanmasında ve teknik konularda bilgisine başvurduğum, her zaman güler yüzle yardımcı olan ortodonti teknisyeni Emrah KARAÇAYIR'a;

Hem uzmanlık sınavına hazırlık aşamasında hem tez yapım aşamalarında emeklerini ödeyemeyeceğim canım arkadaşım Uzm. Dt. Melike KAN'a;

Uzmanlık eğitimim boyunca sevgilerini ve yardımlarını esirgemeyen canım dostlarım Ortodonti Anabilim Dalı Araş. Gör. Dt. Yonca SUNGUR ve Dt. Begüm TUNASOYLU'na,

Özenle seçilerek aynı ortamda buluşturulmuş, her biri birbirinden özel, değerli ve sabırlı asistan arkadaşlarıma ve uzmanlık eğitimim boyunca içtenlikle gösterdikleri destek ve yardımlarından ötürü tüm ADÜ Pedodonti ailesine;

Her zaman yanımda olduğunu bildiğim ve beraber çalışmaktan çok keyif aldığım, her türlü nazımı çeken canım arkadaşım sevgili Dt. Gülçin DOĞUSAL'a,

Mesafelere rağmen desteklerini hep hissettiren canım ailem, teyzelerim ve kuzenlerime;

Hayatım boyunca her konuda ve attığım her adımda bana duydukları güveni hissettiren, her zaman yanımda olan, beni en iyi koşullarda büyütüp yetiştiren, teşekkürlerin yetersiz kalacağı canım annem Sevgi AKYILDIZ ve canım babam Niyazi AKYILDIZ'a; her anımda desteğini hissettiğim iyiki var dediğim canım kardeşim Hazar AKYILDIZ ve küçük kardeş Zeynep AKYILDIZ'a;

Ve çok özlediğim canım nenoşum Fazile GÜNDOĞAN'a;

ŞÜKRAN VE TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
EKLER DİZİNİ	xiv
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Minenin Yapısı	2
2.2. Başlangıç Evresindeki Mine Çürüğünün Oluşumu	2
2.3. Yapay Çürük Oluşturma Yöntemleri	4
2.3.1. Asit Tamponların Kullanıldığı In-Vitro Demineralizasyon Modeli	4
2.3.2. Bakteriler Tarafından Üretilen Asitlerin Kullanıldığı (Bakteriyolojik) İn Vitro Demineralizasyon Modeli	5
2.3.3. pH Siklus Modelinin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon/Remineralizasyon Modelleri	5
2.3.4. Yapay Çene Modelleri	6
2.3.5. İn Vivo Hayvan Modelleri	6
2.3.6. İnsan Çenesinde In Situ Çalışmalar	6
2.3.7. Çekimi Planlanmış Dişlerde Yapılan Çalışmalar	7
2.4. Mine Remineralizasyonu	7

2.4.1. Mine Remineralizasyonunda Kullanılan Materyaller.....	8
2.4.1.1. Flor içerikli ajanlar.....	8
2.4.1.1.1. Florun etki mekanizması.....	9
2.4.1.1.1.1. Florun mine dokusu üzerine etkisi.....	9
2.4.1.1.1.2. Florun remineralizasyon üzerine etkisi.....	10
2.4.1.1.1.3. Florun tükürük üzerine etkisi.....	10
2.4.1.1.1.4. Florun bakteri plağı üzerine etkisi.....	11
2.4.1.1.2. Flor uygulama yöntemleri.....	11
2.4.1.1.2.1. Sistemik flor uygulamaları.....	11
2.4.1.1.2.2. Topikal flor uygulamaları.....	12
2.4.1.1.2.2.1. Florlu vernikler.....	12
2.4.1.1.2.2.2. Gümüş ve gümüş bileşikleri.....	13
2.4.1.1.2.2.3. Gümüş diamin florür (GDF).....	14
2.4.1.1.2.2.3.1. Gümüş diamin florürün etki mekanizması.....	15
2.4.1.1.2.2.3.1.1. Gümüş diamin florürün bakteriler üzerine etkisi.....	15
2.4.1.1.2.2.3.1.2. Gümüş diamin florürün diş dokuları üzerine etkisi.....	15
2.4.1.1.2.2.4. Nano gümüş florür (NGF).....	16
2.4.1.1.2.2.4.1. Nano gümüş partiküllerin diş hekimliğinde kullanımı.....	17
2.4.1.1.2.2.4.2. Kitosanın diş hekimliğinde kullanımı.....	17
2.5. Demineralizasyon ve Diş Minesi Mineral Yapısının İncelenme Yöntemleri.....	19
2.5.1. İyot Geçirgenlik Testi.....	19
2.5.2. Polarize Işık Mikroskopu.....	19
2.5.3. Mikroradyografi.....	19
2.5.4. Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop (CLSM).....	20
2.5.5. Kantitatif Işık Etkili Floresans (QLF) Yöntemi.....	20
2.5.6. Lazer Floresans.....	20

2.5.7. Dijital Fiber Optik Transluminasyon (DIFOTI)	21
2.5.8. Mikrosertlik.....	21
2.5.9. Enerji Yayımlı X-Işını Spektroskopisi (EDS)	22
2.5.10. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	22
2.5.11. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Micro Computed Tomography) (μ CT)	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Diş Örnek Sayısının Belirlenmesi.....	24
3.2. Mine Örneklerinin Toplanması.....	24
3.3. Mine Örneklerinin Hazırlanması	24
3.4. Grupların Oluşturulması	27
3.5. Başlangıç Mikrosertlik Ölçümlerinin Yapılması	28
3.6. Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması ve Başlangıç Mine Lezyonlarının Oluşturulması	29
3.7. Demineralizasyon Sonrası Mikrosertlik Ölçümlerinin Yapılması.....	30
3.8. Ph Siklusu İçin Demineralizasyon/Remineralizasyon Solüsyonlarının Hazırlanması... ..	30
3.9. Remineralizasyon Ajanlarının Uygulanması	31
3.9.1. Duraphat Vernik Uygulanması	31
3.9.2. Gümüş Diamin Florürün Uygulanması.....	31
3.9.3. Nano Gümüş Florür Solüsyonunun Hazırlanması ve Uygulanması	32
3.9.4. Kontrol Grubuna Deiyonize Su Uygulanması	35
3.10. pH Siklusu.....	35
3.11. pH siklusu sonrası mikrosertlik ölçümlerinin yapılması	36
3.12. SEM Örneklerinin Hazırlanması.....	36
3.13. SEM Örneklerinin Değerlendirilmesi	37
3.14. İstatistiksel Değerlendirme	38

4. BULGULAR.....	39
4.1. Mikrosertlik Testi Bulguları (Vickers Değerinde).....	39
4.2. SEM Bulguları	45
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR	67
EKLER.....	90
ÖZGEÇMİŞ	91



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

$(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$	: Amonyum heksaflorosilikat
$(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	: Kalsiyum nitrat tetra hidrat
%	: Yüzde
<	: 'den küçüktür
>	: 'den büyüktür
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat derece
$\text{\AA}$	: Angstrom
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Ag	: Gümüş
AgF	: Gümüş florür
AgNO_3	: Gümüş Nitrat
Al_2O_3	: Alüminyum oksit
APF	: Asidüle fosfat florür
Ca	: Kalsiyum
CaCl_2	: Kalsiyum klorür
CaPO_4	: KalsiyumFosfat
CLSM	: Confocal Laser Scanning Microscopy (Konfokal lazer taramalı Mikroskop)
DIFOTI	: Dijital Fiber Optik Transluminasyon
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
E.Coli	: Escherichia Coli
EDS	: Enerji Dispersive X-ray Spectrometry (Enerji Yayılımlı X Işını Spektroskopisi)
F	: Flor
FDA	: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)
FV	: Florlu vernik
GDF	: Gümüş diamin florür
Gr	: Gram
KCl	: Potasyum klorür
Kg	: Kilogram
KHN	: Knopp sertlik değeri

KI	: Potasyum iodyür
KOH	: Potasyum hidroksit
M	:molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
Mm	: Milimolar
mmol/l	: Milimol/litre
MS	: Mutans Streptokokları
NaBH₄	: Sodyum Borohidrit
NaF	: Sodyum florür
NaH₂PO₄	: Mono sodyum fosfat
NGF	: Nano gümüş florür
Nm	: Nanometre
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin gücü)
pKa	: Asitlik sabitinin eksi logaritması
PO₄	: Fosfat
ppm	: Parts Per Million(Milyonda bir)
QLF	: Kantitatif ışık etkili floresans
S.Mutans	: Streptokokus Mutans
S.Sobrinus	: Streptokokus Sobrinus
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SnF₂	: Kalay florür
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TEM	: Transmisyon elektron mikroskobu
U	: Mann-withney U test değeri
VHN	: Vickers Hardness Number (Vickers Sertlik Değeri)
Z	: Wilcoxon Z Test Değeri
μCT	: mikro bilgisayarlı tomografi
μm	: mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon ölçümlerinin tedavi gruplarına göre değişim grafiği.....	41
---	----



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Çalışmada kullanılan hassas kesme cihazı (a), bukko-lingual yönde kesim (b), mezio-distal yönde kesim (c).....	25
Resim 2. Mikrosertlik testi için hazırlanan örnekler	25
Resim 3. Çalışmada kullanılan polisaj cihazı.....	26
Resim 4. 3x3 mm’lik oluşturulan pencereler	26
Resim 5. Sodyum Florürlü vernik (Duraphat) (a), Gümüş Diamin Florür (Fagamin) (b), Nano Gümüş Florür (c)	27
Resim 6. Çalışmada kullanılan mikrosertlik cihazı.....	28
Resim 7: Örnekler 37°C’de etüvde bekletilmiştir.	29
Resim 8. Duraphat vernik uygulama sonrası örnek yüzeyi (a), Bistüri ile oluşan vernik tabakası uzaklaştırılması (b), Aseton ile kalan vernik artıkları uzaklaştırıldıktan sonra örnek yüzeyi (c)	31
Resim 9. Gümüş Diamin Florür uygulaması (a), pH siklusu sonrası GDF uygulanan örnek yüzeyi	31
Resim 10. %1’lik Asetik Asit (a), Kitosan (b), 7,5 mg Kitosan’ın 30 mL %1’lik Asetik asit içinde çözünmesi için manyetik karıştırıcıda bir gece boyunca karıştırılmıştır (c), Solüsyonun bir gece boyunca karıştırıldıktan sonraki homojen görünümü (d), Karışım vakum altında filtre edilmiştir (e), Buz banyosu içerisinde 24 saat karıştırılmıştır (f), 1 mL taze hazırlanmış 0,11 mol/L AgNO ₃ çözeltisi karışıma eklenip; 30 dakika daha karıştırıldıktan sonra, 0,3 mL taze hazırlanmış 0,8 M NaBH ₄ çözeltisi karışıma damla damla eklenmiştir (g).....	32
Resim 11. Nano Gümüş Florür içerisindeki gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüsü	33
Resim 12. NGF uygulanması (a), pH siklusu sonrası NGF uygulanmış örnek yüzeyi (b)	33
Resim 13. Deiyonize su uygulaması sonrası örnek yüzeyi (a), pH siklusu sonrası örnek yüzeyi (b).....	34
Resim 14. pH siklusu sırasında kullanılan etüv.....	34

Resim 15. SEM incelemesi için hazırlanan örnekler.....	35
Resim 16. Çalışmada kullanılan taramalı elektron mikroskobu (a), çalışmada kullanılan kaplama cihazı (b)	36
Resim 17. Sağlam mine örneğinin x2500 büyütmede SEM görüntüsü.....	43
Resim 18. Demineralizasyon sonrası yapay çürük oluşturulmuş mine yüzeyinin x2500 büyütmede SEM görüntüsü	44
Resim 19. Florürlü vernik uygulanan FV grubuna ait örneğin pH döngüsü sonrasında taramalı elektron mikroskobu ile x2500 büyütme yapılan görüntüsü	45
Resim 20. Gümüş diamin florür uygulanan GDF grubuna ait örneğin pH döngüsü sonrasında taramalı elektron mikroskobu ile x2500 büyütme yapılan görüntüsü	46
Resim 21. Nano gümüş florür uygulanan NGF grubuna ait örneğin pH döngüsü sonrası taramalı elektron mikroskobu ile x2500 büyütme yapılan görüntüsü	47
Resim 22. Kontrol grubuna ait yalnızca deiyonize su uygulanan örneğin pH döngüsü sonrasında taramalı elektron mikroskobu ile x2500 büyütme yapılan görüntüsü	48

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Grupların mikrosertlik ölçümleri sonrası ortalama, standart hata, ortanca, minimum ve maksimum değerleri.....	38
Tablo 2. Grupların Başlangıç Mikrosertlik Ölçüm Güvenilirliği.....	39
Tablo 3. Grupların Demineralizasyon Sonrası Mikrosertlik Ölçüm Güvenilirliği	39
Tablo 4. Grupların Remineralizasyon Sonrası Mikrosertlik Ölçüm Güvenilirliği.....	40
Tablo 5. Grup içi ve Gruplar Arası Mikrosertlik Değerlerinin Karşılaştırılması.....	40
Tablo 6. Tekrarlayan Ölçümlerde Grup İçi Mikrosertlik Ortalamalarının Karşılaştırılması	42
Tablo 7. Remineralizasyon Sonrası Grupların Mikrosertlik Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	42

EKLER DİZİNİ

K 1. Etik Kurul Kararı	91
-------------------------------------	-----------



ÖZET

NANO GÜMÜŞ FLORÜRÜN FARKLI FLOR AJANLARI İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK REMİNERALİZASYON ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Akyıldız BM. Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Uzmanlık Tezi, Aydın, 2016

Amaç: Çalışmamızda deneysel bir formülasyon olan nano gümüş florürün mine remineralizasyonuna etkisinin gümüş diamin florür ve sodyumflorürlü vernikle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi hedeflenmiştir. **Gereç ve Yöntem:** 45 adet daimi insan 3. büyük azı dişi bukkal-lingual ve mezio-distal yönde 4'e bölünerek 180 adet mine örneği elde edilmiştir. Örneklerin başlangıç mikrosertlik ölçümleri yapılmış ve her grupta 45 adet mine örneği olacak şekilde 4 grup [Grup NGF (Nano gümüş florür), Grup GDF (Gümüş diamin florür), Grup FV (Sodyum florürlü vernik), Grup Kontrol (deiyonize su)] oluşturulmuştur. Tüm örnekler 96 saat demineralizasyon solüsyonunda bekletilerek yapay çürük lezyonu oluşturulmuş ve demineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri kaydedilmiştir. Remineralizasyon materyalleri üreticilerin kullanım talimatlarına uygun olarak uygulanmış ve 24 saat 37°C'de nemli ortamda bekletilmiştir. Sonrasında örnekler pH döngüsüne tabi tutulmuştur, 5 gün boyunca 3 saat demineralizasyon solüsyonunda, 21 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Sonraki 2 gün ise yalnızca remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiş ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik ölçüm değerleri tekrar kaydedilmiştir. Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte, oluşan yüzey değişimlerini karşılaştırabilmek amacıyla her gruptan 4'er örnek, sağlam mine ve demineralizasyon sonrası elde edilen mine örnekleri üzerinde SEM incelemesi yapılmıştır. Tüm veriler istatistiksel olarak analiz edilmiştir. **Bulgular:** Tüm deney gruplarında uygulanan remineralizasyon materyallerinin, demineralize diş yüzeyinin mikrosertlik miktarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı gözlemlenmiştir. Remineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında; en yüksek yüzey sertlik değerleri sırası ile FV>GDF>NGF>Kontrol olarak bulunmuştur. **Sonuç:** Bu tez çalışmasına göre, tüm gruplarda uygulanan remineralizasyon materyallerinin, insan

dişlerinde oluşturulan yapay çürük lezyonları üzerinde remineralizasyonu olumlu yönde etkilediği ancak nano dümüş florürün florlu vernik ve gümüş diamin florür kadar başarılı olamadığı görölmüştür.

Anahtar Kelimeler: Nano Gümüş Florür, Gümüş Diamin Florür, Florlu Vernik, Yapay Çürük, Remineralizasyon



ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFECTIVENES OF NANO SILVER FLUORIDE ON REMINERALIZATION WITH COMPARASION DIFFERENT FLUORIDE AGENTS

**Akyıldız BM. Adnan Menderes University Faculty of Dentistry Pediatric Dentistry
Master Thesis, Aydın, 2016**

Aim: The purpose of this study was to evaluate the remineralization effect of nanosilver fluoride, which is an experimental formulation, comparable with silver diamine fluoride and sodium fluoride varnish. **Materials-Methods:** 45 sound human third molar teeth were sectioned buccolingual and mesiodistal direction and 180 specimens were gained. The initial microhardness values of the specimens were measured and specimens were divided into 4 groups [Group NGF (Nano silver fluoride), Group GDF (Silver diamine fluoride), Group FV (Sodium fluoride varnish), Group Control (Deiyonize water)] which had 45 enamel specimens each group. All specimens were placed in demineralization solution for 96 hours to produce artificial carious lesions and after demineralization process, the microhardness values of the specimens were recorded. Remineralization agents were applied according to manufacturers' instructions and all specimens were stored in a moist environment at 37°C for 24 hours. Specimens were subjected to a pH-cycling model and immersed in demineralizing solution for 3 hours, and in a remineralizing solution for 21 hours for 5 days. In the last two days, the specimens were maintained in remineralizing solution only. The microhardness values of specimens were measured after the pH-cycling regime. The microhardness values of specimens were compared before treatment, after demineralization and after remineralization. In additon, 4 specimens from each group, sound enamel and demineralized enamel were evaluated with scanning electron microscope to compare morphological changes occurring on the surface. All data were analyzed statistically. **Results:** All of the remineralization materials were found to increase the microhardness of demineralized specimens at a statistically significant level. When the microhardness values between the groups were compared; the highest microhardness surface values were detected in, respectively, FV>GDF>NGF>Control. **Conclusion:** According to the results of this study, all the remineralization materials used were found to

have a significant remineralization effect on artificial enamel caries lesions. However nano silver fluoride was not found to be effective as sodium fluoride varnish and silver diamine fluoride.

Key Words: Nano Silver Fluoride, Silver Diamine Fluoride, Fluoride Varnish, Artificial Caries, Remineralization



1. GİRİŞ

Son yıllarda pek çok gelişmiş ülkede, çocuklardaki diş çürüğü prevelansında azalma olduğu rapor edilmesine rağmen; günümüzde diş çürükleri özellikle gelişmekte olan ülkelerde büyük bir toplum sağlığı problemi oluşturmaya devam etmektedir. Diş çürüklerinin, önlenabilir bir kronik hastalık olduğu belirtilmiştir ve bu nedenle günümüzde pek çok koruyucu, önleyici ve tedavi edici yöntemler geliştirilmektedir (1).

Topikal florürler, çürük gelişimini yavaşlatmak veya mevcut yıkımı geri döndürebilmek amacı ile kullanılmaktadır. Sodyum florür (NaF) ve gümüş diamin florür (GDF) gibi topikal ajanlar yüksek konsantrasyonları ile çürüğün durdurulması ve yeni çürük oluşumunun önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (2).

Bizim çalışmamızda deneysel bir formülasyon olan ve çürük önleyici, antibakteriyel bir ajan olarak geliştirilen nano gümüş florürün (NGF) mine remineralizasyonuna etkisi farklı ajanlarla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Nano gümüş florür, içerisinde nano gümüş partikülleri, kitosan ve sodyum florür bulunduran, çevre dostu ve ucuz bir materyaldir. Literatürde nano gümüş florürle yapılmış 2 çalışma mevcuttur (3, 4). Targino ve ark. (3) tarafından nano gümüş florürün antimikrobiyal özellikleri ve sitotoksitesi araştırılmış ve çürük yapıcı bir mikroorganizma olan *S. Mutans*'a karşı etkili olduğu ve insan eritrositleri üzerine sitotoksik etkisi olmadığı bildirilmiştir. Santos ve ark. (4) nano gümüş florürün diş çürüğünü önlemede ve durdurmada etkinliğini araştırmışlardır ve NGF'nin diş çürüğünü durdurmada etkili bir ajan olduğunu göstermişlerdir. Ancak, materyal çok yeni geliştirilmiş deneysel bir formülasyon olduğundan çürük önleyici potansiyeli tam olarak ortaya konulamamıştır.

Bizim çalışmamızın amacı; çekilmiş daimi insan büyük azı dişlerinde sodyum florürlü vernik ve gümüş diamin florür ile nano gümüş florür uygulamasının yapay çürük lezyonu oluşturulmuş minenin, mikrosertlik değerlerinin karşılaştırılması ve SEM görüntülerinin değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Minenin Yapısı

Mine dokusu, insan vücudunun en sert yapısı olup; beyaz, transparan üst yüzeyi bulunmaktadır ve altında yer alan dentin dokusunu korumaktadır. Mine, ameloblast hücreleri tarafından oluşturulmaktadır. Mine-sement sınırına kadar tüm klinik diş kordonunu kaplayan mine dokusu dişlerin dış yüzeylerini de belirlemektedir. Minenin %95'i inorganik bileşenler, geri kalan kısmını ise su (%4), protein ve lipid (%1) gibi organik bileşenlerden oluşmaktadır. İçerisindeki mikrokristal yapının düzenine bağlı olarak mine üst yüzeyinde 390 KHN (Knopp Sertlik Değeri) kadar yüksek bir değere sahipken, mine-dentin sınırında bu değer 250 KHN'ye kadar düşmektedir (5).

2.2. Başlangıç Evresindeki Mine Çürüğünün Oluşumu

Mine, dişin en dış tabakasında yer almaktadır ve sürekli bir demineralizasyon-remineralizasyon döngüsüne maruz kalmaktadır. Normal şartlarda diş minesinin mineral yapısında değişim meydana geldiğinde, tükürükteki enzim ve mineraller sayesinde hızlı bir şekilde onarılabilir (6). Mineral çözünmesinde tekrarlayan olaylar, mineral kaybını onarmak için tükürük tamponlama kapasitesini aştığı zaman, yani demineralizasyon-remineralizasyon dengesi, demineralizasyon yönüne kaydıığında mine yapısında bulunan hidroksiapatitte çözünme meydana gelmektedir. Çürüğün ilk klinik belirtisi olan beyaz nokta (white spot) lezyonları oluşmaktadır. Beyaz nokta lezyonu, plak altında kalan bölgelerde görülen, yalnızca diş yüzeyi kurutulduğunda ortaya çıkan beyaz, tebeşirimsi, opak alanlar olarak tanımlanmaktadır (7). Bu klinik görüntü, beyaz nokta lezyonlarının altında kalan minenin dekalsifiye olduğunun göstergesidir. Alınan kesitlerde lezyon, apeksi dentine doğru olan bir koni şeklinde görülmektedir (8). Beyaz nokta lezyonunda mine dokusunun mineral içeriğinin %50'si kaybolmuştur ve lezyonun yüzeyi sağlam mine dokusuyla kaplıdır (9).

Başlangıç çürük lezyonu, mine yüzeyi ile bakteri plağı arasında oluşmaya başlamaktadır. Bakteri plağı pek çok türde mikroorganizma içermektedir. Diş çürüklerinin

meydana gelmesinde, en çok mutans streptokokları (*S. Mutans*, *S. Sobrinus*) ve laktobasil türleri olmak üzere asidojenik bakteriler rol oynamaktadır (10-12). Glikoz, fruktoz, sükroz ya da pişmiş nişasta gibi fermente olabilen karbonhidratların asidojenik bakteriler tarafından metabolize edilmesi ile asetik asit, laktik asit, propiyonik asit ve formik asit gibi organik asitler açığa çıkmaktadır (13). Bu asitler, bakteri plağı ile mine yüzeyi arasındaki nötral pH değerini, kritik pH değeri olan 5,5 ve altındaki değerlere düşürerek minenin inorganik yapısında çözünmeye neden olmaktadır (10). Hidrojen iyonları, mineyi oluşturan apatit kristalleri arasındaki sıvıya hızla difüze olmakta ve kristal yapı çözünerek kalsiyum, fosfat iyonları serbestleşmeye başlamaktadır. Bu süreç demineralizasyon olarak ifade edilmektedir. Demineralizasyon süreci, durdurulamaz ya da remineralizasyon yönünde değiştirilemez ise dişte sert doku kaybı oluşmakta ve başlangıç çürük lezyonu meydana gelmektedir (13, 14).

Mine çürüğü her zaman bakteri plağının altında ve iki mekanizma ile gelişir. Bunların ilkinde, plak altındaki yüzeyde kristal yapının çözünmesiyle mikrokraterler oluşmaktadır. Bu yaygın ama sığ bir çürüktür. Diğerinde ise, plak altında başlayan çürük lezyonu, minede hızla ilerleyen derinlemesine giden derin çürük lezyonu tarzındadır. Bu çürük klinik olarak kahverengi leke şeklinde görülmektedir (15).

Işık mikroskobu ve polarizasyon mikroskobu altında yapılan incelemelerde mine çürüğünün 4 farklı tabakadan oluştuğu bildirilmiştir (15, 16).

Transludent (Saydam) Tabaka: Lezyonun en derin tabakasıdır. Mine lezyonunun ilerlediğini göstermektedir. Daimi dişlerde %50, süt dişlerinde ise %25 oranında görülmektedir (17). Transludent tabakada por hacmi %1 olup, normal mineden 10 kat daha fazladır (18). Polarize ışık mikroskobunda incelenebilmesi için sağlam mine dokusu ile aynı kırılma indeksine sahip olan kinolin solüsyonu mine çürüğü içerisine perfüze edilmektedir. Porlar kinolin solüsyonu ile dolduğunda, lezyon sağlam mine ile aynı kırılma indeksine sahip olduğu için saydam görünmektedir. Saydam tabaka olarak adlandırılmasının nedeni de polarize ışık mikroskobundaki görüntüsünden kaynaklanmaktadır (17).

Karanlık Tabaka: Bu tabakadaki toplam por hacmi %2-4 arasındadır. Bu porlar kinolin solüsyonunu absorbe edemezler ve polarize ışığın bloke olmasına neden olurlar. Bu nedenle de karanlık tabaka olarak adlandırılmaktadır (18). Porların hava veya buhar ile dolu olması, klinikte lezyonun opak görünmesini sağlamaktadır. Karanlık tabakanın genişliği lezyonun ilerleme hızı hakkında bilgi vermektedir. Kronik ve yavaş ilerleyen inaktif çürük lezyonlarında karanlık tabaka daha geniş olarak gözlenmektedir (17).

Lezyon Gövdesi: Başlangıç çürük lezyonunun en geniş bölgesidir. Mikroradyografide radyolüsent olarak görülmektedir ve Retzius çizgileri belirgin olarak izlenmektedir. Lezyon gövdesi en fazla por hacmine sahip olup; por hacmi periferde %5'ten, merkezde %25'e kadar değişim göstermektedir (18). Çürük mine yüzeyinde retzius çizgileri boyunca ilerlemektedir (17). Bu bölgede mevcut porların genişlikleri bakterilerin sızması için yeterli ise, lezyon gövdesinde bakteriye rastlanabilmektedir (15).

Yüzeyel Tabaka: Mikroradyografilerde, radyopak olarak görünmekte ve alt tabakadaki radyolüsent alanlardan ayırt edilebilmektedir. Çürükten nispeten daha az etkilenmiş tabakadır. Por hacmi %5'den daha azdır (17, 18). Başlangıç çürük lezyonlarında meydana gelen mineral kaybı, yüzey altında yüzeyel tabakaya oranla daha fazla olmaktadır. Bunun ilk sebeplerinden biri, yüzeyel tabakanın diyet ve tükürükten absorbe edilen kalsiyum (Ca), fosfat (PO_4) ve flor (F) iyonları tarafından korunmasıdır. İlave olarak, mine yüzeyinde ya da pelikülde bulunan organik yapı elemanları, mineden mineral kaybını azaltan seçici geçirgen bir bariyer oluşturmaktadır. Bu sayede yüzeyel tabaka demineralizasyona karşı korunmaktadır (17).

2.3. Yapay Çürük Oluşturma Yöntemleri

Günümüze kadar doğal çürüğün oluşum mekanizmalarını anlayabilmek için pek çok yöntemle yapay çürük lezyonları oluşturulmuştur (19). Diş çürüğü araştırmalarında, klinik ve in situ çalışmalarla birlikte en yaygın in vitro modeller kullanılmaktadır (20).

2.3.1. Asit Tamponların Kullanıldığı In-Vitro Demineralizasyon Modeli

Kimyasal sistemler, asidik bir ortamda iyon difüzyonu ile dişin demineralize olması esasına dayanan en basit çürük oluşturma yöntemidir (21). Asitli jelatin jeli veya kalsiyum, fosfat ve flor içeren solüsyonlar kullanılmaktadır. Tampon solüsyonlarında; laktik asit, asetik asit veya her ikisi birden kullanılabilir. Mine yüzeyinde pencereler oluşturularak örnekler tampon solüsyonlarında bekletilmektedirler (22-25). Oluşan yapay çürük lezyonlarının histolojik olarak doğal çürük lezyonlarına benzer özellikte olduğu belirtilmektedir (5).

Bu solüsyonlarda önemli olan içerdikleri kalsiyum, fosfat ve flor iyonlarının konsantrasyonlarının bilinmesi ve pH derecesinin dikkatli bir şekilde ayarlanmasıdır. Asit olarak laktik ya da asetik asit kullanılmaktadır. Ancak sitrik ve hidroklorik asitler, mine içerisine zayıf organik asitlerin penetre olabildiği gibi penetre olamadığı ve sadece yüzeyde madde kaybına neden olan bir demineralizasyon sağlaması nedeniyle bu modelleme yönteminde tercih edilmemektedirler. Solüsyonun pH derecesinin 4,5-5,0 arasında olması gerekmektedir (26, 27).

2.3.2. Bakteriler Tarafından Üretilen Asitlerin Kullanıldığı (Bakteriyolojik) İn Vitro Demineralizasyon Modeli

Bakteriyolojik yöntemlerde yapay çürük lezyonu oluşturulabilmesi için gerekli asit, bakteriler tarafından üretilmektedir. Kimyasal yöntemlerde olduğu gibi, mine yüzeyinde bir pencere oluşturulmakta diğer kısımlar asite dayanıklı verniklerle kaplanmaktadır. Sonrasında, dişler çeşitli şekillerde hazırlanan bakteriyolojik demineralizasyon modellerine maruz bırakılmaktadır (19).

Bakterilerle çalışmanın insan sağlığı ve çevre açısından riskli olması, diğer yöntemlere göre uygulanmalarının zor olması bu yöntemin dezavantajlarındandır. Ortamdaki kalsiyum, fosfat ve flor iyon seviyeleri kontrol altında tutulamamaktadır. Ayrıca pH değerinin kontrolsüz şekilde düşüşü bu yöntemin diğer bir dezavantajıdır (28). Bakteriyolojik yöntemlerle oluşturulan yapay çürük modellerinin in vivo şartları tamamen taklit edemediği belirtilmektedir (19).

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

İn vitro pH siklus modellerinde, örnekler belirli sürelerde demineralizasyon-remineralizasyon solüsyonlarında tutulmaktadır. Bu yöntemlerde, çürük oluşum sürecindeki mineral kaybında ve/veya kazancında meydana gelen değişimleri taklit etmek amaçlanmaktadır (29). pH siklus modelleri, klinik uygulamalardan daha duyarlıdır ve küçük örneklem büyüklüğü ile bile yüksek düzeyde bilimsel kontrol sağlanabildiği belirtilmektedir (20).

Bu yöntemin flor salan materyallerin etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar için uygun bir yöntem olduğu, ancak antibakteriyel ajanlarının etkinliğinin değerlendirilmesi için uygun bir yöntem olmadığı belirtilmektedir (24).

2.3.4. Yapay Çene Modelleri

Laboratuvar ortamında ağız ortamının taklit edilmesini sağlayan yapay çene modeli çalışmaları bulunmaktadır. Bu ortamda saf türler, karışık türler veya plak bakterileri, genellikle insan veya sığırdan alınan gerçek tükürük, mine veya diş kökleri, diyet bileşenleri ve bir akış mekanizması bulunmaktadır. Teorik olarak yapay çene modeli, tükürüğün temizleme ve akış özelliklerini ve tüm bileşenlerini bir araya getirmektedir. Ancak bu sistemde in situ ve in vivo modeller kadar iyi sonuçlar elde edilemediği belirtilmektedir. Bu nedenle bu sistem üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir (29).

2.3.5. İn Vivo Hayvan Modelleri

Hayvan çalışmalarında denek olarak sıklıkla kobay fareler tercih edilmektedir. İnsanlarda yapılan çalışmalar ile benzer sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir. Ancak hayvan çalışmalarının pahalı ve zaman alıcı olması, bununla birlikte deney öncesinde, çalışmada kullanılacak materyallerin hayvan sağlığı üzerinde zararlı etkilerinin olmadığına kanıtlanmış olması gerekmesi bu yöntemin dezavantajlarından. Kobay farelerinin tükürük özelliklerinin insan tükürük özelliklerinden çok farklı olması, elde edilen sonuçların daha dikkatli değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır (30, 31).

2.3.6. İnsan Çenesinde In Situ Çalışmalar

Bu çalışma modellerinde, diş minesini veya dentin bloklar kesitler halinde özel dizayn edilmiş protetik parçalar ile belirli bir süre içerisinde takip edilerek demineralizasyon ve remineralizasyon değerlendirilmektedir (32). Bu yöntem ile sağlam mine ve dentin yapıları demineralizasyon açısından değerlendirilebilmektedir, ancak kısmen demineralize mine ve dentin dokuları remineralizasyon modeli olarak

değerlendirilebilmektedir (33). Ayrıca bu yöntem dental materyallerin flor salma etkinliği, antibakteriyel etkinlik ve ağız ortamlarına uyumunun değerlendirilmesi için de kullanılabilmektedir. Pahalı, zaman alıcı ve detaylardaki değişikliklerin sonucu direkt etkileyebildiği bir yöntem olması nedeniyle bu yöntemin sonuçları dikkatlice değerlendirilmelidir (33, 34).

2.3.7. Çekimi Planlanmış Dişlerde Yapılan Çalışmalar

Bu çalışmalar, doğal demineralizasyon ve remineralizasyon olaylarını en doğru şekilde yansıtan çalışmalardır. Dişlerin, tükürük ve plak bulunan doğal ortamda bulunmaları ve beslenme kontrolünün de sağlanabilmesi nedeni ile sonuçları en güvenilir yöntemlerdir. Çekimi planlanmış dişlere genellikle ortodontik braketler yapıştırılarak plak birikimi sağlanabilmektedir. Bu yöntemde flor salan materyallerin ve antibakteriyel ajanların hızlı ve güvenilir bir şekilde test edilebildiği belirtilmektedir (35).

2.4. Mine Remineralizasyonu

Son yıllarda diş hekimliği uygulamalarında sağlıklı diş dokularının mümkün olduğunca korunmasını amaçlayan minimal invaziv yaklaşımlar büyük önem kazanmaktadır (36). Remineralizasyon, çürük veya farklı nedenlerden dolayı mine dokusundan kaybedilen kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların tekrar mine yüzeyinde tekrar birikmesi olarak tanımlanmaktadır (36, 37). Kalsiyum ve fosfat iyonları ağız sıvılarında aşırı doymuş halde bulunmaktadır. Bu iyonlar mine yüzeyinde sürekli olarak depolanabilmekte ve çözündüğü zaman tekrar mine yüzeyine çökelebilmektedir (37). Demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsü, tükürük ve plak doygunluğu ile belirlenmektedir. Ağız sıvılarında bulunan kalsiyum ve flor konsantrasyonlarının artırılması ile başlangıç çürük lezyonlarının tamiri yani remineralizasyonu gerçekleşebilmektedir (38, 39).

Optimal laboratuvar şartlarında, kısmen demineralize mine ve dentin apatit kristallerinin remineralize olabileceği belirtilmesine rağmen, klinik koşullarda remineralizasyonun büyük bölümünün mine yüzeyinde gerçekleştiği belirtilmektedir. Remineralize mine yüzeyinin, orjinal mineden farklı yapı ve bileşende olduğu ve bozulmamış mineye göre demineralizasyona daha dirençli olduğu belirtilmektedir (40).

Yapılan çalışmalarda, minede ilk çözünmenin başlamasından bir sond ile teşhis edilebilecek düzeyde madde kaybının gerçekleşmesine kadar geçen sürenin 18 ile 24 ay sürebileceği ancak bu sürecin bazı nedenlerle hızlanabileceği bildirilmektedir (41).

Mine çürüklerinin remineralizasyonunda öncelikli koşul yüzeyde herhangi bir kavitasyonun bulunmamasıdır. Henüz bir kavitasyon oluşmamış, beyaz, opak mine lezyonlarında, mine prizmaları orjinal kristal yapılarını kaybetmemiştir. Seçici geçirken özelliği ile iyon geçişini pelikül sağlamaktadır. Mine yüzeyine penetre olan tükürükte bulunan kalsiyum ve fosfat iyonları çürük lezyonunun kristal yüzeyine çökelmekte ve başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunu sağlamaktadır (42-45).

Mine remineralizasyonu, kalsiyum ve fosfat varlığında gerçekleşmekte, flor iyonu ise remineralizasyonu arttırmaktadır. Remineralizasyon için, tükürüğün kalsiyum ve fosfat bakımından doymun olmasının yanında, ortamdaki kalsiyum ve fosfatın yeniden mine yüzeyine çökmesinde katalizör görevi gören flor iyonun varlığı önemli bir etken olmaktadır. İn vitro çalışmalarda, kavitasyon oluşmamış çürük lezyonlarının remineralizasyonu için gerekli flor miktarının, çürük oluşumunun önlenmesi için gerekli olan flor miktarından daha fazla olduğu bildirilmiştir (40, 42, 46).

2.4.1. Mine Remineralizasyonunda Kullanılan Materyaller

Geçmişten günümüze remineralizasyon hakkında araştırmalar yapılarak çeşitli ajanlarla remineralizasyon sağlanmaya çalışılmaktadır. Buna rağmen bakteri atağı fazla olduğu veya tükürük miktarının azaldığı durumlarda, remineralizasyonun, çürük oluşum sürecini durdurmakta ve tersine çevirmekte yetersiz kaldığı bildirilmektedir (47).

2.4.1.1. Flor içerikli ajanlar

Florun diş çürüklerinin oranını azaltıcı etkisi 1940'lı yıllarda, çürük oranının az olduğu bölgede kullanılan içme suyunun flor konsantrasyonunun yüksek; çürük oranının fazla olduğu bölgedeki içme suyunun flor oranının düşük bulunmasıyla anlaşılmıştır. Özellikle son 40 yılda flor iyonunun çürük oluşumunun azaltılmasında büyük önem taşıdığı belirtilmektedir (48).

2.4.1.1.1. Florun etki mekanizması

Florun, günümüzde çürük gelişimini engelleyen en etkin ajanlardan olduğu belirtilmektedir (49).

2.4.1.1.1.1. Florun mine dokusu üzerine etkisi

Florun ağız ortamında bulunmasıyla birlikte bakteri plağı ve tükürükte bir flor iyon rezervuarı olarak görev yaptığı ve hem bakteri plağından hem tükürükten salınan florun mine yapısına katıldığı belirtilmektedir (47). Flor iyonunun, diş sert dokuların çözünürlüğünü azalttığı, bakterilerin asit üretimini engellediği ve remineralizasyonu arttırdığı bildirilmektedir (50).

Flor, minenin mineral yapısına katılarak hidroksiapatitin daha az çözünür olan florapatite dönüşmesini sağlamaktadır. Böylece, mine yüzeyi asit ataklarına karşı daha dirençli hale gelmektedir. Florun dental plak üzerinde de etkili olduğu belirtilmektedir. Dental plağı doğrudan etkileyerek plakta bulunan bakterilerin asit üretimini engellemektedir. Bunun yanı sıra, asit nedeniyle demineralize olan alanlarda diş minesinin tamirini sağlayarak, remineralizasyonu desteklemektedir (51).

Mine yüzeyinde ve iç kısmında bulunan flor iyonları, mine yapısına katılarak diş sert dokularını çürüğe karşı dirençli hale getirmektedir. Ayrıca, erken dönem diş çürüklerinin remineralize olmasını sağladığı belirtilmektedir. Remineralizasyon için gerekli flor iyonları florlu su, diş macunu, ağız gargarası ve jeller gibi diğer florlu ürünlerden sağlanmaktadır. Maksimum çürükten korunmanın, florun sistemik olarak diş oluşumunun tüm evrelerine katılması ve diş sürmesinden sonra yüzeyel etkisiyle sağlanmaktadır (51). Dentinin içerdiği flor iyon konsantrasyonunun genellikle mineden daha fazla olduğu belirtilmektedir. Flor konsantrasyonunun, dişin iç kısımlarına doğru gidildikçe arttığı belirtilmektedir (52, 53).

Mine yapısını oluşturan hidroksiapatit kristallerindeki hidroksil iyonlarının flor iyonları ile yer değiştirmesi sonucu florapatit oluşmakta ve oluşan florapatitin hidroksiapatite göre asit atakları karşısında daha az çözündüğü belirtilmektedir (54-56). Bu olayın, kristal dış yüzeyde adsorpsiyon ve heterojenik iyon değişim mekanizmaları tarafından yürütüldüğü belirlenmiştir. Bunun yanında flor iyonlarının, ortamda asit bulunduğu sırada plak sıvısında bulunması halinde, mine tarafından emilerek minenin güçlenmesini sağladıkları ve kristal yüzeyinin asidin etkisi ile çözünmesini engelledikleri

dolayısıyla düşük pH seviyelerinde bile asit üretiminin ve minedeki çözünmenin azaldığı belirtilmektedir (57-63).

2.4.1.1.1.2. Florun remineralizasyon üzerine etkisi

Tükürük içinde yüksek konsantrasyonda bulunan kalsiyum ve fosfat iyonları, remineralizasyon sürecinde önemli rol oynamaktadır (64). Kalsiyum ve fosfat iyonlarının, flor varlığında demineralize olmuş mineye daha etkili şekilde çökelebilmektedir (37). Flor iyonları, kalsiyum ve fosfatın dış yüzeyine difüzyonunda katalizör görevi üstlenmektedir. Flor, çürük lezyonunda bulunan kristal yapıyı remineralize ederek asit ataklarına daha dirençli olan florapatit oluşumunu sağlamaktadır (64).

Florun remineralizasyonu artırma özelliği nedeni ile klinikte başlangıç çürük lezyonlarının tedavisinde kullanılması önerilmektedir (22). Genişleyen mine gözeneklerinin florür alınımına daha elverişli olması nedeniyle, demineralize alanın flor iyonuna karşı daha fazla afinite gösterdiği ve başlangıç halindeki mine çürük lezyonlarının sağlam mineye oranla daha fazla flor iyonu içermektedir (65).

2.4.1.1.1.3. Florun tükürük üzerine etkisi

Tükürük içeriğindeki flor miktarı ile çürük sıklığı arasında ters orantılı bir ilişki bulunmaktadır (66). Bunun yanında çürüksüz çocuklarda tükürükteki flor miktarının, çürüklü çocuklardan daha fazla olduğu belirtilmektedir (67). Flor içerikli bir ajan, ağız yoluyla alınmasının ardından tükürük flor konsantrasyonunda hızlı bir artış meydana gelmektedir. Ancak eksojen flor iyon kaynağı nedeniyle ortaya çıkan bu artışın, yeni tükürük salgısı ile birleşerek hızlı bir şekilde azaldığı belirtilmektedir. Florun tükürük klirensi olarak bilinen bu olay, birim zamanda tükürükten temizlenen flor miktarını tanımlamakta ve ml/dk olarak ifade edilmektedir. Flor iyonunun asit üretimini engelleyerek tükürük pH'sını nötr hale getirdiği bildirilmektedir. Böylece tükürük içindeki kalsiyum (Ca) ve fosfat (PO₄) iyonları kalsiyum fosfat (CaPO₄) bileşiği formunda dış yüzeyi üzerine çökelmekte ve remineralizasyon gerçekleşmektedir (68).

2.4.1.1.1.4. Florun bakteri plağı üzerine etkisi

Florun çürük gelişiminin engellenmesinde diğer bir önemli etkisi, plak mikroorganizmalarının asit üretimini inhibe etmesidir (69). Plak içerisindeki florun bağlanma mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Bakteri plağının, hem ekstraselüler alanda inorganik yapıya hem de mikroorganizmalara bağlandığı tahmin edilmektedir (70).

Flor iyonu, başta enolaz enzimi olmak üzere glikoliz ve şeker taşınmasında yer alan pek çok enzimin inhibe edilmesinde rol alarak bakterilerin asit üretimini önlemektedir. Enolaz, glikolitik reaksiyon zincirinde şekerin taşınması için önemli olan fosfoenolpiruvat oluşumu sırasında kullanılmaktadır (71).

Mutans Streptokokları (MS) ve Laktobasil türleri gibi asidojenik bakteriler, plak pH'sını düşürmektedirler. Ayrıca, ortamda flor iyonu varlığında, MS sayısının da azaldığı belirtilmektedir. Bu durum mutans streptokoklarının, flor iyonuna karşı diğer mikroorganizmalardan daha dayanıksız olması ile açıklanmaktadır. Flor içerikli materyallerin bakterilerin gelişimini inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiş, ancak bu etkinin materyalin flor salınım süresiyle sınırlı olduğu belirtilmiştir (72).

2.4.1.1.2. Flor uygulama yöntemleri

Flor uygulamaları sistemik veya topikal olarak iki farklı şekilde olabilmektedir.

2.4.1.1.2.1. Sistemik flor uygulamaları

Flor içerikli ajanlar, minenin organik matriks oluşumu ve mineralizasyonu esnasında, mine yapısını güçlendirmek amacıyla uygulanmaktadır. Sistemik uygulama, içme sularına, okul sularına flor katılması, flor tabletleri, tuza ve süte flor katılması şeklinde olabilmektedir. Sistemik olarak alınan flor, aynı zamanda plak mine ara yüzünde topikal etkiler de göstermektedir, çünkü yutulan florun bir kısmı metabolize olduktan sonra tükürük veya dişeti sıvısı içine de ulaşmaktadır (73).

2.4.1.1.2.2. Topikal flor uygulamaları

Topikal flor ajanları bireysel bakım ya da profesyonel uygulama için kullanılmaktadır. Bireysel bakım amacıyla, diş macunu, kürdan, diş ipi, jel, yapay tükürük, pastil, sakız ve gargaralar gibi florlu ajanlar kullanılabilir. Profesyonel uygulamalar için jel, profilaksi patı, cila, cam iyonmer siman ve diğer yavaş salınım sistemleri bulunmaktadır (74).

En sık kullanılan topikal flor ajanları sodyum florür (NaF), asidule fosfat florür (APF) ve kalay florürdür (SnF₂). Sodyum florür ilk kullanılan topikal flor ajanıdır, nötr bir pH'da ve kararlı bir bileşiktir. Bu nedenle; estetik rezin restorasyonlu, tükürük akışı azalmış ve asidik florürü tolere edemeyen hastalarda tercih edilmektedir (75). APF %1,23 oranında sodyum florür içermektedir. Düşük pH'daki solüsyona fosforik asit eklenmektedir. Fosfat eklenmesi ile, kalsiyum florür oluşumunu azaltmak, floroapatit oluşumunu arttırmak amaçlanmaktadır (76). Kalay florür %8-10 oranında flor içermektedir. Plak formasyonu ve plak asidojenitesi üzerinde inhibe edici etkisi bulunmaktadır (77).

2.4.1.1.2.2.1. Florlu vernikler

Florlu vernikler topikal flor uygulamalarının etkisini kuvvetlendirmek üzere 1960'ların sonuna doğru geliştirilmiştir. İlk olarak Duraphat® (Colgate-Palmolive Co, New York) ticari adıyla tanıtılmıştır. Verniğin içeriğini %5 NaF oluşturmaktadır (78).

Florlu vernikler, doğal ya da sentetik esaslı florür tuzlarının ethanol gibi bir solventin içinde çözündüğü bir lak ya da likid olarak tanımlanmaktadır. Florlu vernikler, küçük çocuklarda bile güvenle kullanılmakta, toksik yan etkiler görülmemektedir (79). Diflorosilan ya da sodyum florür içeren vernik çeşitleri bulunmaktadır (80).

Minenin yüzey tabakalarına flor katılımını arttırabilmek için verniklerin kullanılabileceği bildirilmiştir. Mine yüzeyi ile florun temas süresini uzatarak flor içerikli ajanların etkinliği arttırılmak istenmiştir (81). Ağız içinde 48–72 saat tutunma süreleri olduğu ve bu süre içinde diş yüzeyine flor iyonu sağladığı bildirilmektedir (82, 83). Vernikler genellikle küçük fırçalarla ya da enjektörler ile uygulanmaktadır.

Florlu vernikler, mine yüzeyine yapışıp florun diş yüzeyi ile temas süresini arttırarak remineralizasyona katkı sağlamaktadırlar (49, 84, 85). Verniklerin demineralize mine yüzeyi ile uzun süre temasta bulunması sayesinde mine yüzeyinde kalsiyum florür (CaF_2) oluşmaktadır. Bu sayede ağızda bir flor rezervuarı meydana gelerek tükürük ve plağın flor açısından zenginleşmesi sağlanmaktadır. Florlu verniklerin bu yolla diş yüzeyinde meydana gelen demineralizasyonu engellediği ve remineralizasyonu desteklediği bildirilmektedir (23, 79, 80, 83, 86, 87). Yapay çürük lezyonlarının remineralizasyonunda florlu verniklerin kullanımının başarılı olduğu in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (25, 81, 82, 88, 89). Çürük önleyici etkisini, antibakteriyel etkinlikten ziyade başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunu sağlaması ile göstermektedir (79). Aktif haldeki opak lezyonların remineralizasyonunu arttırdığı bildirilmektedir (90).

2.4.1.1.2.2. Gümüş ve gümüş bileşikler

Gümüş (Ag), antimikrobiyal özelliklerinden dolayı 1800'lü yıllardan beri diş hekimliği ve tıp alanlarında kullanılmaktadır. Gümüş bileşikler, gümüş nitratin süt dişlerinde çürük insidansının azaltılması amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Daimi dişlerde çürük oluşumunu önlemede kullanılmaktadır. Aynı zamanda kavite dezenfektanı ve hassasiyet giderici olarak da kullanımı vardır (86, 91).

Gümüş iyonu, asidik koşullarda diş sert dokularının çözünürlüğünü azaltmakta ve demineralize dokuların remineralizasyonunu sağlamaktadır. Bu nedenle farklı remineralizasyon çalışmalarında kullanılmıştır (25, 92-94)

Antibakteriyel özelliğe sahip olan gümüş ile remineralizasyonda önemli bir rolü olan flor iyonunun birlikte kullanımı ile gümüş florür (AgF) oluşmaktadır. 20 ppm flor içeren AgF solüsyonunun *S.mutans*'ı inhibe edici etkisi bulunduğu bildirilmektedir. Ayrıca AgF, bakteri plağındaki metabolik aktiviteyi azaltarak çürük lezyonunun ilerlemesini önlediği belirtilmektedir (95).

Gümüş iyonunun; antibakteriyel özellikleri, demineralizasyonu inhibe etmesi ve remineralizasyona katkıda bulunması gibi olumlu özellikleri sebebiyle çürük önleyici ve remineralizasyon ajanı olarak tercih edilebileceği belirtilmektedir. Bununla birlikte, dişler üzerinde renklenmeye sebep olması kullanımını kısıtlamaktadır (86).

2.4.1.1.2.2.3. Gümüş diamin florür (GDF)

Gümüş diamin florür, diş çürüğü oluşumunun durdurulması amacıyla 1969'dan itibaren kullanılmaktadır. Gümüş diamin florür, tedavi ve koruyuculuğu aynı anda sağlayan, kolay uygulanabilen, non-invaziv ve maliyeti düşük bir ürün olarak bildirilmektedir. Bu faktörler gümüş diamin florürü çürük riski yüksek ancak dental tedavilerin sınırlı ve dental personelin yetersiz sayıda olduğu gelişmekte olan ülkelerde cazip bir tedavi seçeneği haline getirmektedir (73, 96-99).

Gümüş diamin florür, 1970'lerden beri terapötik ajan olarak kabul edilmektedir (92, 100). Aynı zamanda Brezilya Yardım Programı tarafından 3 yaşına kadar olan orta ve yüksek çürük aktivitesine sahip çocuklar için de kullanımı desteklenmektedir (91). Bununla birlikte, 2014 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Food and Drug Administration'ın (FDA) onayını almış, 2015 yılında ise satış için bulunur hale gelmiştir (97).

Gümüş diamin florür, diş hekimliğinde %10'luk, %12'lik, %30'luk ve %38'lik gibi farklı konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (101). Özellikle %38'lik gümüş diamin florür, küçük ve uyumsuz çocuk hastalarda çürüğün durdurulmasında kullanılmaktadır. Diş çürüklerinin durdurulmasında hızlı, basit ve non-invaziv bir uygulamadır. Ancak uygulama sonrasında çürük dişte siyah renkleşmeye sebep olabilmektedir. Ayrıca özellikle çocuk hastalarda sevilmeyen metalik bir tadı vardır. Düşük maliyet ve uygulama kolaylığı ile toplum ağız diş sağlığı projelerinde kullanılan bir ajan olarak gösterilmektedir (99, 100, 102).

Mevcut çalışmalarda uygulama sonrası herhangi bir pulpal hasar rapor edilmemiştir. Günümüzde yapılan çalışmalar GDF'nin süt dişlerinde yeni çürük oluşumunu önleme ve durdurmaya yönelik etkili bir materyal olduğunu göstermektedir (97, 98, 102-104). Etki mekanizmasında, yapısındaki gümüşün dentin sklerozu ve kalsifikasyonunu uyardığı; gümüş nitratın bakterileri yok ettiği ve florun da remineralizasyonu teşvik ettiği düşünülmektedir (102, 105).

2.4.1.1.2.2.3.1. Gümüş diamin florürün etki mekanizması

Gümüş gibi ağır metaller yüksek polarizasyon özelliğine sahiptir ve genellikle bazlar ile kuvvetli bağ oluşturmaktadırlar. Bunlar proteinlerin içindeki bağlar gibi sistein, histidin gibi sülfür ve nitrojen bağlarını içermektedir. Bu etkileşimler bakteriler ve dişler üzerindeki etkilerini açıklamaktadır (102).

2.4.1.1.2.2.3.1.1. Gümüş diamin florürün bakteriler üzerine etkisi

Gümüş; biyolojik mikroorganizmalar üzerine (bakteriler, protozoalar, mantarlar ve virüsler) hücre membranı, organelleri ve çekirdeğin, hücre metabolizması ve çoğalması üzerine etkilidir (106). Yapılan çalışmalarda gümüşün DNA ve proteinlerin sülfidril grupları ile ilişkiye girdiği, hidrojen bağlarına etki ettiği, solunum işlemi inhibe ettiği, DNA sarmalını çözdüğü, hücre duvar sentezini ve hücre bölünmesine etki ettiği bildirilmektedir (106, 107). Bu etkiler bakterilerin ölmesine ve biyofilm oluşumunun inhibisyonuna neden olmaktadır (108). Bu çeşitli etkilerin temel mekanizması gümüş ve tiyol grupları arasındaki reaksiyona dayanmaktadır (109).

2.4.1.1.2.2.3.1.2. Gümüş diamin florürün diş dokuları üzerine etkisi

Sodyum florür ve gümüş nitratin diş dokuları üzerine etkileri farklı iki kompleks mekanizma şeklindedir. Bunlardan biri, sodyum florür ile kalsiyum fosfat'ın florapatit ve sodyum hidroksit oluşturduğu reaksiyondur. Diğer reaksiyon ise, diş yapısındaki kalsiyum ile reaksiyona girerek kalsiyum florürün oluşmasıdır. Gümüş nitratin başlangıç reaksiyonu sonucu ise kalsiyum nitrat, gümüş fosfat ve gümüş oksit ortaya çıkmaktadır (102). Bu bağlamda flor ve gümüş sinerjistik etki göstererek florapatit oluşturmaktadır. İlk aşama kalsiyum florür ve gümüş fosfatın oluşmasıdır. Bir sonraki safha ise kalsiyum ve florun ayrışması safhasıdır. Son safha ise florapatit oluşumudur (102).

Yapılan in vitro çalışmalar gümüş diamin floridin mine içerisine 25 µm kadar penetre olduğunu; sodyum florür-fosfat, sodyum florür ve kalay florür'e göre neredeyse 2-3 kat daha fazla flor tutulumu olduğunu göstermektedir (102, 110). Buna dayanarak gümüş diamin florürün sodyum florür ve kalay florürden daha etkin olacağı belirtilmiştir (102).

2.4.1.1.2.2.4. Nano gümüş florür (NGF)

Nanoteknoloji, nano boyuttaki yapılar ve bu yapıların içerikleri ile ilgilenmektedir. Nanopartikül içerikli materyallerle yapılan çalışmalar pek çok alanda popülerlik kazanmıştır. Nanopartiküller yüksek yüzey alanı-hacim oranına sahip olmaları nedeniyle etkili bir antibakteriyel ajandır. Nanopartiküller; çürük kontrolü, remineralizasyon, kök kanal dezenfeksiyonu, dentin hassasiyetinin tedavisi, restoratif diş hekimliği gibi diş hekimliğinin farklı alanlarında kullanılmaktadırlar (111).

Nano gümüş florür (NGF) deneysel bir formülasyondur. İçerisinde gümüş nano partikülleri, kitosan ve sodyum florür bulunmaktadır. NGF sarı bir solüsyondur. 3 yıl stabil kaldığı, bununla birlikte çevre dostu ve ucuz bir materyal olduğu belirtilmektedir (4). NGF diğer topikal florür ajanlarına göre uygulama tekniğinin basit olması ve daha kısa uygulama süreli olması nedeniyle çocuk hastada kabul edilebilirliğinin yüksek bir materyal olacağı belirtilmiştir. Gümüş diamin florüre göre metalik tadının olmaması, renklenme yapmaması diğer avantajlarından (3). Hasta takibinin diğer ajanlarda olduğu kadar sık kontrollere ihtiyaç duyulmadığı belirtilmektedir. Ucuz bir yöntemdir ve klinik şartlar dışında ekstra cihazlara gerek yoktur (4).

Literatürde nano gümüş partiküllerinin flor ile beraber kullanımını bildiren yalnızca 2 çalışma bulunmaktadır (3, 4). İlk çalışma 2014 yılında Targino ve ark. (3) tarafından nano gümüş florürün antimikrobiyal özelliklerini ve sitotoksitesini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır ve bu çalışmanın sonucunda, çürük oluşumuna neden olan mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal özelliği bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, insanlarda kullanımının güvenli olduğu bildirilmiştir (3).

Diğer çalışma Santos ve ark. (4) tarafından 2014 yılında randomize kontrollü klinik bir çalışmadır. NGF'nin süt dişlerinde meydana gelen çürüklerde oldukça etkili olduğu, gümüş diamin florürle benzer etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, gelişmemiş toplumlarda NGF'nin diş çürüğünü durdurmada oldukça etkili bir ajan olduğu bildirilmektedir.

Nano gümüş florürün etkinliğinin daha iyi anlaşılabilmesi açısından içerdiği nano gümüş partiküllerin ve kitosanın diş hekimliğinde kullanım alanlarından aşağıda bahsedilmiştir.

2.4.1.1.2.2.4.1. Nano gümüş partiküllerin dış hekimliğinde kullanımı

Gümüş nanopartiküllerinin, hem tek başına hem de diğer antimikrobiyal ajanlarla birlikte kullanımı olumlu sonuçlar vermiştir (112). Gümüş içerikli nanopartiküller biyofilmi önlemede etkilidir. Nano boyutu sayesinde, oldukça düşük konsantrasyonlarda (%0,5–1,0) hücre içinde pek çok bölgede etki göstererek bakteriyel büyümeyi inhibe etmektedir (113). Nanopartiküllü gümüş iyonlarının pozitif yüklenmesi, antimikrobiyal etkinin sağlanmasında önemlidir. Pozitif yüklü nanopartiküller ile negatif yüklü bakteri hücre membranı arasında elektrostatik çekim oluşmaktadır (114). Gümüş nanopartiküllerin şekli de antimikrobiyal aktivite üzerinde etkilidir (115). Gümüş nano partiküllerin partikül boyutu ile plak üzerine etkisi ters orantılıdır. 50 nm'den daha büyük boyutlu partiküllerin plak içerisine diffüze olamadığı bildirilmektedir (116) .

2.4.1.1.2.2.4.2. Kitosanın dış hekimliğinde kullanımı

Kitosan kabuklu hayvanların iskeletinde bulunan doğal bir biyopolimerdir ve kitinin deasetilasyonundan elde edilen bir aminopolisakkarittir (117). Kitosan ilaç salımında kullanılabilen popüler bir materyaldir (111).

Kitosan, doğal bir polimer olması, vücutta parçalanabilirliği, güvenilirliği ve toksik olmamasından dolayı biyouyumlu bir materyal olduğu belirtilmektedir. Memeli ve mikroorganizma hücrelerine bağlanabilmekte, bağ dokusunda rejeneratif etki gösterebilmekte, osteoblastların proliferasyonunu hızlandırabilmekte ve bağışıklık sistemini aktive edebilmektedir. Bunların dışında, hemostatik, antimikrobiyal, anti-kanserojen etki gibi pek çok biyolojik özelliğe sahip olduğu bildirilmektedir (118).

Kitosan ve türevlerinin biyolojik özelliklerinden en önemlisi sahip oldukları antimikrobiyal aktivitedir. Kitosanın antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktiviteye sahip belirtilmektedir. Kitosan hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı etkili olup; *Listeria monocytogenes*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella Typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus brevis* bu bakterilerdendir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda kitosanın bakteriler üzerindeki inhibitör etkisinin daha çok bakteriyostatik olduğu belirtilmektedir (119, 120).

Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi pH'ya bağlıdır. Kitosan düşük pH değerlerinde kuvvetli antimikrobiyal aktivite gösterdiğinden pH değerinin yükselmesiyle inhibitör aktivitesi zayıflamaktadır (121). Kitosan asidik ortamda çözünmekte ve antimikrobiyal aktivite için önemli olan polikasyonik forma yalnızca ortam pH'sının kitosanın pKa değerinin (6,3-6,5) altında olması durumunda geçebilmektedir (118). Ancak kitosan ve türevlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin nötral pH değerinde tamamen kaybolmadığı, N-alkil kitosan türevlerinin *E. Coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitelerinin pH 5,0'ten itibaren artmaya başladığı ve pH 7,0-7,5'e yükseldiğinde ise maksimum düzeye ulaştığı belirlenmiştir (122).

Doğada bulunan kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilen bir biyopolimer olan kitosan, bakteriyostatik ve bakterisid özelliklerinden dolayı diş çürüklerinin önlenmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca kitosan oral kavitede pH değerlerini düşüren organik asitlerin etkilerini tamponlayabilmektedir (123).

Yapılan bir çalışmada, kitosan içerikli sakız çiğneyen bireylerde karyojenik bakterilerin büyümesinin inhibe edildiği bildirilmiştir (124). Kitosanın bu etkisinin hem tükürük akışının stimülasyonu sonucu hem de kitosanın direk bakterisid ve bakteriyostatik etkisinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Oral hijyen düzeyi zayıf hastalarda, kitosan içerikli sakızların tükürükteki karyojenik bakterileri inhibe ettiği ve mine dekalsifikasyonunun azaldığı bildirilmiştir (125). Arnaud ve ark. (126) kitosanın mineden mineral çözünmesini dolayısı ile demineralizasyonu önlediğini belirtmişlerdir. Kitosanın plak mikroorganizmaları üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada ise, pek çok bakteri üzerinde bakterisid etkili olduğunu belirtilmiştir (127). Fujiwara ve ark. (128) kitosanın farklı konsantrasyonlardaki antibakteriyel etkilerini incelemişler ve %2'lik kitosan solüsyonunun optimal konsantrasyon olduğunu aynı zamanda mutans streptokoklarının büyümesini önemli derecede inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Kitosan içerikli ağız çalkalama solüsyonlarının da hem antibakteriyel etkisi olduğu hem de plak birikimini azalttığı belirtilmiştir (129).

Kitosanın diş sert dokularının demineralizasyonunu önlemekte etkili olduğu bildirilmiştir ancak remineralizasyon üzerine etkisi ile ilgili bilgi sınırlıdır. Kitosanın bakterisid ve bakteriyostatik etkili bir ajan olduğu pek çok çalışmada belirtilmektedir (120-125, 127-129). Çürük önleyici ajan olarak önerilmesinin nedeni de güçlü antibakteriyel özelliklerinden kaynaklanmaktadır (86).

2.5. Demineralizasyon ve Diş Minesi Mineral Yapısının İncelenme Yöntemleri

Son yıllarda flor içerikli ve benzeri çürük önleyici materyallerin başlangıç çürük lezyonlarına etkisi farklı yöntemlerle araştırılmaktadır. Diş sert dokularının mineral yapılarında meydana gelen değişimler iyot geçirgenlik testi, polarize ışık mikroskobu, konfokal lazer taramalı mikroskop (CLSM), mikrosertlik, mikroradyografi, kantitatif ışık etkili floresans (QLF) yöntemi, enerji yayımlı X-ışını spektroskopisi (EDS), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak değerlendirilmektedir (130).

2.5.1. İyot Geçirgenlik Testi

İyot geçirgenlik testi, mineral kaybına bağlı olarak geçirgenlik artışına dayanan hassas, indirek ve nitel bir metottur. Dişlerden alınan kesitlerin polarize ışık mikroskobu ile maksimum aydınlatma altında ve belirli katsayılarla büyütülerek fotoğraflanması ve bu fotoğraflar üzerinde lezyon derinliklerinin incelenmesiyle demineralizasyonun değerlendirildiği bir yöntemdir (131).

2.5.2. Polarize Işık Mikroskobu

İlk yapılan demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında sıklıkla dokularda olan değişikliklerin değerlendirilmesinde, polarize ışık mikroskobu kullanılarak nitel değerlendirme yapılmışsa da, son zamanlarda yapılan çalışmalarda dokulara ilişkin değişikliklerin değerlendirilmesinde nicel bir yöntem olan mikroradyografi ve mikrosertlik testleri daha yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (131,132) .

2.5.3. Mikroradyografi

Mikroradyografi, dişlerden alınan transvers kesitlerin mikroradyografilerinin çekilmesi ve bu radyografilerin çeşitli bilgisayar yazılımlarıyla incelenmesi sonucunda tanımlanan formüllerle meydana gelen, mineral kaybının belirlenmesine yönelik bir

tekniktir. Doherty ve ark. (133), 2002 yılında yaptıkları çalışmalarında transvers mikroradyografi değerlendirmesinin minenin mineral içeriğinin belirlenmesinde etkin ve pratik bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

2.5.4. Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop (CLSM)

Konfokal lazer taramalı mikroskop, diş hekimliği araştırmalarında 1983 yılından sonra kullanılmaya başlanmıştır. Aydınlatma, odaklanmış bir lazer kaynağından elde edilir ve taramalar örnek üzerinde çizgiler halinde yapılır. Odaklanan bölge dışından gelen tüm yansımalar engellenerek sadece tam olarak odaklanan alan izlenir. Eğer dış tabakanın yüzey altı alanları ile çalışılacaksa örnek hazırlanması için özel bir işleme gerek yoktur. Örneklerin ince kesitler halinde hazırlanması ve kurutulması gibi uygulamaların olmaması hata oluşumunu engeller (134).

2.5.5. Kantitatif Işık Etkili Floresans (QLF) Yöntemi

Kantitatif ışık etkili floresans tekniği yeni bir değerlendirme metodudur. Bu teknikte mine yüzeyi lazer ışığı ile aydınlatılır ve bilgisayara bağlı olan bir mikro video kamerası ile doku floresansı görüntülenir. Sağlam mine floresansı ile karşılaştırılan başlangıç lezyonundaki floresans kaybı yüzdesi bir yazılım ile hesaplanır. Bu yöntem, in vivo başlangıç mine lezyonlarındaki mineral değişikliklerinin izlenmesine olanak sağlayabilmektedir (135).

2.5.6. Lazer Floresans

Lazer floresans yöntemi diş dokusunun ışık uygulanması sonrası, sağlıklı ve çürük mine arasındaki floresans farkının ölçümü esasına dayanmaktadır. Minenin mineral içeriği düşük bölgeleri, düşük floresansa sahiptir. Dolayısıyla mineral kaybıyla floresans radyansı arasında ilişki vardır. Bu prensip ile klinik olarak en yaygın kullanılan marka DIAGNOdent'tir (KaVo Dental Corporation, Biberach, Germany) (135). DIAGNOdent,

lazer ışığı demineralize bölgelere uygulandığında oluşan floresans özelliği değerlendirmektedir.

2.5.7. Dijital Fiber Optik Transluminasyon (DIFOTI)

Fiber optik transluminasyon ve dijital kameranın birleştirildiği bir yöntemdir. Fiber optik aydınlatma ile dişlerden alınan görüntülerin bir bilgisayar programıyla analiz edilmesi ve demineralize alanların tespit edilmesini sağlamaktadır. Sistem bilgisayar destekli olduğu için, görüntülerin saklanması ile daha sonraki kıyaslamalara olanak sağlamaktadır (136). DIFOTI teknolojisinin geliştirilmesiyle birlikte klinik kullanımının daha yaygın hale gelmesi amacıyla DIAGNOcam (KaVo Dental Corporation, Biberach, Germany) adında bir cihaz geliştirilmiştir (137). DIAGNOcam, özellikle erken arayüz çürüklerinin teşhisinde kullanılmaktadır (138).

2.5.8. Mikrosertlik

Mikrosertlik cihazı, elmas bir uç ile ışık mikroskobu altında cisimlerin yüzeylerine belirli ağırlıkların belirli sürelerde uygulanmasıyla yüzeyler üzerinde izler oluşturulması ve bu izlerin derinliklerinin değerlendirilmesi ile test edilen cismin sertlik değerinin belirlenmesi şeklinde çalışmaktadır. Mikrosertlik ölçümlerinin yapılması esnasında 1 gr ila 3 kg yük uygulanabilmektedir. Temel olarak iki çeşit mikrosertlik ölçme yöntemi vardır. Bu yöntemler arasındaki fark, aygıtların iz oluşturmayı sağlayan uçlarındaki şekil farklılıklarından kaynaklanmaktadır. Bunlardan biri olan Vicker's 1925 yılında İngiltere'de geliştirilmiş olup ayrıca 'elmas piramit' olarak da isimlendirilmektedir. Bu yöntemde eşkenar piramit esaslı elmas bir uç kullanılmaktadır. Mikrosertlik ölçümleri için kullanılan diğer bir yöntem ise, 1939 yılında National Bureau of Standards (ABD) tarafından geliştirilen Knoop'tur. Knoop ucu, aynı yük kullanılarak yapılan Vicker's sertlik ölçümleri ile karşılaştırıldığında nispeten daha derin izler bırakmaktadır (85).

2.5.9. Enerji Yayılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDS)

SEM-Enerji yayılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS) analizleri, yüzey altındaki kimyasal elementlerin konsantrasyonunu değerlendirmeyi sağlayan spesifik bir yöntemdir. Genellikle mühendislik ve kimya alanında kullanılmasına rağmen, diş hekimliği alanında da kullanılmaktadır. Genellikle demineralize mine ve dentini değerlendirmek için kullanılmaktadır (139, 140).

2.5.10. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Günümüzde çeşitli elektron mikroskopları bulunmakla birlikte, diş hekimliğinde en çok transmisyon elektron mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu kullanılmaktadır (141). TEM’de elektron demeti; incelenen örneğin içinden geçerek görüntü oluşturur. Bu elektron demeti bir veya iki elektromanyetik mercekten oluşan toplayıcı tarafından örnek üzerine odaklanır. Örnekten geçen elektron, objektif merceği aracılığıyla büyütülmüş bir görüntü oluşturur. Bu görüntü diğer mercekler tarafından büyütülür ve ekrana yansıtılır. SEM’de ise cisimlerin yüzeyini incelemek üzere geliştirilmiştir. Bu mikroskopta uygun bir saptırıcı düzenek aracılığıyla bir elektron demetinin incelenecek yüzeyi sürekli olarak taraması sağlanmaktadır. Yüzeye çarpan elektronlar ikincil elektronların hareket etmesine yol açar. Bu ikincil elektronlar, elektronların çarpmasıyla kısa süreli ani ışık parlamaları oluşturan kristale gönderilir. Kristalde ortaya çıkan parlamalar bir lamba aracılığıyla elektrik sinyaline dönüştürülür ve başka bir lambanın ekranında yüzeyin yapısını gösteren bir görüntü elde edilir. SEM ile yapılan yüzey analizinin çürük benzeri lezyonların değerlendirilmesinde güçlü bir yöntem olduğu bildirilmiştir (140).

2.5.11. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Micro Computed Tomography) (μ CT)

Tıp ve diş hekimliğinde gelişmekte olan araştırma alanlarından birisi de tanı amacıyla non-invazif 3 boyutlu analitik tekniklerin hizmete sunulmasıdır. Dişler, kemikler, dental implantlar ve dental restorasyonlar gibi küçük ve kompleks yapıların Mikro bilgisayarlı tomografi (μ CT) ile taranıp üç boyutlu model analizi ile üç boyutlu

görüntülerinin elde edilmesi daha tam ve kesin veriler elde etmemizi sağlar. Dişlerin tüm yapıları yoğunluk derecelerine göre farklı gri tonlarında ve farklı piksel değerlerinde görülmesi mümkündür (142).

Bu tez çalışmasının amacı; deneysel olarak geliştirilmiş ve henüz çok fazla araştırılmamış bir materyal olan nano gümüş florürün yapay mine çürüğü oluşturulmuş lezyonlarda minenin mikrosertliğini ne düzeyde etkilediğinin, gümüş diamin florür ve sodyum florür vernikle karşılaştırılmalı olarak incelenmesi ve yüzey değişimlerinin SEM ile değerlendirilmesidir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Diş Örnek Sayısının Belirlenmesi

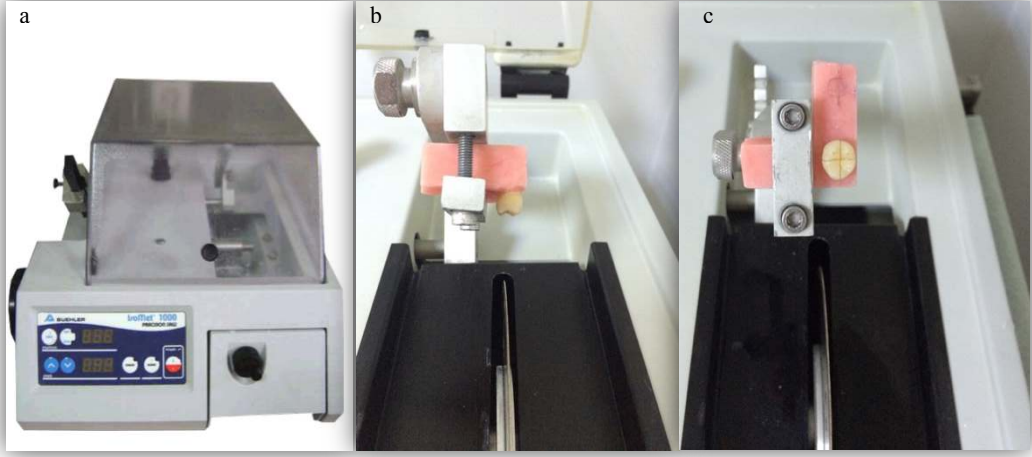
Örneklem hacminin belirlenmesi amacıyla araştırmaya başlamadan önce "güç analizi" gerçekleştirilmiştir. F tests – ANOVA (Fixed effects, omnibus, one-way) testine göre; $\alpha=0,05$ anlamlılık düzeyi, güç $(1-\beta) = 0,80$, etki büyüklüğü orta düzeyde (0,25), grup sayısı 4 olarak alındığında toplam en küçük örnek büyüklüğü 180 örnek olarak hesaplanmıştır.

3.2. Mine Örneklerinin Toplanması

Araştırmamız için gerekli olan etik kurul onayı, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu Başkanlığı'ndan alınmıştır (2015/539-05.05.2015). Araştırmamızda, Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda çekim endikasyonu bulunan, kök gelişimi tamamlanmış toplam 45 adet sağlam üçüncü büyük azı dişi hastalardan onam alınarak toplanmıştır. Dişlerin sağlam (çürüksüz ve dolgusuz), çekim sırasında hasar görmemiş olmasına ve diş minesinde yapısal bozukluk olmamasına dikkat edilmiştir. Dişlerin çekim zamanlarıyla deney amaçlı kullanım zamanları arasında 2 aydan daha fazla süre geçmemesine özen gösterilmiştir (143). Bu süre zarfında dişler %0,1'lik Timol solüsyonunda bekletilmiştir (143, 144).

3.3. Mine Örneklerinin Hazırlanması

Dişlerin kuronları, mine-sement sınırından elmas separe ile su soğutması altında köklerinden ayrılmıştır. Dişlerin kuron pulpası ekskavatör yardımı ile uzaklaştırılmıştır. Daha sonra Akrilik bloklara sabitlenen dişler İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Konservatif Diş Tedavisi Araştırma Laboratuvarında bulunan düşük hızlı kesme cihazında (Isomet Saw, Buehler Ltd, Evanston IL, ABD) (Resim 1a), bukkal-lingual yönde 2 (Resim 1b), mezio-distal yönde 2 (Resim 1c) parçaya bölünerek, her diştten toplam 4 adet mine bloğu elde edilmiştir. Böylece deneyler sırasında kullanılmak üzere toplam 180 adet mine örneği elde edilmiştir.



Resim 1: Çalışmada kullanılan hassas kesme cihazı (a), bukko-lingual yönde kesim (b), mezio-distal yönde kesim (c)



Resim 2: Mikrosertlik testi için hazırlanan örnekler

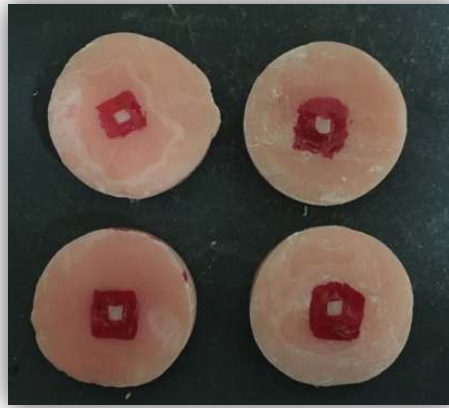
Mikrosertlik testlerinde kullanılmak üzere hazırlanan toplam 180 adet sağlam mine örneği akrilik bloklar içerisine yüzeyleri tabana paralel olacak şekilde akrilik blok içerisine gömülmüştür (Resim 2). Mikroskop altında net bir görüntü elde edilebilmesi amacıyla mine örneklerinin yüzeyleri 300, 600 ve son olarak 1200 gritlik abraziv kağıt diskler (Al_2O_3) ile su soğutması altında yatay döner zımpara makinesinde (PRESI Mecatech 234, Tavernolles City, France) (Resim 3) zımparalanmış ve düzgün, pürüzsüz ve parlak mine

yüzeyleri elde edilmiştir. Zımparalama esnasında zımparalama yönü değiştirilerek bir önceki zımparanın sebep olduğu izler ortadan kaldırılarak ve eşit miktarda cilalama yapılabilmesi sağlanmıştır. Zımparalama ve cilalama işlemleri sonucunda her örnekte düz bir yüzey elde edilmiş olup, pürüzsüz yüzeyin elde edilemediği durumlarda zımparalama işlemi tekrarlanmıştır. Cilalama sonrasında örnekler su ile yıkanıp kurutulmuştur.



Resim 3: Çalışmada kullanılan polisaj cihazı

180 örneğin bukkal ve lingual yüzeylerinde, mine-sement sınırının yaklaşık 1mm üst tarafında 3x3 mm'lik (yükseklik x genişlik) pencereler hazırlamak amacıyla 3x3 mm'lik etiketler yapıştırılmıştır ve etiket dışında kalan doğal diş yüzeyleri aside dirençli vernik ile boyanmıştır (Resim 4).



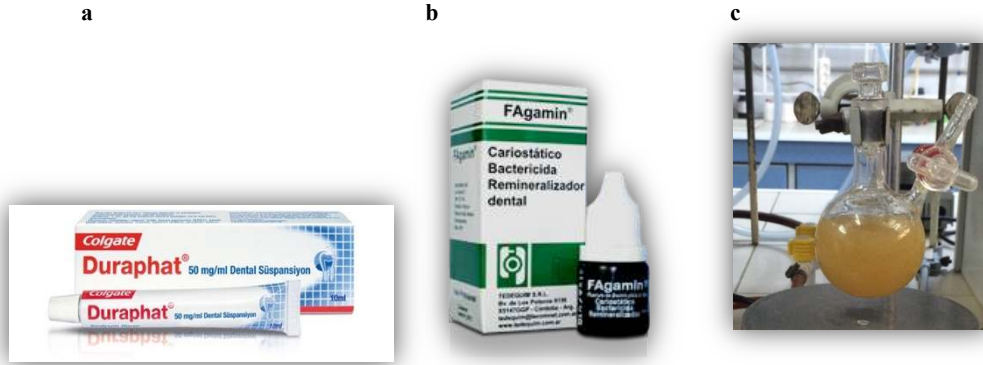
Resim 4: 3x3 mm'lik oluşturulan pencereler

3.4. Grupların Oluşturulması

Araştırmamızda uygulanan tedavilerin etkinliğinin aynı diş üzerinde değerlendirilebilmesi amacıyla, her dişten elde edilen 4 adet mine örneğinden 1'i kontrol, diğer 3' deney gruplarında olacak şekilde gruplara ayrılmıştır.

Deney grupları:

- Grup FV: Sodyum florür içerikli Duraphat® (Colgate-Palmolive Co, New York) (Resim 5a) florürlü vernik uygulanmıştır.
- Grup GDF: %38'lik gümüş diamin florür (GDF) (Fagamin®, Tedequim S.R.L., Cordoba, ARJANTİN)(Resim 5b) solüsyonu uygulanmıştır.
- Grup NGF: Deneysel bir formülasyon olan nano gümüş florür solüsyonu (Resim 5c) uygulanmıştır
- Grup Kontrol: Deiyonize su kullanılmıştır



Resim 5: Sodyum Florürlü vernik (Duraphat) (a), Gümüş Diamin Florür (Fagamin) (b), Nano Gümüş Florür (c)

3.5. Başlangıç Mikrosertlik Öölümlerinin Yapılması

Etiketler çıkarıldıktan sonra örnek yüzeylerinde sırayla mikrosertlik ölçümüne başlanmıştır. Ölçümler İzmir Katip elebi Üniversitesi Mühendislik Fakltesi Mekanik Test Laboratuvarı' nda, Vickers ucu bulunan mikrosertlik cihazı (Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) (Resim 6) ile gerçekleştirilmiştir. Cihaz zerindeki tablaya st ve alt yüzeyi paralel olarak hazırlanmış olan kesit örnekleri yerleştirilmiştir. Ölçümler üç farklı noktada gerçekleştirilmiştir. Kenar bölgelerde ölçüm yapılmasından kaçınılmıştır. Ölçümler örneklerin yüzeyine, tabanı piramit şeklinde olan ucun 200 gramlık kuvvetin 10 saniye uygulanması sonrası meydana getirdiği izin köşegenlerinin ölçülmesi ile sağlanmıştır (145-147). Mikrosertlik ölçümlerinde bölgesel farklılıkların ortadan kaldırılabilmesi için ölçüm yapılan bölgelerden 100'er m uzaklaşılarak 3 ayrı ölçüm yapılmış ve ortalamaları alınmıştır.



Resim 6: Çalışmada kullanılan mikrosertlik cihazı

3.6. Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması ve Başlangıç Mine Lezyonlarının Oluşturulması

Yapay çürük oluşturmak amacıyla kullanılacak olan demineralizasyon solüsyonu Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Elektrokimya Laboratuvarında hazırlanmıştır.

Demineralizasyon solüsyonu;

- 2,2 mM CaCl_2 (Kalsiyum Klorür)
- 2,2 mM NaH_2PO_4 (Mono Sodyum Fosfat)
- 0,05 M asetik asit içeriklidir ve pH 1,0 M KOH (Potasyum Klorür) ile 4,4' e ayarlanmıştır (148).

Örnekler başlangıç çürük lezyonu oluşturmak amacıyla 4 gün boyunca demineralizasyon solüsyonunda, 37°C 'de bekletilmiştir (Resim 7). Her bir örnek 10 ml demineralizasyonu içeren kapaklı numune kapları içinde bekletilip, solüsyonlar 48 saat sonunda tazelenmiştir. Demineralizasyon solüsyonundan çıkarılan örnekler distile su ile yıkanıp, kurulanmıştır.



Resim 7: Örnekler 37°C 'de etüvde bekletilmiştir.

3.7. Demineralizasyon Sonrası Mikrosertlik Ölçümlerinin Yapılması

Demineralizasyon solusyonundan çıkartılan örnekler distile su ile yıkanıp, kurutma kağıtları yardımıyla kurutulmuştur. Cihaz tablasına (Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) yerleştirilen örnek yüzeylerinde tekrar 3 farklı noktada olmak üzere mikrosertlik değeri ölçümü yapılmıştır. Mikrosertlik ölçümleri sırasında başlangıç mikrosertlik ölçümü yapılan 3 noktadan tekrar ölçüm yapılmamasına dikkat edilmiştir. Mikrosertlik ölçümlerinde bölgesel farklılıkların ortadan kaldırılabilmesi için ölçüm yapılan bölgelerden 100'er µm uzaklaşarak 3 ayrı ölçüm yapılmış ve ortalamaları alınmıştır.

3.8. Ph Siklusu İçin Demineralizasyon/Remineralizasyon Solüsyonlarının Hazırlanması

pH döngüsünde kullanılacak olan demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonları Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Elektrokimya Laboratuvarında hazırlanmıştır. Hazırlanan demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarının kimyasal yapısı aşağıda belirtilmiştir;

Demineralizasyon solüsyonu;

- 2.0 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Kalsiyum Nitrat Tetra Hidrat)
- 2.0 mmol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sodyum Dihidrojen Fosfat)
- 0,75 mM asetat tamponu
- 0.04 ppm F

Solüsyonun pH'sı 4,7 olana kadar 1 M KOH eklenmiştir (149).

Remineralizasyon solüsyonu;

- 1.5 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- 0.9 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,
- 150 mmol/L KCl
- 0.02 mol/L Tris tamponu
- 0.05 ppm F

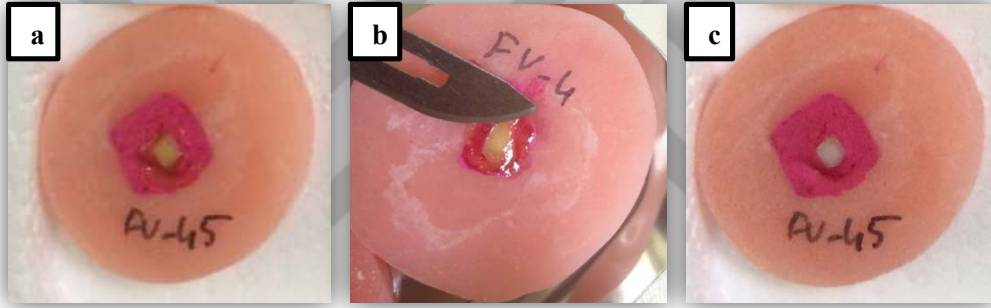
Solüsyonun pH'sı 7,00 olana kadar 1 M KOH eklenmiştir (149).

3.9. Remineralizasyon Ajanlarının Uygulanması

Yapay çürük lezyonu oluşturulmuş mine yüzeylerine uygulanan deney materyalleri üreticilerinin tavsiyelerine uygun olarak kullanılmıştır.

3.9.1. Duraphat Vernik Uygulanması

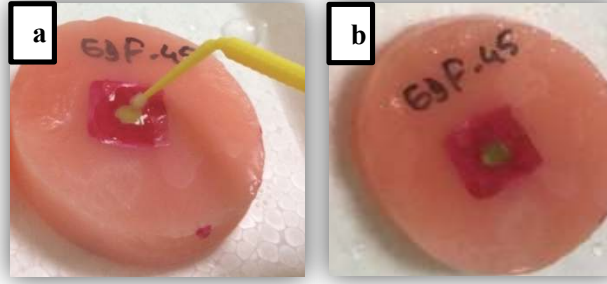
Örnek yüzeyleri kurutulup Duraphat Vernik uygulaması yapılmıştır (Resim 8a). 24 saat nemli ortamda bekletildikten sonra bistüri ile oluşan vernik tabakası uzaklaştırılmıştır (Resim 8b). Aseton ile kalan duraphat artıkları uzaklaştırıldıktan sonra (Resim 8c) örnekler Ph siklusuna tabi tutulmuştur.



Resim 8: Duraphat vernik uygulama sonrası örnek yüzeyi (a), Bistüri ile oluşan vernik tabakası uzaklaştırılması (b), Aseton ile kalan vernik artıkları uzaklaştırıldıktan sonra örnek yüzeyi (c)

3.9.2. Gümüş Diamin Florürün Uygulanması

Örnek yüzeyleri kurutulduktan sonra 1-2 damla gümüş diamin florür mikrofırça ile uygulanmıştır (Resim 9a). 2 dakika sonra örnekler yıkanıp, kurutulmuştur. 24 saat nemli ortamda bekletildikten sonra pH siklusu uygulanmıştır (Resim 9b).



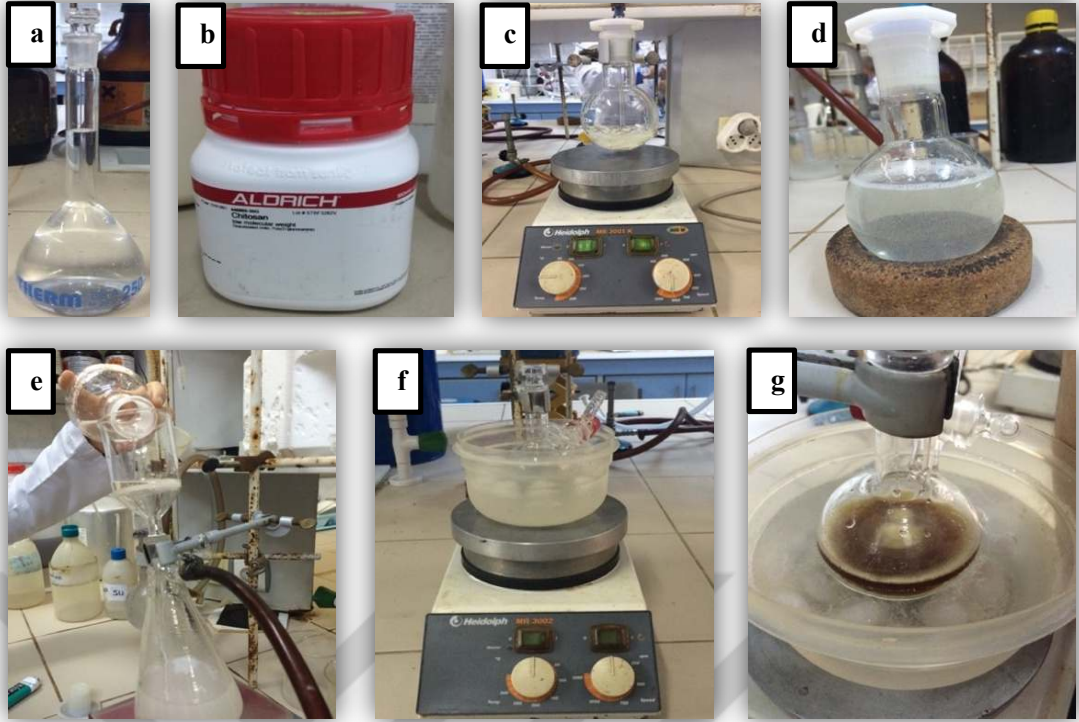
Resim 9:Gümüş Diamin Florür uygulaması
(a), pH siklusu sonrası GDF uygulanan örnek
yüzeyi

3.9.3. Nano Gümüş Florür Solüsyonunun Hazırlanması ve Uygulanması

Nano Gümüş Florür Solüsyonu, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Laboratuvarında hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyonun kimyasal yapısı aşağıda belirtilmiştir;

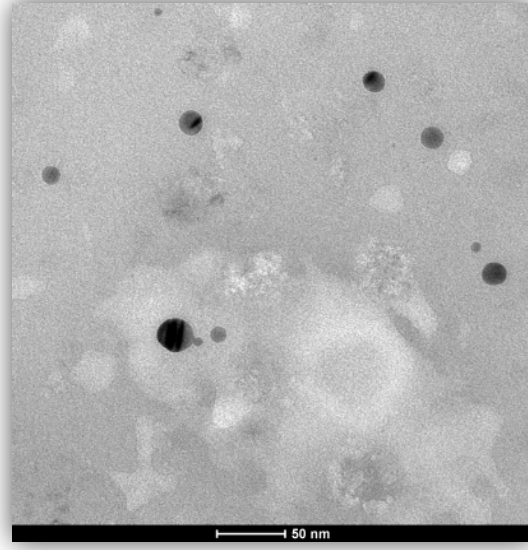
- 1% asetik asit (V/V)
- 7,5 mg Kitosan
- 0,11 mol/L Gümüş Nitrat (AgNO_3)
- 0,8 mol/L Sodyum Borhidrit (NaBH_4)
- 10,147 Sodyum Florür (NaF)

Kolloidal gümüş hazırlamak için, 30 mL %1'lik Asetik asit (Resim 10a) içinde 7,5 mg kitosan (Resim 10b) çözdürülmüştür (Resim 10c). Homojen bir karışım elde etmek için solüsyon bir gece boyunca karıştırılıp (Resim 10d) ve ardından vakum altında filtre edilmiştir (Resim 10e). Elde edilen kitosan karışımından 28,7 mL alınıp buz banyosu içine yerleştirilerek (Resim 10f), karıştırılmaya devam edilmiştir. Ardından 1 mL taze hazırlanmış 0,11 mol/L AgNO_3 çözeltisi karışıma eklenmiştir. 30 dakika daha karıştırıldıktan sonra, 0,3 mL taze hazırlanmış 0,8 M NaBH_4 çözeltisi karışıma damla damla eklenmiştir (Resim 10g). Başlangıçta renksiz olan çözelti, gümüş iyonları indirgendikçe önce sarımsı, sonra kırmızımsı bir renk almıştır. İndirgenme tamamlandıktan sonra en son açık sarı renkli bir solüsyon haline gelmiştir. Son olarak 10,147 ppm NaF eklenerek ve bir gece daha karıştırılmaya devam edilmiştir.



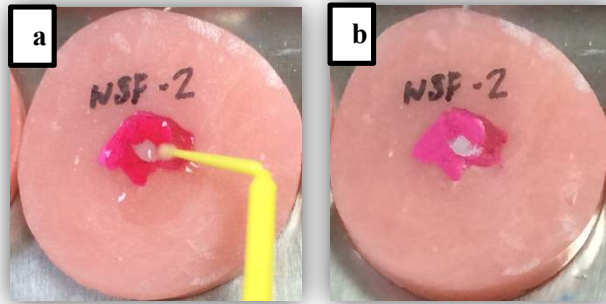
Resim 10: %1'lik Asetik Asit (a), Kitosan (b), 7,5 mg Kitosan'ın 30 mL %1'lik Asetik asit içinde çözünmesi için manyetik karıştırıcıda bir gece boyunca karıştırılmıştır (c), Solüsyonun bir gece boyunca karıştırıldıktan sonraki homojen görünümü (d), Karışım vakum altında filtre edilmiştir (e), Buz banyosu içerisinde 24 saat karıştırılmıştır (f), 1 mL taze hazırlanmış 0,11 mol/L AgNO_3 çözeltisi karışıma eklenip; 30 dakika daha karıştırıldıktan sonra, 0,3 mL taze hazırlanmış 0,8 M NaBH_4 çözeltisi karışıma damla damla eklenmiştir (g)

Nano gümüş florür solüsyonunun içerisinde oluşan gümüş nanopartikül boyutlarının değerlendirilmesi amacıyla TEM incelemesi yapılmıştır ve gümüş nanopartiküllerin boyutunun 50 nm'den daha küçük olduğu, 5-10 nm boyutundaki partiküllerin daha çok olduğu belirlenmiştir (Resim 11).



Resim 11: Nano Gümüş Florür içerisindeki gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüsü

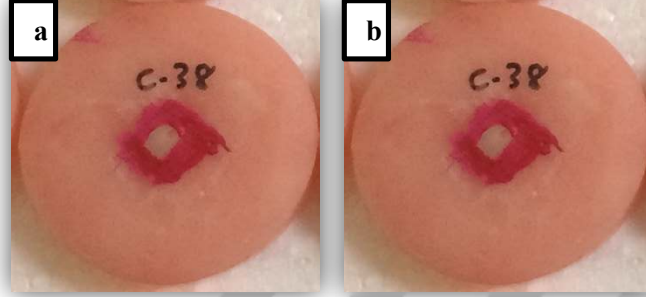
Örnek yüzeyleri kurutulduktan sonra 1-2 damla nano gümüş florür solüsyonu mikro fırça ile uygulanmıştır (Resim 12a). 2 dakika sonra örnekler yıkanıp, kurutulmuştur ve 24 saat nemli ortamda bekletildikten sonra pH siklusuna tabi tutulmuşlardır (Resim 12b).



Resim 12: NGF uygulanması (a), pH siklusu sonrası NGF uygulanmış örnek yüzeyi (b)

3.9.4. Kontrol Grubuna Deiyonize Su Uygulanması

Örnek yüzeyleri kurutulduktan sonra 1-2 damla deiyonize su mikrofırça ile uygulanmıştır. 24 saat nemli ortamda bekletildikten sonra pH siklusu uygulanmıştır (Resim 13a - Resim 13 b).



Resim 13: Deiyonize su uygulaması sonrası örnek yüzeyi (a), pH siklusu sonrası örnek yüzeyi (b)

3.10. pH Siklusu

Ağız ortamındaki gün boyu değişen pH değişikliklerini taklit etmek amacıyla, Vieira ve ark. (149) tarafından önerilen pH döngüsü kullanılmıştır. Demineralizasyon ve remineralizasyon solusyonları için ayrı kaplar kullanılmıştır ve solusyonların tazelenmesi sırasında kaplar yıkanıp ve kurulanmıştır. Kullanılan solusyonların pH değerleri düzenli olarak pH ölçer striplerle kontrol edilmiştir. Örnekler 7 gün süresince, vücut ısını taklit edebilmek amacıyla, 37°C etüv içinde tutulmuştur (Resim 14). Vieira ve ark.'nın (149) yaptıkları çalışmadaki gibi pH siklus sırasında örnekler 5 gün boyunca demineralizasyon solüsyonunda 3'er saat, remineralizasyon solüsyonunda 21 saat bekletilmiştir. Sonraki 2 gün boyunca örnekler remineralizasyon solüsyonu içerisinde tutulmuştur.



Resim 14:pH siklusu sırasında kullanılan etüv

3.11. pH siklusu sonrası mikrosertlik ölçümlerinin yapılması

180 örnek, siklus sonrası yıkanıp kurulandıktan sonra tekrar ölçüm cihazının (Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) tablasına yerleştirildi ve daha önce ölçüm yapılan noktalarda meydana gelen çöküntü alanlarına dikkat edilerek belirlenen ölçüm noktalarından son kez mikrosertlik ölçümü yapılarak değerler kaydedilmiştir. Mikrosertlik ölçümlerinde bölgesel farklılıkların ortadan kaldırılabilmesi için ölçüm yapılan bölgelerden 100'er µm uzaklaşarak 3 ayrı ölçüm yapılmış ve ortalamaları alınmıştır.

3.12. SEM Örneklerinin Hazırlanması

6 adet üçüncü büyük azı dişi kron ve kök kısımları birbirinden ayrıldıktan sonra ISOMET (Buehler Lake Bluff, Illinois, USA) su soğutmalı mikrotom cihazı, çift taraflı kesen elmas ince bıçak kullanılarak bukkal-lingual ve mesio-distal yönde ayrılarak dört parçaya bölünmüştür. Toplamda 24 parça örnek elde edilmiş ve 16 parça her bir diştten birer parça olacak şekilde dört gruba paylaştırılmıştır. Örnekler, pembe akrilik içine bukkal ve lingual yüzeyler açıkta kalacak şekilde gömülmüştür. Sonuçta her biri, her bir diştten birer parça içeren, dört adet akrilik blok oluşturulmuştur. Sağlam mine yüzeylerinin ve

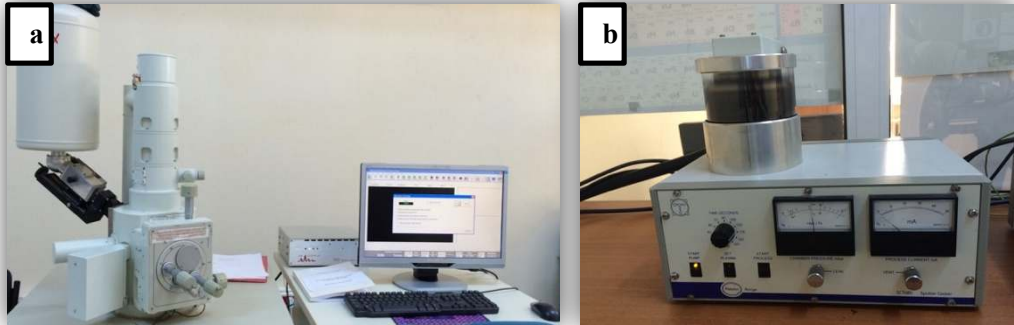
demineralizasyon sonrası oluşan mine yüzeylerinin değerlendirilmesi için kalan parçalar her dişten 2'şer parça olacak şekilde 2 bloğa gömülmüştür (Resim 15). Sağlam mine yüzeyinin değerlendirilmesi için ayrılan blok dışındaki tüm bloklar demineralizasyona maruz bırakılmıştır. Sonrasında bir blok demineralizasyon sonrası değerlendirme için ayrılmıştır. Diğer dört bloktaki örnekler ise tıpkı mikrosertlik aşamasında olduğu gibi remineralizasyon ajanları uygulanıp, pH siklus sistemine tabi tutulmuştur.



Resim 15: SEM incelemesi için hazırlanan örnekler

3.13. SEM Örneklerinin Değerlendirilmesi

Taramalı Elektron Mikroskop analizleri Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Metalurji Malzeme Mühendisliği Bölümü Elektron Mikroskop Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Analizlerde, SEM (Jeol JSM 6060, Japonya) kullanılmıştır (Resim 16a). Tüm örnekler öncesinde 100 Angstrom ($\text{\AA}$) kalınlığında altın-palladyum ile kaplanarak, SEM’de $\times 2500$ büyütme altında görüntüler elde edilmiştir. Örneklerin yüzeyini kaplama işlemi aynı merkezde bulunan kaplama cihazı (VG Microtech, Polaron SC7620 Sputter Coater) ile yapılmıştır (Resim 16b).



Resim 16: Çalışmada kullanılan taramalı elektron mikroskobu (a), çalışmada kullanılan kaplama cihazı (b)

3.14. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmanın istatistiksel analizi “Statistical Package for the Social Sciences” yazılımı (SPSS 17 for Windows, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) kullanılarak yapılmıştır. Mikrosertlik değerleri ölçüm güvenilirliği için; ‘Başlangıç’, ‘Demineralizasyon Sonrası’ ve ‘pH Siklusu Sonrası’ sınıfları için korelasyon katsayısı belirlenmiştir. Bağımsız gruplar arası farkı belirlemeden önce varyansların homojen olup olmadığı Shapiro-Wilk analizi ile test edilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum) verilmiştir. Ölçümler normal dağılıma uymadığı için gruplar arası ölçüm değerlendirilmesinde non parametrik testler uygulanmış olup, Kruskal-Wallis analizi uygulanmıştır ve $p < 0.05$ düzeyinde anlamlılık kabul edilmiştir. İstatistiksel anlamda önemli fark var ise farkın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını belirlemek için Bonferroni düzeltmesi yapılarak uygulanan Mann-Whitney U testleri uygulanmıştır ve p anlamlılık düzeyi 0.008 olarak alınmıştır. Grup içi tekrarlayan ölçümlerin değerlendirilmesinde Friedman testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak farklılığın saptanması için Bonferroni düzeltmesi yapılarak Wilcoxon testi yapılmıştır ve p anlamlılık düzeyi 0.017 kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Mikrosertlik Testi Bulguları (Vickers Değerinde)

Çalışmamızda in vitro koşullarda oluşturulan başlangıç mine lezyonu üzerine uygulanan farklı flor içerikli remineralizasyon ajanlarının pH döngüsü sonrasında oluşturduğu etkilerin kalitatif olarak değerlendirilebilmesi için yüzey mikrosertlik testi uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan her bir diş örneğinden üç adet ölçüm yapılmış ve elde edilen değerlerin ortalaması, o örneğin mikrosertliği olarak Vickers sertlik değeri (VHN) cinsinden kaydedilmiştir. Grupların Mikrosertlik testine göre ortalama, minimum, maksimum değerleri ile ortalama ve standart hata değerleri Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Grupların mikrosertlik ölçümleri sonrası ortalama, standart hata, ortalama, minimum ve maksimum değerleri

		Ortalama	Standart Hata	Ortanca	Minimum	Maksimum
FV	Başlangıç	341,18	1,22	337,10	330,57	361,80
n:45	Demineralizasyon	173,26	1,55	174,70	154,63	194,00
	Remineralizasyon	230,85	1,88	229,96	206,80	280,30
GDF	Başlangıç	338,97	1,18	336,00	326,53	356,43
n:45	Demineralizasyon	172,89	1,72	175,90	154,03	196,17
	Remineralizasyon	222,59	2,28	222,96	192,83	270,47
NGF	Başlangıç	340,22	1,19	337,13	329,33	357,63
n:45	Demineralizasyon	171,89	1,62	169,00	154,17	195,43
	Remineralizasyon	195,43	1,77	191,36	177,07	222,30
Kontrol	Başlangıç	339,36	1,17	335,70	328,80	355,80
n:45	Demineralizasyon	172,65	1,66	172,60	154,17	196,43
	Remineralizasyon	174,46	1,80	175,80	144,33	202,07

Bağımsız gruplar arası farkı belirlemeden önce varyansların homojen olup olmadığı Shapiro-Wilk analizi ile test edilmiştir ve varyansların bazı gruplarda homojen dağılmadığı görülmüştür.

Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik ölçümlerinin üç kez tekrarlanmış ölçüm güvenilirliği için sınıfiçi korelasyon katsayıları hesaplanmıştır.

Grupların hiçbir işleme maruz bırakılmamış sağlam mine yüzeylerinin 3 farklı noktasından alınan mikrosertlik ölçümlerinin birbirleri ile uyumlu olduğu, ölçümlerin güvenilir olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: Grupların Başlangıç Mikrosertlik Ölçüm Güvenilirliği

Başlangıç Mikrosertlik Değerlerinin Ortalaması			
	Sınıfiçi Korelasyon	%95 Güven Aralığı	
	Katsayısı	Alt Sınır	Üst Sınır
FV	0,80	0,69	0,88
GDF	0,80	0,68	0,88
NGF	0,81	0,71	0,89
KONTROL	0,76	0,63	0,86

Sınıfiçi korelasyon katsayılarına göre, demineralizasyon sonrası gruplardan alınan 3 farklı mikrosertlik ölçümünün birbirleri ile uyumlu olduğu, ölçümlerin güvenilir olduğu belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3: Grupların Demineralizasyon Sonrası Mikrosertlik Ölçüm Güvenilirliği

Demineralizasyon Sonrası Mikrosertlik Değerlerinin Ortalaması			
	Sınıfiçi Korelasyon	%95 Güven Aralığı	
	Katsayısı	Alt Sınır	Üst Sınır
FV	0,89	0,82	0,93
GDF	0,90	0,85	0,94
NGF	0,89	0,82	0,93
KONTROL	0,90	0,85	0,94

Remineralizasyon ajanlarının uygulanması sonrası gruplardan alınan 3 farklı mikrosertlik ölçümünün birbirleri ile uyumlu olduğu, ölçümlerin güvenilir olduğu belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 4: Grupların Remineralizasyon Sonrası Mikrosertlik Ölçüm Güvenilirliği

Remineralizasyon Sonrası Mikrosertlik Değerlerinin Ortalaması			
	Sınıfıçi Korelasyon	%95 Güven Aralığı	
	Katsayısı	Alt Sınır	Üst Sınır
FV	0,92	0,88	0,95
GDF	0,95	0,92	0,97
NGF	0,91	0,86	0,94
KONTROL	0,92	0,88	0,95

Grupların başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası elde edilen mikrosertlik değerlerindeki gruplararası farkın değerlendirilmesi amacıyla Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Kruskal Wallis Varyans Analizine göre, grupların başlangıç ve demineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Remineralizasyon sonrası elde edilen mikrosertlik ölçüm değerleri karşılaştırıldığında ise gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.001$) (Tablo 5). Gruplar arası farkın hangi gruptan kaynaklandığının saptaması için Bonferroni düzeltmesi yapılarak uygulanan Mann-Withney U testleri uygulanmış olup; p değeri 0,008'in altında anlamlı kabul edilmiştir. Grupların deney sonrası değerleri karşılaştırıldığında, FV grubunun GDF, NGF ve kontrol gruplarına göre; GDF grubunun NGF ve kontrol grubuna göre; NGF grubunun ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek mikrosertlik değeri gösterdiği belirlenmiştir. Remineralizasyon sonrası grupların mikrosertlik değerlerinin karşılaştırıldığı Mann-Withney U test değerleri ve p anlamlılık değerleri Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 5: Grup içi ve Gruplar Arası Mikrosertlik Değerlerinin Karşılaştırılması

	Başlangıç	Demineralizasyon	Remineralizasyon	Friedman Chi-square	p
	Ortanca (Min-Max)	Ortanca (Min-Max)	Ortanca (Min-Max)		
KONTROL	335,70*,** (328,80-355,80)	172,60 †,** (154,17-196,43)	175,80†,** (144,33-202,07)	70,71	<0.001
NGF	337,13*,** (329,33-357,33)	169,00 †,** (154,17-195,43)	191,36‡, †† (177,07-222,30)	90,00	<0.001
FV	337,10*,** (330,57-361,80)	174,70 †,** (154,63-194,00)	229,96‡,‡‡ (206,80-280,30)	90,00	<0.001
GDF	336,00 *,** (326,53-356,43)	175,90 †,** (154,03-196,17)	222,96‡,§§ (192,83-270,47)	90,00	<0.001
Kruskal Wallis H Test Değeri	3,52	0,33	136,14		
p	>0.05	>0.05	<0.001		

*, †, ‡: Aynı satırda istatistiksel olarak anlamlı olan değerler farklı simgelerde gösterilmiştir.

**, ††, ‡‡, §§: Aynı sütunda istatistiksel olarak anlamlı olan değerler farklı simgelerde gösteril

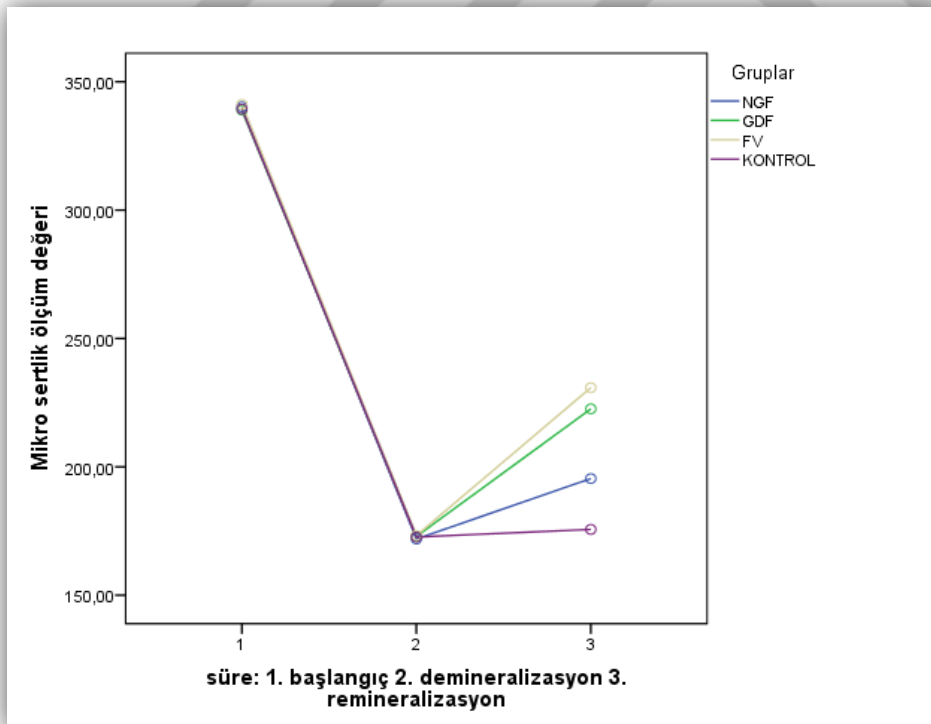
Tablo 6: Remineralizasyon sonrası grupların mikrosertlik ortalamalarının karşılaştırılması

		FV	GDF	NGF	KONTROL
FV	U		668,50	31,00	0,00
	p		0.006	<0.001	<0.001
GDF	U			165,00	7,00
	p			<0.001	<0.001
NGF	U				244,00
	p				<0.001

U: Mann-Withney U test Değeri

p: p değeri (<0.008 istatistiksel anlamlılık düzeyi)

Başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon ölçümlerinin tedavi gruplarına göre değişimi modeli şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1: Başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon ölçümlerinin tedavi gruplarına göre değişimi modeli

Her bir tedavi ve kontrol grubunun kendi içerisindeki tekrarlı ölçümleri Friedman analizi ile değerlendirilmiştir. Tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık olduğu görülmüştür ($p<0.001$) (Tablo 5). İstatistiksel farklılıkların hangi gruptan kaynaklandığı ise Bonferroni düzeltmesi kullanılarak yapılan Wilcoxon analizlerine göre belirlenmiştir ve istatistiksel olarak p değerinin 0.017'den küçük olması anlamlı kabul edilmiştir. Tüm remineralizasyon protokollerinde ve kontrol grubunda, başlangıç mikrosertlik ölçüm değerleri ile demineralizasyon sonrasında elde edilen ölçüm değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede yüzey sertliğinde azalma olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Tüm gruplarda remineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri de demineralizasyon sonrası elde edilen mikrosertlik değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: Tekrarlayan Ölçümlerde Grup İçi Mikrosertlik Ortalamalarının Karşılaştırılması

		KONTROL	NGF	FV	GDF
		Ortanca (Min-Max)	Ortanca (Min-Max)	Ortanca (Min-Max)	Ortanca (Min-Max)
Başlangıç-	Z	-5,84	-5,84	-5,84	-5,84
Demineralizasyon	p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Başlangıç-	Z	-5,84	-5,84	-5,84	-5,84
Remineralizasyon	p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Remineralizasyon	Z	-2,89	-5,84	-5,84	-5,84
-	p	0.019	<0.001	<0.001	<0.001
Demineralizasyon					

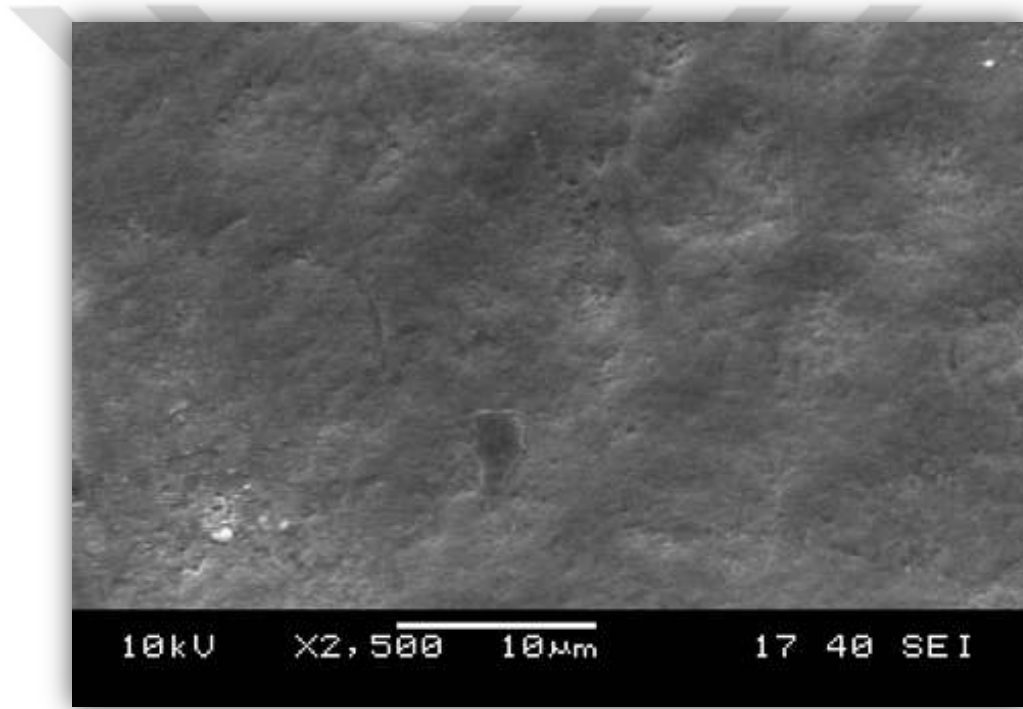
Z: Wilcoxon Z Test Değeri

p: p değeri (<0.017 istatistiksel anlamlılık düzeyi)

4.2. SEM Bulguları

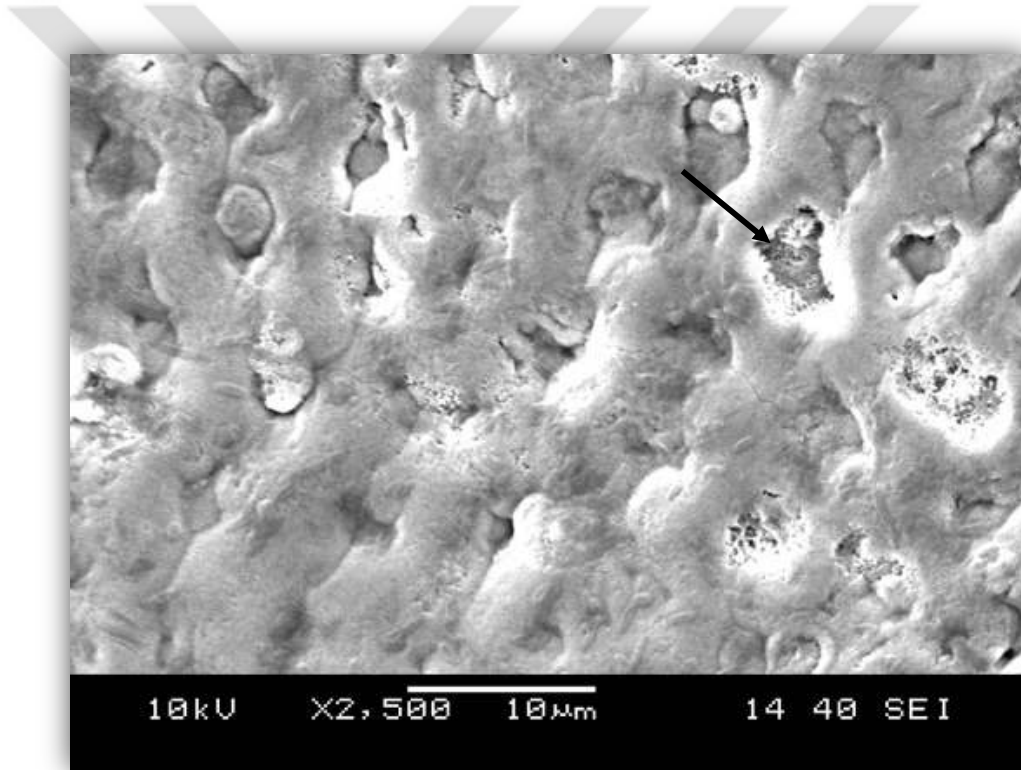
Sağlam mine yüzeylerinin, demineralizasyonun mine yüzeyinde oluşturduğu değişikliklere ve başlangıç mine lezyonlarına farklı yöntemlerle flor uygulamalarının mine yüzeylerinde meydana getirdiği morfolojik farklılıklara ait örnek SEM görüntüleri aşağıda verilmiştir. Başlangıç mine lezyonları üzerine farklı yöntemlerle uygulanan her bir flor tedavisinin yüzeyde kendi reaksiyon ürünlerini oluşturarak farklı görüntüler meydana getirdiği görülmüştür.

Sağlam mine örneklerinin SEM ile x2500 büyütme yapılan görüntüsünde mine yüzeyinin pürüzsüz olduğu gözlenmektedir (Resim 17) .



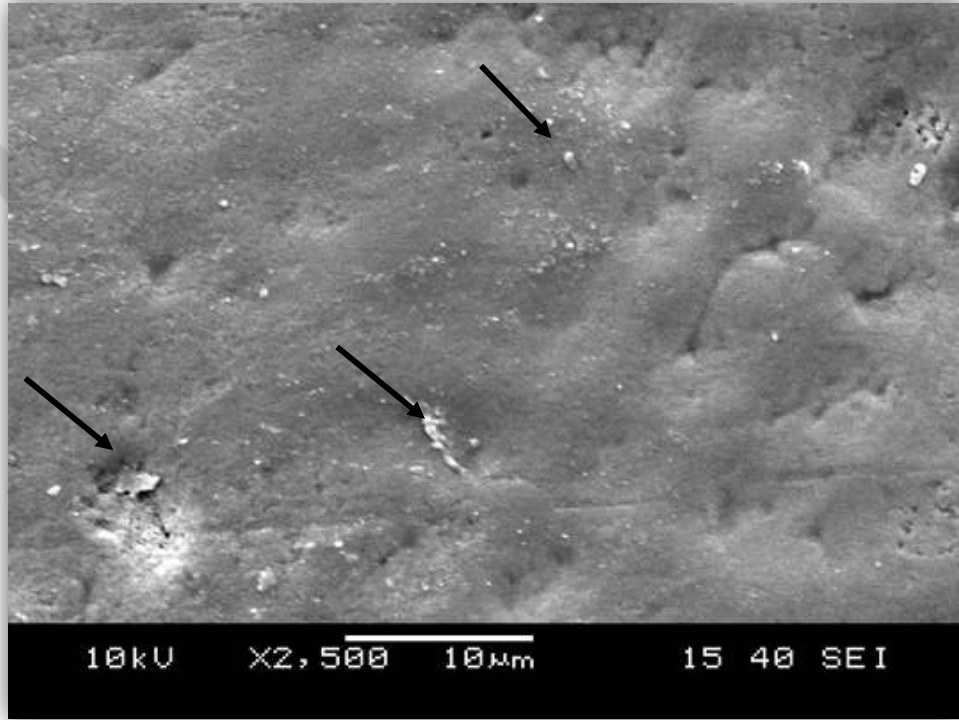
Resim 17: Sağlam mine örneğinin x2500 büyütmede SEM görüntüsü

Demineralizasyon solüsyonunda tutularak yapay çürük lezyonu oluşturulan örneklerin SEM ile x2500 büyütme yapılan görüntüsünde (Resim 18); mine yüzeyinin oldukça poröz yapıda olduğu, prizma korlarının demineralize olarak çözünmesi minenin asitlenmesi sonucunda gözlenen Tip II dağlanmaya benzer bir yüzey görüntüsü olduğu gözlemlenmiştir. Prizma korlarının eriyerek periferal bölgelerin sağlam kalması, anahtar deliği şeklindeki görüntülerin ortaya çıkmasına neden olmuş, ancak bazı bölgelerde prizma periferlerinin de ortadan kalktığı ve bu bölgelerin birbirleri ile birleşmesi sonucunda geniş yarıkların ve çukurcukların olduğu izlenmiştir. İyi ve homojen bir demineralizasyondan söz edilebilmektedir.



Resim 18: Demineralizasyon sonrası yapay çürük oluşturulmuş mine yüzeyinin x2500 büyütmede SEM görüntüsü: Prizmaların periferlerinin demineralizasyonu sonucu oluşan yarıklar

Florürlü vernik uygulanan örneklerin pH döngüsü sonrasında SEM ile x2500 büyütme yapılan görüntüsünde (Resim 19); demineralizasyon sonrasında oluşan minede interprizmatik boşlukların, florürlü vernik uygulaması sonrasında tıkanıp saptanmıştır. Florlu verniğin dış yüzeyinde pürüzlü bir film tabakası oluşturduğu ve yüzey üzerinde homojen olmayan globüler CaF_2 mineral çökmesi izlenimi veren görüntüler izlenmektedir.



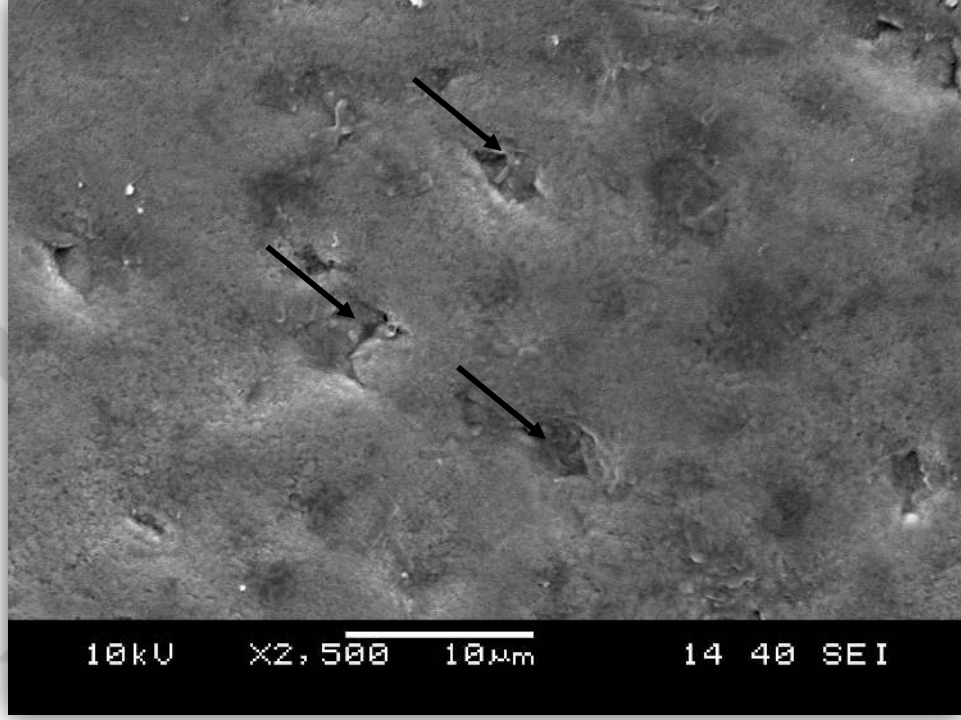
Resim 19: Florürlü vernik uygulanan FV grubuna ait örneğin pH döngüsü sonrasında taramalı elektron mikroskobu ile x2500 büyütme yapılan görüntüsü: CaF_2 mineral çökelmeleri

pH döngüsü öncesinde gümüş diamin florür uygulanan örneklerin, pH döngüsü sonrası SEM ile x2500 büyütme yapılan görüntüsünde (Resim 20); minede interprizmatik boşlukların yer yer tıkanıdığı ve açıkta kalan interprizmatik alanların olduğu görülmüştür. Bununla birlikte gümüş partiküllerinin mine yüzeyine çökeldiği ve poröz bir yapı oluşturduğu gözlemlenmiştir.



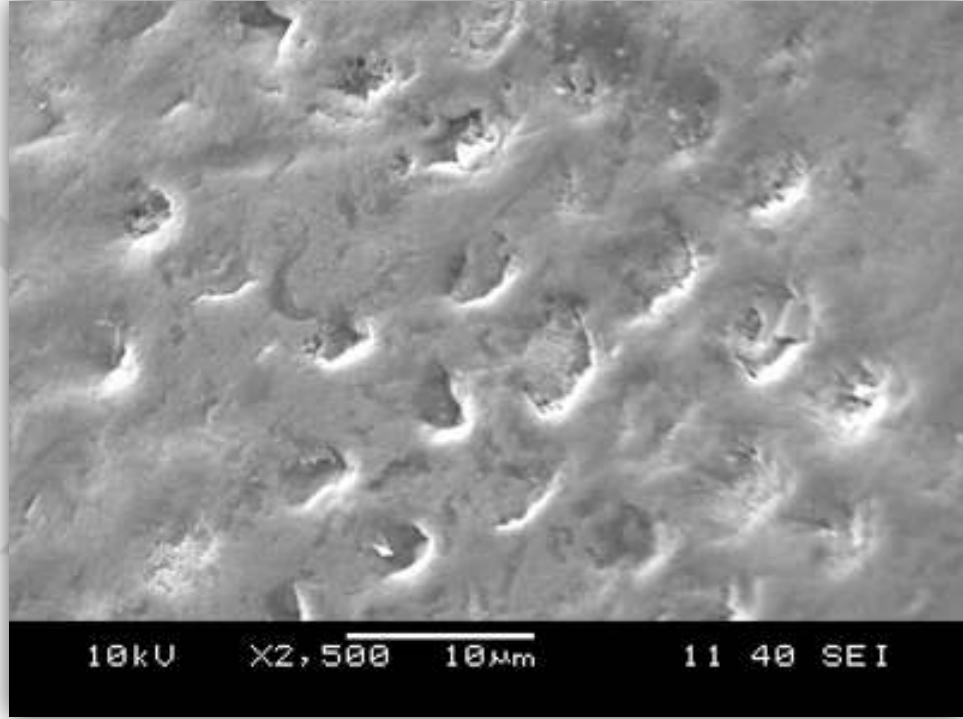
Resim 20: Gümüş diamin florür uygulanan GDF grubuna ait örneğin pH döngüsü sonrasında taramalı elektron mikroskobu ile x2500 büyütme yapılan görüntüsü: Mine yüzeyine çökelen gümüş partiküller

Nano gümüş florür uygulanan örneklerin pH döngüsü sonrası SEM ile x2500 büyütme yapılan görüntüsünde (Resim 21); Yüzeyde demineralize mine korlarına ait çöküntülerin hala izlendiği görülmektedir. Minede interprizmatik boşlukların yer yer tıkandığı ve gümüş partiküllerin yüzeye çökeldiği alanlar gözlemlenmiştir.



Resim 21: Nano gümüş florür uygulanan NGF grubuna ait örneğin pH döngüsü sonrası taramalı elektron mikroskobu ile x2500 büyütme yapılan görüntüsü: Demineralize mine korlarına ait çöküntüleri

Yalnızca deiyonize su uygulanan örneklerin pH döngüsü sonrası SEM ile x2500 büyütme yapılan görüntüsünde (Resim 22); yüzey morfolojisinin başlangıç mine lezyonlarının yüzey morfolojisi ile benzer olduğu, mine yüzeyinin oldukça poröz yapıda olduğu görülmüştür. Demineralizasyona bağlı meydana gelen interprizmatik boşluklar ve bal peteği görüntüsünün devam ettiği görülmektedir.



Resim 22: Kontrol grubuna ait yalnızca deiyonize su uygulanan örneğin pH döngüsü sonrasında taramalı elektron mikroskobu ile x2500 büyütme yapılan görüntüsü: Balpeteği görünümü

5. TARTIŞMA

Başlangıç çürük lezyonları klinik olarak opak beyaz noktalar şeklinde görünmektedirler. Bu aşamada henüz mine üst yüzeyinde doku bütünlüğünün bozulmadığı ve remineralize olabildiği gösterilmiştir. Başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu ile diş sert dokularının eski sağlığına kavuşturulabilmesi, koruyucu diş hekimliğinde son yıllarda yeni gelişmelerin görüldüğü önemli bir kavram olarak karşımıza çıkmaktadır (150). Bu çalışmada da üç farklı flor içerikli materyalin mine remineralizasyonu üzerine etkinliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Başlangıç mine lezyonları üzerine uygulanan remineralizasyon ajanlarının etkinliği in vivo (151-159), in situ (104, 160-170) ve in vitro (25, 82, 171-175) koşullarda yapılan pek çok çalışma ile değerlendirilmiştir. Klinik ve in situ çalışmalar, remineralizasyon ajanlarının etkinliğinin gerçeğe en yakın koşullarda değerlendirilebilmesini sağlamaktadır (176). Klinik koşullarda yapılan çürük araştırmalarında, hem bakteriyel fermentasyon ürünleri ve plak varlığı sayesinde hem de tükürüğün tamponlama kapasitesi ve doğal remineralizasyon mekanizması sayesinde bulguların gerçek koşullara en yakın olarak elde edilebildiği belirtilmektedir (176). Aynı avantajlar ağız içerisine yerleştirilen apareylerin kullanıldığı in situ araştırmalar için de geçerli olmaktadır. Ancak bu yöntemin, hasta işbirliği gerektirmesi nedeniyle uygulamalar esnasında uyum problemleri ile karşılaşabilmektedir (177). Ayrıca, in vivo ve in situ çalışmalarda ağız ortamında bulunan termal, kimyasal ve mekanik olarak pek çok faktör ve bu faktörlerin birbirleriyle etkileşimleri söz konusudur. Bu nedenle de başarısızlığa zemin hazırlayan asıl nedenin ayırt edilebilmesi ve bireysel değişkenlerin kontrol altına alınabilmesi oldukça zor olmaktadır. İn vitro çalışmalarda ise, ağız içi koşulların mümkün olduğunca taklit edilebilmesi ve bulguları etkileyebilecek değişkenlerin en aza indirgenmesi hedeflenerek in vivo ve in situ koşullarda karşılaşılan dezavantajlar önlenmeye çalışılmaktadır. İn vitro çalışmalarda tek bir değişkenin etkisi değerlendirilebilmektedir. Bunun yanında kullanılan testler ucuz, kolay ve hızlı uygulanabilmektedir (178). Literatürde, demineralizasyon ve remineralizasyonun değerlendirildiği çalışmaların sıklıkla in vitro koşullarda planlandığı görülmektedir (179-183). İn vitro çalışmalar remineralizasyon ajanlarının klinik performansının tahmin edilebilmesini sağlamaktadır. Dolayısı ile yeni geliştirilen ajanların klinik uygulamalara girebilmesi için öncelikle in vitro testlerin

uygulanması gerekmektedir (141). Bu yüzden çalışmamızda kullanılan remineralizasyon materyallerinin başlangıç mine lezyonları üzerine etkileri in vitro koşullarda değerlendirilmiştir.

İn vitro çalışmalar insan ve hayvan dişleri üzerinde yapılabilmektedir. Hayvan çalışmalarında genellikle sığır dişleri tercih edilmektedir. Ancak sığır dişleri daha pöröz yapıda olması nedeniyle minerallerin çok hızlı bir şekilde difüzyonuna sebep olmakta ve deney periyodlarının uzun sürmesi diş yapısında bozulmaya neden olmaktadır (27, 184, 185). Çekilmiş insan dişleri üzerinde yapay çürük lezyonu oluşturularak çeşitli materyallerin remineralizasyon etkinliğinin incelendiği pek çok in vitro çalışma mevcuttur (81, 150, 166, 174, 186-189). Bu nedenle çalışmamızda insan dişleri kullanılmıştır. Kök gelişimini tamamlamayan dişlerin minesini daha pöröz bir yapıda olduğundan, demineralizasyon-remineralizasyona karşı daha duyarlıdır (190). Bu nedenle çalışmamızda kök gelişimini tamamlamış ve ağız içerisinde sürmüş büyük azı dişleri kullanılmıştır. Dişlerin yapısal farklılıklarının sonuçları etkilememesi amacıyla, deney ve kontrol grupları tek bir diştten elde edilen 4 adet mine örneği üzerinde oluşturulmuştur.

Dişlerin çekim işleminden kullanılacağı zamana kadar geçen sürede dehidrate olmasını önlemek amacıyla çeşitli solüsyonlar içinde tutulması önerilmektedir. Distile su ve salin bu amaçla kullanılan solüsyonlardandır. Saklama solüsyonları içerisinde etanol, timol, formaldehit, glutaraldehit, sodyum hipoklorit gibi antimikrobiyal kimyasal ajanlar ilave edilebilmektedir (143, 144). İn vitro çalışmalarda kullanılan saklama solüsyonları antibakteriyel etkisini gösterirken çalışma sonucunu da etkilemeyecek özellikte olması gerekmektedir (143). Hem güçlü antibakteriyel özelliği (191) hem çalışma sonuçlarını etkilememesi (143) nedeniyle dişler deney süresine kadar %0,1 timol içeren deiyonize su içerisinde bekletilmiştir (172, 192-194).

İn-vitro remineralizasyon çalışmalarının pek çoğunda, dişin mine yüzeyinde 3x3 mm'lik pencereler açılıp, pencere dışında kalan yüzeyleri aside dirençli vernik ile boyanmış ve demineralizasyon solüsyonuna maruz bırakılarak yapay çürük lezyonu oluşturulmuştur. Bizim çalışmamızda da aynı şekilde 3x3 mm'lik pencereler oluşturularak yapay çürük meydana getirilmiştir (188, 195-197).

Başlangıç mine lezyonlarının oluşturulması amacıyla çok sayıda yapay çürük modeli geliştirilmiştir (21, 161, 198-205). Bu amaçla kullanılan, pH'ları 4,4 ile 5 arasında değişen

solüsyon ya da jeller, laktat veya asetat ile tamponlanarak apatit ile doyurulmakta ve 16 saat ile 28 gün arasında değişen sürelerde uygulanarak başlangıç mine lezyonları oluşturulmaktadır (20). Bu yöntemler arasındaki temel farklılıklar; demineralizasyon solüsyonunun doygunluk derecesi (205) ve kimyasal kompozisyonudur (184). Farklı sürelerdeki uygulamalar ile değişik tipte yapay mine lezyonları oluşturulabilmektedir. Örneğin yüksek pH ve kısa uygulama süreleri ile yüzeyi yumuşatılmış yani erozyon benzeri mine lezyonları oluşmaktadır. Daha düşük pH ve uzun uygulama süreleri kullanıldığında ise yüzey tabakasının daha az etkilendiği doğal olarak oluşan başlangıç mine lezyonlarına benzer yapıda yüzey altı mine lezyonları oluşturulabilmektedir. Bu yöntemle yüzey tabakasının çözünmeden korunması, yüzeyde depolanan Ca, PO₄ ve likit fazdaki flor iyonlarının ortamdaki uzaklaşmasını engellemektedir (20). Bu da uygulanan ajanların demineralizasyon ve remineralizasyon üzerine etkilerinin daha doğru bir şekilde değerlendirilebilmesine olanak sağlamaktadır. Doğal başlangıç mine lezyonlarının derinliği ortalama 150-200 µm'dir. 4,5-5 pH' da 4-6 gün asit içerisinde demineralize edilen mine yüzeylerinde oluşan lezyonların da yaklaşık olarak 150 µm derinliğinde olduğu gösterilmiştir (206). Çalışmamızda yapay çürük lezyonu oluşturmak amacıyla demineralizasyon solüsyonu olarak, ten Cate ve ark.'nın (148) önerdikleri 2,2 mM CaCl₂, 2,2 mM NaH₂PO₄, 50 mM asetik asit içeren pH'ı 4,4 olan bir solüsyon kullanılmış ve benzer çalışmalarda olduğu gibi örnekler bu solüsyonda 37°C'de 96 saat boyunca bekletilmiştir (207-214).

Ağız gün boyu değişen pH değişiklikleri ile dinamik bir ortamdır. Ağız ortamının taklit edilmesinde göz önüne alınması gereken en önemli konu gün boyu değişen pH değişikliklerinin deneylere yansıtılmasıdır (213). pH siklus modeli, demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında özellikle de flor içerikli materyaller hakkında net sonuçlar elde edilmesini sağlayan bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (29, 81, 132, 148, 214-217). Çalışmamızda ağız içi pH değişikliklerini taklit etmek amacı ile pH siklus yöntemi uygulanmıştır.

Çalışmamızda pH döngüsü sırasında remineralizasyon solüsyonu olarak ten Cate ve ark.'nın (180) çalışmalarında kullandığı; tükürük yapısında bulunan apatit minerallerinin supersaturasyonunu simüle etmesi (148) nedeniyle tercih edilen ve 1.5 mM Ca, 0.9 mM P, 150 mM KCl, 100 mM Tris tamponu, 0.05 ppm F içeren pH'ı 7 olan bir solüsyon kullanılmıştır (216, 218, 219). Remineralizasyon araştırmalarında sıklıkla pH döngüsü sırasında demineralizasyon solüsyonu olarak düşük asit konsantrasyonuna ve daha yüksek

pH'ya sahip solüsyonlar tercih edildiği bildirilmiştir (20). Bu nedenle de demineralizasyon solüsyonu olarak yine ten Cate ve ark.'nın (180) çalışmalarında kullandığı 2.0 mM Ca, 2.0 mM P, 75 mM asetat tamponu, 0.04 ppm F içerikli pH'sı 4.7 olan bir solüsyon kullanılmıştır (216, 218, 219).

Literatürde pH siklusunda kullanılan de-remineralizasyon solüsyonlarının içeriklerinden çok değişim ve pH döngülerinin yürütülme süreleri büyük oranda değişiklik göstermektedir. Bu döngünün devam ettirilme süreleri 5, 7, 10, 14, 20, 21 ve 28 gün gibi sürelerle değişmektedir (179, 187, 220-225). Sıklıkla ise 7-14 gün arasında olan siklusların kullanıldığı görülmektedir (20). Çalışmamızda tüm örnekler 7 gün pH döngüsüne tabi tutulmuştur. Buzalaf ve ark. (20) remineralizasyonun değerlendirildiği çalışmalarda örneklerin demineralizasyon solüsyonunda daha az, remineralizasyon solüsyonunda ise daha uzun süre tutulduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle çalışmamızda Vieira ve ark.'nın (149) çalışmalarında olduğu gibi, 3 saat süreyle demineralizasyon solüsyonunda; 21 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir (219, 226-228). Bu işlem 5 gün boyunca tekrar edilmiştir. Son 2 gün ise yalnızca remineralizasyon solüsyonu içerisinde bekletilmiştir (149, 189, 228). Remineralizasyon ajanları klinik koşulları taklit edebilmek için yalnızca 1 defa uygulanmıştır (219, 228, 229).

Diş yüzeylerindeki demineralizasyon ve remineralizasyonun değerlendirilmesinde kullanılan tüm yöntemler, minedeki mineral kaybı ya da kazancının belirlenebilmesini esas almaktadır (230, 231). Bu amaçla kullanılan test yöntemlerinin seçiminde, yöntemin; hassaslık ve belirleyiciliğinin yüksek, kolay uygulanabilir, ucuz ve diş yüzeylerinde yıkıcı olmaması ön koşulları aranmaktadır (231). İn vitro şartlarda yapılan çalışmamızda kullandığımız değerlendirme yöntemlerinin belirlenmesinde bu özelliklerin olmasına dikkat edilmiştir.

Ağız ortamı ile mine arasında meydana gelen kimyasal, fiziksel ve biyolojik değişimlerin etkisi ilk aşamada yüzeyel mine tabakasında gözlenmektedir. Bu nedenle demineralizasyon ve remineralizasyon döngüleri sonrası oluşan mineral değişimlerinin değerlendirilmesinde yüzeyel mine tabakası tercih edilmektedir (149, 214, 232). Demineralizasyon derinliği ile mineral kaybı doğru orantılı olarak artmaktadır. Demineralizasyon sonrasında, yüzeyden çözünen mineraller minenin sertlik derecesinde

azalmaya neden olurken; remineralizasyon sonrasında ise yüzey tabakasına çökelen mineraller yüzeyel mine tabakasının sertlik değerini arttırmaktadır (214, 233). Bu nedenle in vitro çalışmalarda, remineralizasyon ajanlarının başlangıç mine çürükleri üzerine etkileri araştırılırken, yüzeyel mine tabakasında meydana gelen sertlik değişimleri değerlendirilebilmektedir (234-242). Mikrosertlik yöntemi bu amaçla kullanılabilecek bir yöntemdir (231, 243). Ayrıca, mikrosertlik yöntemi ile deney süresince ölçümlerin tekrarlanabileceği, hızlı ve kolay veri elde edilebileceği bildirilmiştir (244). Ancak, mikrosertlik testi ile remineralize veya demineralize minenin yalnızca fiziksel dayanıklılık gibi mekanik özellikleri hakkında bilgi edinilebileceği belirtilmiştir (229). Featherstone ve ark. (13), demineralizasyon ve remineralizasyonun değerlendirilmesinde mikroradyografi tekniği ile mikrosertlik testini karşılaştırmışlar ve her iki yöntemle de minedeki mineral değişimlerinin değerlendirilmesinde benzer sonuçlar elde edildiği, birbirlerine alternatif yöntemler olabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda mine remineralizasyonunu değerlendirmede, deney süresince ölçümlerin tekrarlanabilirliğine izin vermesi ve pratik bir yöntem olması nedeniyle mikrosertlik yöntemi tercih edilmiştir (244). Materyallerin mekanik özelliklerinde meydana gelen değişimlerin karşılaştırılmasında ve kırılğan yüzeylerde kullanımının daha uygun olması nedeniyle Vicker's yükleme ucu kullanılmıştır (245).

Mikrosertlik testlerinde standart ve homojen yüzeylerin elde edilebilmesi için polisajlanmış mine örneklerinin kullanılmasının gerektiği bildirilmektedir (246, 247). Bu nedenle mikrosertlik testi için kullandığımız mine yüzeyleri 300, 600 ve 1200 gritlik Al_2O_3 kağıt zımparalarla aşındırılarak standart yüzeyler oluşturulmuştur (248, 249). Deneyleri takiben yapılan mikrosertlik ölçümlerinde bölgesel farklılıkların ortadan kaldırılabilmesi amacıyla ölçüm yapılan bölgelerden 100'er μm uzaklaşarak 3 ayrı ölçüm yapılmış ve ortalamaları alınmıştır (189, 248).

Florlu vernikler, topikal flor ajanları içerisinde çürük kontrolü amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Temel olarak mine yüzeyinde CaF_2 benzeri bir tabaka oluşturarak karyojenik etki sırasında flor salınımı yaparak etki göstermektedir (82, 250). Mine, dentin, plak ve tükürüğe devamlı flor iyonu salınımı sayesinde oral kavitedeki flor konsantrasyonunun yüksek seviyede kalmasını sağlamaktadır (81). Literatürde, antikaryojenik özelliği en etkili florlu verniğin sodyum florür olduğu rapor edilmiştir (192, 251, 252). Duraphat vernik, hem yüzey hem yüzeyaltı remineralizasyonunu geliştirmede florlu vernikler içinde altın standart olarak kabul edilmektedir (189).

Florlu verniklerin remineralizasyon etkinliklerinin in vitro (82, 149, 253-256) ve in situ (161, 166, 257-259) olarak değerlendirildiği çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda, flor vernik demineralize mine yüzeyine uygulandıktan sonra 6 saat yapay tükürük içerisinde bekletilip flor vernik yüzeyden uzaklaştırıldıktan sonra pH döngüsüne tabi tutulmuştur (81, 189). Bu prosedürü uygulayan araştırmacılar, florlu verniğin hem fırçalama sonrası hem de çiğneme kaslarının etkisi ile mine yüzeyiden uzaklaştığını belirtmişler ve bu şekilde klinik koşulların daha iyi taklit edilebildiğini bildirmişlerdir (81, 189). Ancak, florürlü verniklerin klinik koşullarda mine yüzeyinden uzaklaşsa dahi 24 saate kadar in situ koşullarda flor iyonu serbestleştirebildiği bildirilmiştir (83, 260). Dolayısı ile klinik koşulları daha iyi taklit ettiği düşünülerek, florlu vernik demineralize mine yüzeyine uygulanıp 24 saat nemli ortamda bekletildikten sonra pH döngüsü uygulanan çalışmalar da mevcuttur (45, 82, 260, 261). Bizim çalışmamızda da vernik uygulandıktan sonra örnekler 24 saat boyunca 37° derecede nemli ortamda bekletilmiştir.

Florlu vernik mine yüzeyine uygulandığında yüzeyde bir film tabakası oluşturmaktadır. Mikrosertlik ölçümlerini yanıltmaması açısından bu film tabakasının uzaklaştırılması gerekmektedir. Bir çalışmada verniğin uzaklaştırılabilmesi için kloroform kullanımı önerilmiştir (82). Ancak başka bir yöntemde, öncelikle film tabakası yüzeye zarar vermeden bistüri ile kaldırılmış, kalan yüzeylerin asetonla nazıkçe temizlenmesi gerektiği bildirilmiştir (172, 189, 228, 261). Bu iki farklı yöntemin birbirlerine üstünlüğünü belirten bir çalışma bulunmaması nedeniyle, çalışmamızda daha sık uygulanan florlu verniğin bistüri ve ardından asetonla temizlendiği yöntem tercih edilmiştir.

Mohd Said ve ark. (81), beş farklı florlu verniğin başlangıç çürüklerinin remineralizasyonu üzerine etkinliğini değerlendirmişler ve sodyum florür içerikli (Duraphat) verniğin, tek başına remineralizasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da FV grubunda remineralizasyon ajanı olarak sodyum florür içerikli duraphat vernik uygulanmıştır. Demineralizasyon sonrası elde edilen yüzey sertlik değeri ortalamaları ile deney sonrası elde edilen değerler karşılaştırıldığında, sodyum florürlü verniğin mine yüzey sertliğini anlamlı düzeyde arttırdığı ($p<0.001$), remineralizasyonu sağladığı gözlemlenmiştir.

Farklı pH değerlerine sahip flor içerikli ajanların mine remineralizasyonu üzerine

etkilerinin farklı olduğu belirtilmektedir (262). Başlangıç çürük lezyonlarının pH'sı 3.5 ve 7.0 olan NaF ajanları ile tedavi edilip remineralizasyonun değerlendirildiği bir çalışmada asidik pH' da minenin daha fazla flor alarak tamir olayının daha fazla olduğu bildirilmiştir (263). Asidik ortam, mine yüzeyi ile etkileşime girerek yüzeyden kalsiyum serbestleşmesini uyarmakta ve serbestleşen kalsiyum, flor iyonları ile birleşerek kalsiyum florür oluşturarak yüzeye çökmektedir. Kalsiyum florür ise flor rezervuarı görevi görmekte, demineralizasyonu inhibe edip, remineralizasyonu teşvik etmektedir (264). Duraphat verniğin yapılan pH ölçümünde asidik pH değerine sahip olduğu görülmüştür (pH: 4,5). Duraphat'ın diğer florlu ajanlara oranla daha başarılı remineralizasyon etkisi göstermesi bu özelliğine bağlanabilir. ,

Flor içerikli ajanların remineralizasyon üzerine etkilerinin pek çok faktöre bağlı olduğu belirtilmektedir (265-267). Wiegand ve ark. (268) aynı pH değerine sahip farklı konsantrasyonlardaki asitlenmiş sodyum florür uygulamalarının sıkı ve gevşek bağlı flor iyonu oluşturmadaki etkilerini değerlendirmişler ve uygulanan ajanın flor konsantrasyonunun artması ile minenin flor alma kapasitesinin doğru orantılı olarak arttığını, dolayısı ile demineralize minenin asit ataklarına karşı daha dirençli hale geleceğini belirtmişlerdir. Ancak başlangıç çürük lezyonları üzerine remineralizasyon etkisini değerlendirmemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise, farklı konsantrasyonlarda flor içeren 3 farklı flor içerikli ajanının mine remineralizasyonu üzerine etkisi değerlendirilmiştir. FV (22,600 ppm) uygulanan grubunun en yüksek, GDF (44,800 ppm) uygulananın 2. en yüksek yüzey mikrosertlik değerlerine sahip olduğu belirlenirken, NGF (10,147 ppm) uygulaması yapılan grubunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük yüzey sertlik değeri gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu bulgulara göre, gruplar arasındaki farklılıkların hem flor konsantrasyonuna hem de GDF (pH:7,5), FV (pH:4,5) ve NGF'nin (pH:4) pH değerlerinin farklı olmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

GDF'nin, antibakteriyel özelliğe sahip olduğu, biyofilm formasyonunu inhibe ederek çürüğün ilerlemesini durdurduğu ve mine remineralizasyonunu kolaylaştırdığı bildirilmiştir (104). Bu nedenle günümüzde oldukça popüler bir ajan olan GDF'nin, süt ve daimi dişlerde kavite oluşmuş dentin çürükleri üzerine durdurucu etkisi ve çürük önleyici etkisi pek çok çalışma ile değerlendirilmiştir (102, 103, 269-274). Ancak kavite oluşmamış erken mine lezyonlarına etkisini bildiren çalışma sayısı sınırlıdır (104, 275,

276). Bu çalışmada GDF'nin başlangıç mine lezyonlarına etkisi farklı flor ajanları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Delbem ve ark. (228) GDF'nin daimi dişlerde mine demineralizasyonu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, GDF 2 dk süreyle mine yüzeylerine uygulanmış, sonrasında 30 saniye deiyonize su ile yıkanıp kurutulmuş ve pH döngüsüne kadar nemli ortamda saklanmıştır. Örnekler 3 saat demineralizasyon solüsyonunda, 21 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiş, 7 gün boyunca bu pH siklusuna tabi tutulmuştur. Sonrasında mineral kaybı ve mikrosertlik değerleri değerlendirilmiştir. FV (Duraphat) grubunda mineral kaybının GDF grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede daha az olduğunu, GDF grubundaki mineral kaybının kontrol grubu ile arasında anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Ancak yüzey sertlik değerleri mineral kaybı değerleri ile tutarlı çıkmamış, GDF grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az yüzey sertlik kaybına sebep olduğunu rapor etmişlerdir. Sebebinin yüzeyde oluşan florür bileşeninin tipinden veya miktarından olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Florlu verniklerin flor salınımının %15, gümüş diamin florürden salınan florür miktarının %23,6 olmasına rağmen yüzeye çökelen florür miktarının FV grubunda daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da remineralizasyon ajanlarının uygulanmasında ve pH siklusunda aynı yöntemler uygulanmıştır. Ancak farklı olarak, salınan flor iyon miktarı değerlendirilmemiş, yalnızca yapay çürük oluşturulan yüzeye florlu ajanların remineralizasyon etkisi yüzey sertlik değerlerindeki değişikliğe bakılarak kantitatif olarak değerlendirilmiş ve GDF'nin mine yüzeyinde remineralizasyon sağladığı ancak duraphat vernik kadar etkili olamadığı görülmüştür.

Liu ve ark. (277) gümüş ve flor iyonlarının mine demineralizasyonu üzerine etkilerini değerlendirdikleri in vitro çalışmada, Delbem ve ark.'nın (228) çalışmalarına benzer olarak, florürün mine demineralizasyonunu önlemede etkili olduğunu ancak, gümüşün etkisinin minimal olduğunu belirtmişlerdir. Ancak, gümüş florürün ve GDF'nin minenin asit ataklarına karşı direncini arttırmada etkili olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (226, 278). Santos ve ark. (226), gümüş diamin florürün süt dişleri üzerine çürük önleyici etkisini değerlendirdikleri in vitro çalışmada, lezyon derinliğinde en fazla azalmanın Duraphat vernik ve gümüş diamin florür ile elde edildiği rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda da aynı prosedürler uygulanmış, Santos ve ark.'nın (226) çalışmasından farklı olarak Duraphat vernik, GDF ve NGF'nin yapay çürük lezyonları üzerine remineralizasyon etkisi mikrosertlik yöntemi ile değerlendirilmiştir. Duraphat vernik ve

GDF'nin kullanıldığı gruplarda demineralizasyon sonrası ile karşılaştırıldığında yüzey sertlik değerlerinde anlamlı artış olduğu, FV grubunda GDF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek mikrosertlik değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada yüksek konsantrasyonlu gümüş (253,870 ppm) ve flor (44,800 ppm) içeren %38'lik GDF kullanılmıştır (279). İn vitro bir çalışmada, GDF ve hidroksiapatitin bazik ortamda kalsiyum florür ve gümüş fosfat oluşturduğu bildirilmiştir (102). Kalsiyum florür, karyojenik süreç boyunca, ortama flor iyonu salarak flor rezervuarı görevi görmekte ve pH regülasyonunu sağlamaktadır. Ayrıca, hidrojen fosfat iyonları (HPO_4)⁻², kalsiyum florürün florapatite dönüşümünü kolaylaştırmaktadır. Gümüş fosfatın ise, hidroksiapatit ve florapatite göre daha kolay çözündüğü ve fosfat iyon rezervuarı görevi gördüğü belirtilmiştir. Bu sayede, kalsiyum florürün florapatite dönüşümünün kolaylaştığı bildirilmiştir (278). GDF grubunda NGF grubuna göre yüksek yüzey mikrosertlik değerlerinin olmasının nedeni; GDF'nin pH değerinin (pH: 7,5) bazik pH'ya yakın olmasından dolayı NGF'ye göre daha fazla CaF_2 ve gümüş fosfat oluşumuna neden olarak remineralizasyonu sağladığı düşünülmüştür.

Gümüş diamin florürün minede ~25 µm derinliğe kadar penetre olabildiği, dentine ise 50-200 µm derinliğinde penetre olabildiği belirtilmiştir (97). Gümüş diamin florürden salınan flor, mineden ziyade dentinde daha çok penetre olmaktadır. Bunun nedeni olarak, dentinde reaksiyon için gerekli olan protein substratı, karbonatlar ve fosfatların daha yüksek oranda bulunması olarak açıklanmıştır. Zhi ve ark. (25) gümüş ve flor iyonlarının demineralize mine ve dentin üzerine remineralizasyon etkisini in vitro koşullarda mikro bilgisayarlı konik ışınli tomografi kullanarak değerlendirmişlerdir. Her iki iyonun da remineralizasyon sürecinde hem minede hem dentinde mineral yoğunluğunu arttırdığını, ancak sinerjik etkilerinin göreceli olarak düşük bulunduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda, gümüş diamin florürün başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu üzerine etkili olduğu bulunmuştur. GDF grubunun NGF grubuna göre yüksek mikrosertlik değerine sahip olmasının nedeni olarak, GDF grubunda yüzeye daha fazla gümüş iyonu çökmesinin yüzey sertlik değerlerinde artış oluşturabileceği düşünülmüştür.

2015 yılında yapılan bir çalışmada bizim sonuçlarımıza benzer olarak, GDF'nin başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunu sağladığı gösterilmiştir. Araştırmacılar gümüş diamin florür ile cam iyonomer simanın başlangıç aproksimal çürük lezyonlarına etkisi in situ koşullarda değerlendirilmiştir. Remineralizasyonun mikro bilgisayarlı

tomografi ile değerlendirildiği çalışmada, her iki materyalin de mineral yoğunluğunu benzer şekilde ancak farklı paternlerde arttırdığı belirtilmiştir. Anterior dişlerde renklenme yapmaması nedeniyle cam iyonomer simanların, posterior dişlerde ise arayüzlerde oluşan başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu için GDF'nin kullanımını önermişlerdir (104).

Gümüş daimin florürün çürük üzerine uygulanması sonrası uygulanan bölgede koyu kahverengi-siyah renkli boyanma meydana geldiği, sağlam dokuda ise boyanmaya sebep olmadığı belirtilmiştir (102, 280). Renklenme GDF'nin en dikkat çeken ve istenmeyen yan etkisidir. Çürük üzerine GDF uygulanması sonrası çürük lezyonu üzerinde başlangıçta sarı renkte olan gümüş fosfat tabakası oluştuğu, gün ışığı veya indirgen ajanlarla bu tabakanın koyulaşarak siyah renge dönüştüğü bildirilmiştir (102). Çalışmamızda da GDF uygulanan örneklerde kahverengi-siyah renklenmeler olduğu gözlemlenmiştir.

Gümüş diamin florür uygulaması ile oluşan siyah renklenmenin önlebilmesi amacı ile yeni yöntemlerle beraber yeni materyaller de geliştirilmektedir. Knight ve ark. (281) GDF uygulamasını takiben potasyum iyodür (KI) kullanımının renklenmeyi en aza indirdiğini belirtmişlerdir. Potasyum iyodür ile serbest gümüş iyonları etkileşime girerek kremi beyaz renkte olan gümüş iyodür bileşiği oluşturmakta ve bu sayede renklenmenin önüne geçildiği bildirilmiştir (282). Son yıllarda GDF ile potasyum iyodür'ün beraber kullanıldığı ticari preparatlar da (Riva Star, SDI, Bayswater, Avustralya) geliştirilmiştir. GDF'nin renklenmesine alternatif olarak, gümüş florür içerisindeki gümüşün silika iyonları ile yer değiştirmesi ile oluşan amonyum heksaflorosilikat $[(NH_4)_2SiF_6]$ da kullanılabileceği belirtilmiştir (283, 284). Amonyum heksaflorosilikat'ın, silika-kalsiyum fosfat oluşumu ile açık dentin tübüllerinin tamamen tıkanmasını sağlayarak diş sert dokularının demineralizasyona karşı direncini arttırdığı ve içeriğinde bulunan silikat sayesinde hidroksiapatit formasyonunu uyardığı bildirilmiştir (283-285). Bizim çalışmamızda, gümüş diamin florürün yan etkisi renklenmeyi önleneyerek, GDF'ye alternatif olarak geliştirilen nano gümüş florür solüsyonu değerlendirilmiştir.

Nano gümüş florür solüsyonu, sarımsı bir solüsyondur (3). Gümüş diamin florür gibi dişler üzerinde renklenmeye neden olmadığı, dişlerde hafif sararmaya neden olabileceği bildirilmiştir (3). Renklenme olmamasının nedeni, gümüş nanopartiküllerin oksijenle temas ettiğinde okside forma dönüşmemesi olarak açıklanmıştır (3). Bizim çalışmamızda da, NGF uygulanan mine örneklerinde GDF uygulanan örneklerde olduğu gibi mine

yüzeyinde gümüş depozisyonuna bağlı olarak grimsi renklenme oluşmadığı görülmüştür.

Nano gümüş florür solüsyonu nano gümüş partikülleri, kitosan ve sodyum florürden oluşan bir formülasyondur (3). Yapılan çalışmalarda farklı partikül boyutlarında nano gümüşün *Streptococcus mutans* üzerine bakteriyostatik ve bakterisid etkileri karşılaştırılmıştır (286) (287) (288). Bu çalışmalarda, gümüş partikül boyutu küçüldükçe antibakteriyel etkinin arttığı bildirilmiştir. Laboratuvar koşullarında hazırlanan NGF solüsyonunun içerisinde oluşan gümüş nanopartikül boyutlarının değerlendirilmesi amacıyla TEM incelemesi yapılmıştır ve gümüş nanopartiküllerin boyutunun 50 nm'den daha küçük olduğu, 5-10 nm boyutundaki partiküllerin daha çok olduğu belirlenmiştir.

Nano gümüş florür içerisinde stabilizatör olarak (3) kullanılan kitosanın, hem antibakteriyel hem çürük önleyici etkinliği olan bir molekül olduğu (86) ve asidik koşullarda çözünebildiği (126) belirtilmektedir. Kitosanın remineralizasyon üzerine etkisi ile ilgili sınırlı bilgi bulunmaktadır. Arnaud ve ark. (126) kitosanın demineralize ve remineralize mine üzerine etkisini değerlendirmişler ve kitosanın demineralizasyonu önlemede etkili olduğunu, bununla birlikte remineralizasyon etkisinin minimal olduğunu bildirmişlerdir. Literatürde gümüş nanopartiküller ile kitosan kullanımının mine remineralizasyonu üzerine etkisini değerlendiren çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda gümüş nanopartiküller ve kitosan içeren NGF solüsyonunun, remineralizasyona etkisi değerlendirilmiş ve mine remineralizasyonunu sağladığı ancak FV ve GDF kadar etkili olmadığı gözlemlenmiştir. Bu bulgulara göre; gümüş nanopartiküller ile kitosanın remineralizasyon üzerine sinerjik etkisi olmadığı düşünülmüştür.

Çürük oluşum sürecindeki demineralizasyon ile remineralizasyon arasındaki dengeyi sağlamak, antimikrobiyal özelliği güçlendirmek için NGF solüsyonuna sodyum florür eklendiği belirtilmiştir (3). Bu sayede, biyofilm formasyonunun ve adezyonunun azaltılarak, demineralizasyonun azaltılması hedeflendiği bildirilmiştir. Ancak hem biyofilm üzerine etkisini hem de demineralizasyon üzerine etkilerini değerlendiren bir çalışma henüz yayımlanmamıştır. Çalışmamızda NGF solüsyonunun mine remineralizasyonunu sağladığı ancak diğer gruplar kadar etkili bir remineralizasyon tabakası oluşturamadığı gözlemlenmiştir. NGF içerisinde bulunan flor iyonunun materyalin remineralizasyon özelliğine etkisinin değerlendirilebilmesi için farklı flor konsantrasyonlarına sahip NGF'lerin karşılaştırılmalı çalışmalarının yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Literatürde nano gümüş florür solüsyonu ile ilgili yalnızca 2 çalışma yapıldığı görülmektedir. 2014 yılında Targino ve ark. (3) nano gümüş florürün antimikrobiyal özelliklerini ve sitotoksitesini klorheksidin ve GDF ile karşılaştırarak değerlendirmişlerdir. NGF'nin çürük yapıcı bir mikroorganizma olan *S. Mutans*'a karşı GDF kadar etkili olduğunu belirtmişlerdir. Sitotoksik özellik bakımından NGF'nin insan eritrositleri üzerine zararlı etkilerinin anlamlı derecede GDF'den daha az olduğunu rapor etmişlerdir. Targino ve ark. (3) NGF'nin GDF'ye göre çürük önleyici etkisini çok daha düşük dozlarda gösterebilmesi, biyouyumlu olması ve renklenmeye neden olmaması nedeniyle GDF'ye alternatif bir materyal olabileceğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda NGF solüsyonu Targino ve ark.'nın (3) çalışmalarında tarif ettikleri şekilde hazırlanmıştır ve mine remineralizasyonu üzerine etkisi GDF ile karşılaştırıldığında, GDF'ye göre anlamlı derecede daha düşük remineralizasyon özelliği gösterdiği gözlemlenmiştir.

Santos ve ark. (4) ise nano gümüş florürün diş çürüğünü önlemede ve durdurmada etkinliğini randomize kontrollü klinik bir çalışma ile araştırmışlardır. Deney grubuna NGF uygulanırken, kontrol grubuna su uygulanmış ve 7. günde, 5. ayda ve 12. ayda çürüğün ilerlemesi kontrol edilmiştir. Yedinci günde NGF grubunda % 81 oranında çürüğün durduğu, kontrol grubunda ise durgun çürük formuna geçen hiçbir dişin olmadığını; beşinci ayda %72,7 oranında NGF grubundan durgun çürük olduğunu ve kontrol grubunda bu oranın %27,4 olduğu; 12. ayda ise, NGF grubunda %66,7 oranında çürüğün durgun çürük halini devam ettirdiği, yalnızca su uygulanan kontrol grubunda ise bu oranın %34,7 olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak; gelişmemiş ülkelerde diş çürüklerini önlemede ve durdurmada etkili bir ajan olduğu ancak alternatif değerlendirme yöntemleri ile çürük üzerine etkisinin araştırılması gerektiği vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda ise Santos ve ark.'ndan (4) farklı olarak NGF'nin dentin çürüklerini durdurmadaki etkisi değil, başlangıç mine çürüklerinin remineralizasyonu üzerine etkisi değerlendirilmiştir ve NGF'nin yalnızca deiyonize su uygulanan kontrol grubuna göre, yüzey sertlik değerlerinde anlamlı derecede artışa neden olduğu, fakat GDF ve FV gruplarında elde edilen mikrosertlik ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük değerlere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Nano gümüş florürün mine üzerine etkisi tam olarak bilenememektedir. Daha düşük yüzey sertliği göstermesi öncelikli olarak düşük pH'da gümüş florürden flor iyonu serbestleşmesinin daha zor olması nedeniyle yüzeye çökelen florür miktarının az olmasına bağlanmıştır. İkinci neden olarak ise, ağır metal iyonlarının demineralize mine üzerine çökerek diğer iyonların lezyon gövdesine penetre olmasını önlemiş

olabileceği düşünülmüştür.

Demineralizasyon ve remineralizasyonun değerlendirildiği in vitro çalışmalarda, minenin yüzey morfolojisinde ortaya çıkan değişiklikler konusunda en hassas ve detaylı bilgiler SEM çalışmaları ile elde edilmektedir (289-292). Ancak SEM ile yapılan değerlendirmeler esnasında mine yüzeyindeki mineralizasyon değişiklikleri değerlendirilememektedir. Bu nedenle minedeki minerallerin dağılımı ve miktarının tespit edilebilmesi amacıyla ilave olarak EDS analizi de yapılmaktadır (231). Çalışmamızda kullanılan farklı remineralizasyon ajanlarının mine dokusunda oluşturduğu morfolojik değişiklikler taramalı elektron mikroskobu ile değerlendirilmiştir.

Mine yüzeyinde meydana gelen değişikliklerin anlaşılabilmesi için herhangi bir işleme maruz bırakılmamış mine yüzeyinin SEM görüntüleri, demineralizasyon ve remineralizasyon ajanları uygulandıktan sonra elde edilen mine yüzeyleri ile karşılaştırılmıştır. Sağlam mine yüzeyi görüntülerinde hidroksiapatit kristallerinin ve mine prizmalarının bütünlüğü net bir şekilde izlenebilmektedir. Demineralizasyon sonrasında SEM görüntülerine bakıldığında mine yüzeyinin oldukça poröz yapıda olduğu, birçok prizmaya ait kristalin çözülmüş olduğu görülmektedir. İyi tanımlanan interprizmatik boşluklar yüzeyin tamamında görülmektedir. İyi ve homojen bir demineralizasyondan söz edilebilmektedir.

Remineralizasyon sonrası elde edilen SEM görüntüleri genel olarak değerlendirildiğinde, tüm gruplarda demineralizasyon sonrası alınan görüntülere göre mine yüzeylerinin daha düzensiz bir tabaka ile kaplı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, bu incelemelerde materyallerin içeriği, etki mekanizması ve tedavi etkinliği gibi kriterler ile ilişkili olabilecek farklı yüzey özelliklerinin ortaya çıktığı görülmüştür.

SEM değerlendirmelerinde FV grubuna ait mine örneklerinin yüzeyinde, demineralizasyonla çözünen mine prizmalarının kolları içerisine globüler CaF_2 kristallerinin yoğun bir şekilde biriktiği izlenmiştir. Bu görüntü literatürde farklı topikal flor ajanlarının mine yüzeyine etkilerinin SEM değerlendirmelerinde gözlenen CaF_2 kristallerinin oluşturduğu yüzey görüntüsü ile örtüşmektedir (293).

Demineralizasyon sonrası elde edilen SEM görüntüleri ile GDF uygulaması sonrası

elde edilen görüntüler karşılaştırıldığında, minede interprizmatik boşlukların yer yer tıkandığı ve açıkta kalan çukurcuklar olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte GDF uygulanan gruplarda mine yüzeylerinde yer yer gümüş depozisyonları olduğu görülmüştür. GDF ile yapılan diğer çalışmalarda da bizim çalışmamıza benzer şekilde görüntüler elde edildiği görülmüştür (110, 228, 278).

NGF uygulanan başlangıç mine lezyonlarının yüzeyinin demineralizasyon sonrası görüntülere göre daha homojen ve düz bir remineralizasyon tabakası ile örtülü olmasına karşın, bu tabakanın başlangıç mine lezyonlarının poröz yapısını tamamen maskeleyemediği ve bal peteği görüntüsünün silik de olsa hala izlenebildiği görülmüştür. Ancak literatürde, NGF'nin mine yüzeyine etkisini SEM ile inceleyen bir çalışma yer almamaktadır.

Çalışmamızda SEM ile yapılan değerlendirmelerde pH döngüsü öncesinde deiyonize su uygulanan başlangıç mine lezyonlarının remineralize olduğunu destekleyen bir görüntüye rastlanılmamıştır. Deiyonize su uygulanan örneklerin değerlendirildiği diğer çalışmalarda da bizim çalışmamıza benzer görüntüler elde edildiği gözlemlenmiştir (85, 262). Bununla birlikte, çalışmamızda elde edilen mikrosertlik bulgularını destekler niteliktedir.

Çalışmamızda farklı flor ajanlarının başlangıç mine lezyonları üzerindeki remineralizasyon kapasitesi mikrosertlik ve SEM incelemeleri ile değerlendirilmiş olup, tüm gruplarda farklı oranlarda remineralizasyonun gerçekleştiğini kanıtlayan bulgular elde edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen SEM görüntülerinde sağlam mine yüzeyine en yakın görüntülerin FV grubunda elde edildiği, en homojen yoğunluk artışının yine FV grubuna ait örneklerde olduğu görülmüştür. Bu bulgu literatürdeki florlu verniğin başlangıç mine lezyonları üzerine remineralizasyonunu değerlendiren çalışmaların bulguları ile benzerlik göstermektedir (294, 295). GDF grubunda ise minede interprizmatik boşlukların yer yer tıkandığı ve açıkta kalan çukurcuklar olduğu gözlenmiştir. GDF ile FV grubuna ait mine yüzeyi görüntüleri karşılaştırıldığında; GDF grubunun daha poröz bir yapıda mine dokusuna sahip olduğu gözlenmiştir. NGF'nin başlangıç mine lezyonları üzerine etkisinin SEM ile değerlendirilmesi sonucunda; mine yüzeyinde oluşan yüzey yapısının diğer gruplarda oluşan remineralizasyon tabakasından farklı özelliklere sahip olduğu gözlemlenmiştir. NGF grubunda GDF grubuna göre mine yüzeyinde meydana gelen gümüş depozisyonunun daha az olduğu, FV grubuna göre ise demineralizasyon sonrası

açığa çıkan interprizmatik boşlukların daha az oranda tıklandığı ve daha poröz bir yüzey oluştuğu görülmüştür.

Çalışmamızda; mikrosertlik ve SEM görüntülerinin değerlendirilmesi ile elde edilen bulgular, başlangıç mine lezyonlarının remineralizasyonu üzerinde sodyum florürlü verniğin en etkin ajan olduğu görüşünde birleşmektedir. GDF'nin başlangıç mine lezyonunun remineralizasyonu üzerine FV kadar etkin olmadığı hem SEM görüntüleri ile hem de mikrosertlik yöntemi ile gösterilmiştir. NGF grubunda, kontrol grubuna göre mine yüzeyinde oluşan mineral depozisyonu daha fazla iken, FV ve GDF gruplarına göre interprizmatik boşlukların tıkanma oranının daha az olması; mikrosertlik bulgularının FV ve GDF'ye göre daha düşük değerler göstermesini destekler niteliktedir.

Sonuç olarak; NGF'nin başlangıç mine lezyonlarının remineralizasyonunda etkili olduğu ancak GDF ve FV kadar etkili bulunamaması nedeniyle rutin flor tedavilerine alternatif olarak önerilebilmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Nano gümüş florür, gümüş diamin florür ve sodyum florürlü vernik uygulamalarının mine remineralizasyonu üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak mikrosertlik yöntemi ve SEM incelemesi ile değerlendirildiği bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Araştırmamızda kullanılan remineralizasyon ajanlarının hepsinin başlangıç mine çürük lezyonlarının remineralizasyonu üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir.
2. Yapay çürük lezyonu oluşturulmuş mine yüzeylerine farklı remineralizasyon ajanları uygulanması sonrası yüzey sertlik değerleri incelendiğinde, hiçbir grupta başlangıç mikrosertlik değerine ulaşamadığı tespit edilmiştir.
3. NGF diş çürüklerinin önlenmesinde ve durdudurulmasında etkili antibakteriyel özelliği yüksek bir materyaldir. GDF gibi diş sert dokularında renklenme yapmaması, sitotoksitesinin düşük olması nedeniyle GDF'ye alternatif olarak geliştirilmiştir. Bizim çalışmamızda başlangıç mine lezyonlarının remineralizasyonunda etkili olduğu ancak FV ve GDF'ye göre remineralizasyon etkisinin sınırlı olduğu gösterilmiştir.
4. Gruplardan alınan mine örneklerinin SEM görüntüleri değerlendirildiğinde; demineralizasyon sonrası mine yüzeylerinde gözlenen porözitelerin remineralizasyon ajanlarının uygulanması sonrasında daha az izlendiği ve daha düzgün bir yüzey elde edildiği görülmüştür.
5. Nano gümüş florürün başlangıç çürüklerinin remineralizasyonu üzerine etkinliğinin kesin olarak belirlenebilmesi için daha çok sayıda in-vivo ve in-vitro çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. J Am Dent Assoc. 2000;131(7):887-99.
2. Groeneveld A, Van Eck AA, Backer Dirks O. Fluoride in caries prevention: is the effect pre- or post-eruptive? J Dent Res. 1990;69 Spec No:751-5; discussion 820-3.
3. Targino AG, Flores MA, dos Santos Junior VE, de Godoy Bene Bezerra F, de Luna Freire H, Galembeck A, et al. An innovative approach to treating dental decay in children. A new anti-caries agent. J Mater Sci Mater Med. 2014;25(8):2041-7.
4. Santos VE, Jr., Vasconcelos Filho A, Targino AG, Flores MA, Galembeck A, Caldas AF, Jr., et al. A new "silver-bullet" to treat caries in children--nano silver fluoride: a randomised clinical trial. J Dent. 2014;42(8):945-51.
5. Schemehorn BR, Orban JC, Wood GD, Fischer GM, Winston AE. Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. J Clin Dent. 1999;10(1 Spec No):13-6.
6. Lundeen TF, Roberson TM. Cariology: the lesion, etiology, prevention, and control. The Art and Science of Operative Dentistry. 3rd edition. Mosby, Missouri, 1995:60-128.
7. Roberson TM, Heyman HO, Swift EJ. Introduction to Art and Science of Operative Dentistry. (5th ed.) St.Louis, Mosby Co, pp 67-134, 2011.
8. Pinkham, J.R., Casamassimo, P.S., Fields, H.W., McTigue, D.J., Nowak, A.J. Pediatric Dentistry, 2005, Missouri: Elsevier Saunders.
9. Aoba T. Solubility properties of human tooth mineral and pathogenesis of dental caries. Oral Dis. 2004;10(5):249-57.
10. Hillman JD, Yappe BI, Johnson KP. Colonization of the human oral cavity by a strain of Streptococcus mutans. J Dent Res. 1985;64(11):1272-4.
11. Martinez AR, Abranches J, Kajfasz JK, Lemos JA. Characterization of the Streptococcus sobrinus acid-stress response by interspecies microarrays and proteomics. Mol Oral Microbiol. 2010;25(5):331-42.
12. Smiech-Slomkowska G, Jablonska-Zrobek J. The effect of oral health education on dental plaque development and the level of caries-related Streptococcus mutans and Lactobacillus spp. Eur J Orthod. 2007;29(2):157-60.

13. Featherstone JD. Dental caries: a dynamic disease process. *Aust Dent J.* 2008;53(3):286-91.
14. Matsui R, Cvitkovitch D. Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future Microbiol.* 2010;5(3):403-17.
15. Thylstrup, A., Fejerskov, O. Textbook of Cariology. 1986, Copenhagen: Munksgaard.
16. Sturdevant, C.M., Barton, R.E., Sockwell, C.L., Strickland, W.D. The Art and Science of Operative Dentistry, 1985, St. Louis: Mosby Company.
17. Cengiz T. Endodonti. Barış yayınları fakülteler kitapevi. İzmir, 1996.
18. Chandra S, Chandra S, Chandra G. In: Textbook of Operative Dentistry. 1st ed. New Delhi: Jaypee Brothers Publishers; 2007. Clinical aspects of dental caries; p. 34.
19. Deniz C, Karabulut C, Karabulut B, Solak H. Bakteriyolojik teknikler ile minede yapay çürük oluşturma yöntemleri. *SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2010; 2(2);127-136.
20. Buzalaf MA, Hannas AR, Magalhaes AC, Rios D, Honorio HM, Delbem AC. 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(4):316-34.
21. Gilmour AS, Edmunds DH, Newcombe RG, Clark MF. An in vitro study into the effect of a bacterial artificial caries system on the enamel adjacent to composite and amalgam restorations. *Caries Res.* 1993;27(3):169-75.
22. Fejerskov O, Ellwood R. Clinical use of fluoride. In: Fejerskov O, Kidd EAM. Dental caries and its clinical management. (1st ed.) Oxford, Blackwell, 189-222, 2003.
23. Arends J, Schuthof J. Fluoride content in human enamel after fluoride application and washing - an in vitro study. *Caries Res.* 1975;9(5):363-72.
24. Featherstone JD, Glena R, Shariati M, Shields CP. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res.* 1990;69 Spec No:620-5; discussion 34-6.
25. Zhi QH, Lo EC, Kwok AC. An in vitro study of silver and fluoride ions on remineralization of demineralized enamel and dentine. *Aust Dent J.* 2013;58(1):50-6.
26. ten Cate JM. In situ models, physico-chemical aspects. *Adv Dent Res.* 1994;8(2):125-33.
27. Featherstone JD, Rodgers BE. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res.* 1981;15(5):377-85.

28. White DJ. Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. *Caries Res*, 1987; 3(21): 228-242.
29. Featherstone JD. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater*. 1996;12(3):194-7.
30. Bowen WH. Interpretation and use of microbiological findings in dental caries. *Oral Microbiol Immunol*. 1986;1(1):82-6.
31. Stookey GK, Warrick JM, Miller LL, Greene AL. Animal caries models for evaluating fluoride dentifrices. *Adv Dent Res*. 1995;9(3):198-207; discussion 8-13.
32. Featherstone JD, Zero DT. An in situ model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. *J Dent Res*. 1992;71 Spec No:804-10.
33. Zero DT. In situ caries models. *Adv Dent Res*. 1995;9(3):214-30; discussion 31-4.
34. Dijkman GE, Arends J. Secondary caries in situ around fluoride-releasing light-curing composites: a quantitative model investigation on four materials with a fluoride content between 0 and 26 vol%. *Caries Res*. 1992;26(5):351-7.
35. O'Reilly MM, Featherstone JD. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1987;92(1):33-40.
36. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent*. 2011;39(6):430-7.
37. Cury JA, Tenuta LM. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res*. 2009;23 Suppl 1:23-30.
38. Pearce EI, Moore AJ. Remineralization of softened bovine enamel following treatment of overlying plaque with a mineral-enriching solution. *J Dent Res*. 1985;64(3):416-21.
39. Margolis HC, Varughese K, Moreno EC. Effect of fluoride on crystal growth of calcium apatites in the presence of a salivary inhibitor. *Calcif Tissue Int*. 1982;34 Suppl 2:S33-40.
40. Gonzalez-Cabezas C. The chemistry of caries: remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dent Clin North Am*. 2010;54(3):469-78.
41. Koray F. *Diş Çürükleri*. Dünya Kitabevi Ltd. Şti, 1981, İstanbul, ss 87-100.

42. Silverstone LM, Hicks MJ, Featherstone MJ. Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel. Part I. The dynamic nature of enamel caries. *Quintessence Int.* 1988;19(10):683-711.
43. Sjogren K, Birkhed D, Ruben J, Arends J. Effect of post-brushing water rinsing on caries-like lesions at approximal and buccal sites. *Caries Res.* 1995;29(5):337-42.
44. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res.* 2001;80(12):2066-70.
45. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res.* 2010;89(11):1187-97.
46. Lammers PC, Borggreven JM, Driessens FC. Influence of fluoride on in vitro remineralization of artificial subsurface lesions determined with a sandwich technique. *Caries Res.* 1990;24(2):81-5.
47. Featherstone JD. Remineralization, the natural caries repair process--the need for new approaches. *Adv Dent Res.* 2009;21(1):4-7.
48. Robinson C, Connell S, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC, Smith AM. The effect of fluoride on the developing tooth. *Caries Res.* 2004;38(3):268-76.
49. Bonetti D, Clarkson JE. Fluoride Varnish for Caries Prevention: Efficacy and Implementation. *Caries Res.* 2016;50 Suppl 1:45-9.
50. Hellwig E, Lussi A. What is the optimum fluoride concentration needed for the remineralization process? *Caries Res.* 2001;35 Suppl 1:57-9.
51. Hargreaves JA. The level and timing of systemic exposure to fluoride with respect to caries resistance. *J Dent Res.* 1992;71(5):1244-8.
52. Han L, Abu-Bakr N, Okamoto A, Iwaku M. Study of the fluoridated adhesive resin cement--fluoride release, fluoride uptake and acid resistance of tooth structures. *Dent Mater J.* 2001;20(1):114-22.
53. Fejerskov O, Ellwood R. Clinical use of fluoride. In: Fejerskov O, Kidd EAM. *Dental caries and its clinical management.* (1st ed.), 2003, Oxford, Blackwell, pp 189-222.
54. Murray JJ, Rugg-Gunn AJ. Water fluoridation uptake. In: *Pediatric Dentistry, The Mosby Comp*, 717-730, 1992.
55. Creanor SL, Strang R, Telfer S, MacDonald I, Smith MJ, Stephen KW. In situ appliance for the investigation of enamel de- and remineralization. A pilot study. *Caries Res.* 1986;20(5):385-91.

56. Murray JJ, Naylor MN. Fluorides and dental caries. London, Oxford University Press, 32-67, 1996.
57. Peterson PE. Society and Oral Health. Comm Oral Health. (1st ed.) London, Oxford, University Press, 20-38, 1997.
58. Petersson LG, Arvidsson I, Lynch E, Engstrom K, Twetman S. Fluoride concentrations in saliva and dental plaque in young children after intake of fluoridated milk. Caries Res. 2002;36(1):40-3.
59. Irigoyen ME, Sanchez-Hinojosa G. Changes in dental caries prevalence in 12-year-old students in the State of Mexico after 9 years of salt fluoridation. Caries Res. 2000;34(4):303-7.
60. Swan E. Dietary fluoride supplement protocol for the new millennium. J Can Dent Assoc. 2000;66(7):362; discussion 3.
61. Estupinan-Day SR, Baez R, Horowitz H, Warpeha R, Sutherland B, Thamer M. Salt fluoridation and dental caries in Jamaica. Community Dent Oral Epidemiol. 2001;29(4):247-52.
62. Meyer-Lueckel H, Schulte-Monting J, Kielbassa AM. The effect of commercially available saliva substitutes on predemineralized bovine dentin in vitro. Oral Dis. 2002;8(4):192-8.
63. Mandel ID. The functions of saliva. J Dent Res. 1987;66 Spec No:623-7.
64. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. Lancet. 2007;369(9555):51-9.
65. ten Cate JM, Featherstone JDB. Physicochemical aspects of fluoride enamel interactions. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA (eds). Fluoride in Dentistry. (2nd ed.) Copenhagen, Munksgaard, pp 252-269, 1996.
66. Bruun C, Lambrou D, Larsen MJ, Fejerskov O, Thylstrup A. Fluoride in mixed human saliva after different topical fluoride treatments and possible relation to caries inhibition. Community Dent Oral Epidemiol. 1982;10(3):124-9.
67. Bruun C, Givskov H. Calcium fluoride formation in enamel from semi- or low-concentrated F agents in vitro. Caries Res. 1993;27(2):96-9.
68. Balamir A, Batırbaygil Y. Florürlerin etki mekanizmaları. HÜ Diş Hek Fak Derg, 1983, 7(2): 117-124.
69. Dawes C, Jenkins GN, Hardwick JL, Leach SA. The Relation between the Fluoride Concentrations in the Dental Plaque and in Drinking Water. Br Dent J. 1965;119:164-7.
70. Pereira PN, Inokoshi S, Tagami J. In vitro secondary caries inhibition around fluoride releasing materials. J Dent. 1998;26(5-6):505-10.

71. Hamilton JR, Bowden GHW. Fluoride effects on oral bacteria. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in Dentistry. (2nd ed.) Copenhagen, Munksgaard, 13: 230-251, 1996.
72. Seppa L, Karkkainen S, Hausen H. Caries trends 1992-1998 in two low-fluoride Finnish towns formerly with and without fluoridation. Caries Res. 2000;34(6):462-8.
73. O'Mullane DM, Baez RJ, Jones S, Lennon MA, Petersen PE, Rugg-Gunn AJ, et al. Fluoride and Oral Health. Community Dent Health. 2016;33(2):69-99.
74. Hellwig E, Lennon AM. Systemic versus topical fluoride. Caries Res. 2004;38(3):258-62.
75. Gundoğar ZU, Yıldız E. Diş Hekimliğinde Fluoridler. Türkiye Klinikleri Journal of Pediatric Dentistry-Special Topics, 2015, 1.1: 111-117.
76. Bruun C, Thylstrup A, Uribe E. Loosely bound fluoride extracted from natural carious lesions after topical application of APF in vitro. Caries Res. 1983;17(5):458-60.
77. Svaton B, Attramadal A. The effect of stannous fluoride on human plaque acidogenicity in situ (Stephan curve). Acta Odontol Scand. 1978;36(4):211-8.
78. Nitta N, Yamaki M, Sawano S, Nakawa S. [Action of a fluorine lacquer (Duraphat) on the enamel surface]. Hiroshima Daigaku Shigaku Zasshi. 1969;1(2):166-71.
79. Petersson LG. Fluoride mouthrinses and fluoride varnishes. Caries Res. 1993;27 Suppl 1:35-42.
80. Clark DC, Stamm JW, Robert G, Tessier C. Results of a 32-month fluoride varnish study in Sherbrooke and Lac-Mégantic, Canada. J Am Dent Assoc. 1985;111(6):949-53.
81. Mohd Said SN, Ekambaram M, Yiu CK. Effect of different fluoride varnishes on remineralization of artificial enamel carious lesions. Int J Paediatr Dent. 2016.
82. Al Dehailan L, Martinez-Mier EA, Lippert F. The effect of fluoride varnishes on caries lesions: an in vitro investigation. Clin Oral Investig. 2016;20(7):1655-62.
83. Shen P, Bagheri R, Walker GD, Yuan Y, Stanton DP, Reynolds C, et al. Effect of calcium phosphate addition to fluoride containing dental varnishes on enamel demineralization. Aust Dent J. 2015.
84. Ogard B, Seppa L, Rolla G. Professional topical fluoride applications--clinical efficacy and mechanism of action. Adv Dent Res. 1994;8(2):190-201.
85. Aras S, Sütlaş E, Baslangıç Mine Lezyonlarının Tedavisinde Florid İlave edilmiş Kazein Fosfopeptit Amorfoz Kalsiyum Fosfat (CPPACPF) ile Floridli Sütün Etkinliğinin Araştırılması. 2011, Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara Üniversitesi, Ankara.

86. Savaş S, Küçükylmaz E. Diş hekimliğinde kullanılan remineralizasyon ajanları ve çürük önleyici ajanlar, Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Dergisi, 2014;9;113-125.
87. Beltrán-Aguilar ED, Goldstein JW, Lockwood SA. Fluoride varnishes. A review of their clinical use, cariostatic mechanism, efficacy and safety. J Am Dent Assoc 2000;131:589- 596.
88. Castellano JB, Donly KJ. Potential remineralization of demineralized enamel after application of fluoride varnish. Am J Dent. 2004;17(6):462-4.
89. Lin R, Hildebrand T, Donly KJ. In vitro remineralization associated with a bioerodible fluoridated resin and a fluoride varnish. Am J Dent. 2009;22(4):203-5.
90. Seppa L, Hausen H, Tuutti H, Luoma H. Effect of a sodium fluoride varnish on the progress of initial caries lesions. Scand J Dent Res. 1983;91(2):96-8.
91. Peng JJ, Botelho MG, Matinlinna JP. Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. J Dent. 2012;40:531-541.
92. Yamaga R, Nishino M, Yoshida S, Yokomizo I. Diammine silver fluoride and its clinical application. J Osaka Univ Dent Sch. 1972;12:1-20.
93. Cheng L, Zhang K, Weir MD, Liu H, Zhou X, Xu HH. Effects of antibacterial primers with quaternary ammonium and nano-silver on *Streptococcus mutans* impregnated in human dentin blocks. Dent Mater. 2013;29(4):462-72.
94. Zhang K, Li F, Imazato S, Cheng L, Liu H, Arola DD, et al. Dual antibacterial agents of nano-silver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit caries. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2013;101(6):929-38.
95. Klein U, Kanellis MJ, Drake D: Effects of four anticaries agents on lesion depth progression in an in vitro caries model. *Pediatr Dent*, 1999, 21, 176-180.
- .
96. Chu CH, Gao SS, Li SK, Wong MC, Lo EC. The effectiveness of the biannual application of silver nitrate solution followed by sodium fluoride varnish in arresting early childhood caries in preschool children: study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. 2015;16:426.
97. Horst JA, Ellenikiotis H, Milgrom PL. UCSF Protocol for Caries Arrest Using Silver Diamine Fluoride: Rationale, Indications and Consent. J Calif Dent Assoc. 2016;44(1):16-28.
98. Mei ML, Lo EC, Chu CH. Clinical Use of Silver Diamine Fluoride in Dental Treatment. *Compend Contin Educ Dent*. 2016;37(2):93-8; quiz100.

99. Dos Santos VE, Jr., de Vasconcelos FM, Ribeiro AG, Rosenblatt A. Paradigm shift in the effective treatment of caries in schoolchildren at risk. *Int Dent J.* 2012;62(1):47-51.
100. Lo EC, Chu CH, Lin HC. A community-based caries control program for pre-school children using topical fluorides: 18-month results. *J Dent Res.* 2001;80(12):2071-4.
101. Gao SS, Zhao IS, Hiraishi N, Duangthip D, Mei ML, Lo ECM, et al. Clinical Trials of Silver Diamine Fluoride in Arresting Caries among Children A Systematic Review. *JDR Clinical & Translational Research.* 2016;2380084416661474 %@ 2380-0844.
102. Rosenblatt A, Stamford TC, Niederman R. Silver diamine fluoride: a caries "silver-fluoride bullet". *J Dent Res.* 2009;88(2):116-25.
103. Bowen DM. Effectiveness of Professionally-Applied Silver Diamine Fluoride in Arresting Dental Caries. *J Dent Hyg.* 2016;90(2):75-8.
104. Nantanee R, Santiwong B, Trairatvorakul C, Hamba H, Tagami J. Silver diamine fluoride and glass ionomer differentially remineralize early caries lesions, in situ. *Clin Oral Investig.* 2016;20(6):1151-7.
105. Goswami M, Saha S, Chaitra TR: Lates developments in nonfluoridated remineralizing technologies. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* , 2012, 30, 2-6.
106. Lansdown AB. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl Dermatol.* 2006;33:17-34.
107. Oppermann RV, Johansen JR. Effect of fluoride and non-fluoride salts of copper, silver and tin on the acidogenicity of dental plaque in vivo. *Scand J Dent Res.* 1980;88(6):476-80.
108. Wu MY, Suryanarayanan K, van Ooij WJ, Oerther DB. Using microbial genomics to evaluate the effectiveness of silver to prevent biofilm formation. *Water Sci Technol.* 2007;55(8-9):413-9.
109. Russell AD, Hugo WB. Antimicrobial activity and action of silver. *Prog Med Chem.* 1994;31:351-70.
110. Suzuki T, Nishida M, Sobue S, Moriwaki Y. Effects of diammine silver fluoride on tooth enamel. *J Osaka Univ Dent Sch.* 1974;14:61-72.
111. Oyar P. Diş hekimliğinde nanopartiküllerin kullanım alanları. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.* 2014, 8; 49-55.
112. Oyar P. Diş hekimliğinde kullanılan nanopartiküller, kullanım alanları ve biyouyumluluk. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg,* 2014;24(1):125-133.

113. Padovani GC, Feitosa VP, Sauro S, Tay FR, Duran G, Paula AJ, et al. Advances in Dental Materials through Nanotechnology: Facts, Perspectives and Toxicological Aspects. *Trends Biotechnol.* 2015;33(11):621-36.
114. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine.* 2007;3(1):95-101.
115. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(6):1712-20.
116. Peulen TO, Wilkinson KJ. Diffusion of nanoparticles in a biofilm. *Environ Sci Technol.* 2011;45(8):3367-73.
117. Şenol Tuna MS, Aras Ş. Çeşitli sakızların ağız ve diş sağlığı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi. *Acta Odontol Turc* 2015;32(1):42-6.
118. Yıldırım Z, Öncül N, Yıldırım M. Kitosan ve antimikrobiyal özellikleri. *NGÜ Müh. Bilim. Derg. / NGU J. Eng. Sci.*, 2016, 5(1): 19-36.
119. Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *Int J Food Microbiol.* 2010;144(1):51-63.
120. Raafat D, Sahl HG. Chitosan and its antimicrobial potential--a critical literature survey. *Microb Biotechnol.* 2009;2(2):186-201.
121. Kong M, Chen XG, Liu CS, Liu CG, Meng XH, Yu le J. Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli*. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2008;65(2):197-202.
122. Yang TC, Chou CC, Li CF. Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives. *Int J Food Microbiol.* 2005;97(3):237-45.
123. Shibasaki K, Sano H, Matsukubo T, Takaesu Y. Effects of low molecular chitosan on pH changes in human dental plaque. *Bull Tokyo Dent Coll.* 1994;35(1):33-9.
124. Hayashi Y, Ohara N, Ganno T, Yamaguchi K, Ishizaki T, Nakamura T, et al. Chewing chitosan-containing gum effectively inhibits the growth of cariogenic bacteria. *Arch Oral Biol.* 2007;52(3):290-4.
125. Uysal T, Akkurt MD, Amasyali M, Ozcan S, Yagci A, Basak F, Sagdic D. Does a chitosan-containing dentifrice prevent demineralization around orthodontic brackets? *Angle Orthod.* 2011;81:319-25.
126. Arnaud TM, de Barros Neto B, Diniz FB. Chitosan effect on dental enamel remineralization: an in vitro evaluation. *J Dent.* 2010;38(11):848-52.

127. Muzzarelli R, Tarsi R, Filippini O, Giovanetti E, Biagini G, Varaldo PE. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990;34(10):2019-23.
128. Fujiwara M, Hayashi Y, Ohara N. Inhibitory effect of water-soluble chitosan on growth of *Streptococcus mutans*. *New Microbiol.* 2004;27(1):83-6.
129. Bae K, Jun EJ, Lee SM, Paik DI, Kim JB. Effect of water-soluble reduced chitosan on *Streptococcus mutans*, plaque regrowth and biofilm vitality. *Clin Oral Investig.* 2006;10(2):102-7.
130. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent.* 2004;28(2):119-24.
131. Sonju Clasen AB, Ogaard B, Duschner H, Ruben J, Arends J, Sonju T. Caries development in fluoridated and non-fluoridated deciduous and permanent enamel in situ examined by microradiography and confocal laser scanning microscopy. *Adv Dent Res.* 1997;11(4):442-7.
132. Lippert F, Juthani K. Fluoride dose-response of human and bovine enamel artificial caries lesions under pH-cycling conditions. *Clin Oral Investig.* 2015;19(8):1947-54.
133. Doherty UB, Benson PE, Higham SM. Fluoride-releasing elastomeric ligatures assessed with the in situ caries model. *Eur J Orthod.* 2002;24(4):371-8.
134. Gonzalez-Cabezas C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, et al. Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. A correlational study. *Caries Res.* 1998;32(5):385-92.
135. Korkut B, Tağtekin DA, Yanıkoğlu FÇ. Diş çürüklerinin erken teşhisi ve teşhiste yeni yöntemler: QLF, Diagnodent, Elektriksel İletkenlik ve Ultrasonik Sistem. *EÜ Diş Hek Fak Derg.* 2011;32: 55-67.
136. Akkurt MD PG, Altun C, Başak F. Beyaz Nokta Lezyonlarının Teşhis ve Tedavi Yöntemleri. *ADO Klinik Bilimler Dergisi*, 2010;4.2: 536-544.
137. Söchtig F, Hickel R, Kühnisch J. Caries detection and diagnostics with near-infrared light transillumination: Clinical experiences. *Quintessence International.* 2014;45(6 %@ 0033-6572).
138. Cirligeriu L, Sinescu C, Boariu M, Negrutiu M-L, Nica L. The Importance of Early Diagnosis for Hydroxyapatite Remineralisation in Enamel Caries. *REVISTA DE CHIMIE.* 2015;66(9):1477-9 %@ 0034-7752.

139. Asaka Y, Miyazaki M, Aboshi H, Yoshida T, Takamizawa T, Kurokawa H, et al. EDX fluorescence analysis and SEM observations of resin composites. *J Oral Sci.* 2004;46(3):143-8.
140. Arnold WH, Cerman M, Neuhaus K, Gaengler P. Volumetric assessment and quantitative element analysis of the effect of fluoridated milk on enamel demineralization. *Arch Oral Biol.* 2003;48(6):467-73.
141. Hatibović-Kofman Š, El-Kassem M, Inocencio F, Selimović M, Raimundo L. Evidence based effectiveness of pit and fissure sealants applied by students and paediatric dentists after five years. *Acta stomatologica Croatica.* 2008;42(3):218-28.
142. Çivitçi F, Malkoç MA. Diş hekimliğinde mikro bt'nin kullanım alanları. 2013; 14 (2): 279-284.
143. Aydın B, Pamir T, Baltacı A, Orman MN, Türk T. Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *Eur J Dent.* 2015;9(2):262-6.
144. Western JS, Dicksit DD. A systematic review of randomized controlled trials on sterilization methods of extracted human teeth. *J Conserv Dent.* 2016;19(4):343-6.
145. Kulan M. Hidroksiapatit Ve Biyoaktif Cam İçerikli Farklı Diş Macunlarının Mine Remineralizasyonu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2014.
146. Chuenarrom C, Benjakul P, Daosodsai P. Effect of indentation load and time on knoop and vickers microhardness tests for enamel and dentin. *Materials Research.* 2009;12(4):473-6 %@ 1516-439.
147. Dogan F, Civelek A, Oktay I. Effect of different fluoride concentrations on remineralization of demineralized enamel: an in vitro pH-cycling study. *Oral Health and Dental Management.* 2004.
148. ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res.* 1982;16(3):201-10.
149. Vieira AE, Delbem AC, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res.* 2005;39(6):514-20.
150. Amaechi BT, Porteous N, Ramalingam K, Mensinkai PK, Ccahuana Vasquez RA, Sadeghpour A, et al. Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Res.* 2013;47(5):399-405.
151. Bansal K, Gauba K, Tewari A, Chawla HS, Sahni A. In vivo remineralization of artificial enamel carious lesions using a mineral-enriched mouthrinse and a fluoride

dentifrice: a polarized light microscopic comparative evaluation. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2010;28(4):264-70.

152. De Queiroz VS, Nouer PR, Tabchoury CP, Lima-Arsati YB, Nouer DF. In vivo evaluation of fluoride dentifrice and diet control on the demineralization/remineralization process using laser readouts at the margin of the orthodontic bracket/enamel interface. *Am J Dent.* 2015;28(1):23-7.

153. Gupta K, Tewari A, Sahni A, Chawla HS, Gauba K. Remineralizing efficacy of a mineral enriched mouth rinse and fluoridated dentifrice on artificial carious lesions: an in vivo scanning electron microscopic study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 1998;16(3):67-71.

154. Kim JW, Jang KT, Lee SH, Kim CC, Hahn SH, Garcia-Godoy F. In vivo rehardening of enamel eroded by a cola drink. *ASDC J Dent Child.* 2001;68(2):122-4, 42.

155. Li J, Xie X, Wang Y, Yin W, Antoun JS, Farella M, et al. Long-term remineralizing effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) on early caries lesions in vivo: a systematic review. *J Dent.* 2014;42(7):769-77.

156. Li X, Wang J, Joiner A, Chang J. The remineralisation of enamel: a review of the literature. *J Dent.* 2014;42 Suppl 1:S12-20.

157. Lippert F, Butler A, Lynch RJ, Hara AT. Effect of fluoride, lesion baseline severity and mineral distribution on lesion progression. *Caries Res.* 2012;46(1):23-30.

158. Rosin-Grget K, Peros K, Sutej I, Basic K. The cariostatic mechanisms of fluoride. *Acta Med Acad.* 2013;42(2):179-88.

159. ten Cate JM. Remineralization of deep enamel dentine caries lesions. *Aust Dent J.* 2008;53(3):281-5.

160. Amaechi BT, Ramalingam K, Mensinkai PK, Chedjieu I. In situ remineralization of early caries by a new high-fluoride dentifrice. *Gen Dent.* 2012;60(4):e186-92.

161. Cardoso CA, Cassiano LP, Costa EN, Souza ESCM, Magalhaes AC, Grizzo LT, et al. Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in situ. *J Dent.* 2016;50:74-8.

162. Danelon M, Pessan JP, Neto FN, de Camargo ER, Delbem AC. Effect of toothpaste with nano-sized trimetaphosphate on dental caries: In situ study. *J Dent.* 2015;43(7):806-13.

163. Dunipace AJ, Hall AF, Kelly SA, Beiswanger AJ, Fischer GM, Lukantsova LL, et al. An in situ interproximal model for studying the effect of fluoride on enamel. *Caries Res.* 1997;31(1):60-70.

164. Grazziotin GB, Rios D, Honorio HM, Silva SM, Lima JE. In situ investigation of the remineralizing effect of saliva and fluoride on enamel following prophylaxis using sodium bicarbonate. *Eur J Dent.* 2011;5(1):40-6.
165. Lagerweij MD, ten Cate JM. Remineralisation of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoridated toothpaste: an in situ study. *Caries Res.* 2002;36(4):270-4.
166. Manarelli MM, Delbem AC, Binhardi TD, Pessan JP. In situ remineralizing effect of fluoride varnishes containing sodium trimetaphosphate. *Clin Oral Investig.* 2015;19(8):2141-6.
167. Mathews MS, Amaechi BT, Ramalingam K, Ccahuana-Vasquez RA, Chedjieu IP, Mackey AC, et al. In situ remineralisation of eroded enamel lesions by NaF rinses. *Arch Oral Biol.* 2012;57(5):525-30.
168. Meyer-Lueckel H, Wierichs RJ, Schellwien T, Paris S. Remineralizing efficacy of a CPP-ACP cream on enamel caries lesions in situ. *Caries Res.* 2015;49(1):56-62.
169. Nobrega DF, Fernandez CE, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Cury JA. Frequency of Fluoride Dentifrice Use and Caries Lesions Inhibition and Repair. *Caries Res.* 2016;50(2):133-40.
170. Samuel SR, Dorai S, Khatri SG, Patil ST. Effect of ozone to remineralize initial enamel caries: in situ study. *Clin Oral Investig.* 2016;20(5):1109-13.
171. Alves KM, Franco KS, Sassaki KT, Buzalaf MA, Delbem AC. Effect of iron on enamel demineralization and remineralization in vitro. *Arch Oral Biol.* 2011;56(11):1192-8.
172. Carvalho TS, Peters BG, Rios D, Magalhaes AC, Sampaio FC, Buzalaf MA, et al. Fluoride varnishes with calcium glycerophosphate: fluoride release and effect on in vitro enamel demineralization. *Braz Oral Res.* 2015;29.
173. Mielczarek A, Gedrange T, Michalik J. An in vitro evaluation of the effect of fluoride products on white spot lesion remineralization. *Am J Dent.* 2015;28(1):51-6.
174. Vyavhare S, Sharma DS, Kulkarni VK. Effect of three different pastes on remineralization of initial enamel lesion: an in vitro study. *J Clin Pediatr Dent.* 2015;39(2):149-60.
175. Xiang C, Ran J, Yang Q, Li W, Zhou X, Zhang L. Effects of enamel matrix derivative on remineralisation of initial enamel carious lesions in vitro. *Arch Oral Biol.* 2013;58(4):362-9.

176. Yazici AR, Kiremitci A, Celik C, Ozgunaltay G, Dayangac B. A two-year clinical evaluation of pit and fissure sealants placed with and without air abrasion pretreatment in teenagers. *J Am Dent Assoc.* 2006;137(10):1401-5.
177. Pollard MA. Potential cariogenicity of starches and fruits as assessed by the plaque-sampling method and an intraoral cariogenicity test. *Caries Res.* 1995;29(1):68-74.
178. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003;28(3):215-35.
179. Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE, Sagdic D. Efficiency of amorphous calcium phosphate-containing orthodontic composite and resin modified glass ionomer on demineralization evaluated by a new laser fluorescence device. *Eur J Dent.* 2009;3(2):127-34.
180. ten Cate JM, Exterkate RA, Buijs MJ. The relative efficacy of fluoride toothpastes assessed with pH cycling. *Caries Res.* 2006;40(2):136-41.
181. Puig-Silla M, Montiel-Company JM, Almerich-Silla JM. Comparison of the remineralizing effect of a sodium fluoride mouthrinse versus a sodium monofluorophosphate and calcium mouthrinse: an in vitro study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2009;14(5):E257-62.
182. Iijima Y, Takagi O, Ruben J, Arends J. In vitro remineralization of in vivo and in vitro formed enamel lesions. *Caries Res.* 1999;33(3):206-13.
183. Chedid SJ, Cury JA. Effect of 0.02% NaF solution on enamel demineralization and fluoride uptake by deciduous teeth in vitro. *Braz Oral Res.* 2004;18(1):18-22.
184. Lynch RJ, Ten Cate JM. The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de- and remineralisation behaviour. *Caries Res.* 2006;40(6):530-5.
185. Edmunds DH, Whittaker DK, Green RM. Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. *Caries Res.* 1988;22(6):327-36.
186. Narayana SS, Deepa VK, Ahamed S, Sathish ES, Meyappan R, Satheesh Kumar KS. Remineralization efficiency of bioactive glass on artificially induced carious lesion an in-vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2014;32(1):19-25.
187. Itthagarun A, Verma S, Lalloo R, King NM, Wefel JS, Nair RG. Effects of fluoridated milk on artificial enamel carious lesions: a pH cycling study. *J Dent.* 2011;39(12):817-24.

188. Chokshi K, Chokshi A, Konde S, Shetty SR, Chandra KN, Jana S, et al. An in vitro Comparative Evaluation of Three Remineralizing Agents using Confocal Microscopy. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(6):ZC39-42.
189. Cardoso CA, de Castilho AR, Salomao PM, Costa EN, Magalhaes AC, Buzalaf MA. Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in vitro. *J Dent.* 2014;42(11):1495-501.
190. Bonar LC, Shimizu M, Roberts JE, Griffin RG, Glimcher MJ. Structural and composition studies on the mineral of newly formed dental enamel: a chemical, x-ray diffraction, and ³¹P and proton nuclear magnetic resonance study. *J Bone Miner Res.* 1991;6(11):1167-76.
191. Marchese A, Orhan IE, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi SF, et al. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chem.* 2016;210:402-14.
192. Carvalho DM, Salazar M, Oliveira BH, Coutinho ES. Fluoride varnishes and decrease in caries incidence in preschool children: a systematic review. *Rev Bras Epidemiol.* 2010;13(1):139-49.
193. Kargul B, Ozcan M, Peker S, Nakamoto T, Simmons WB, Falster AU. Evaluation of human enamel surfaces treated with theobromine: a pilot study. *Oral Health Prev Dent.* 2012;10(3):275-82.
194. Huang SB, Gao SS, Yu HY. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater.* 2009;4(3):034104.
195. Savas S, Kavrik F, Kucukyilmaz E. Evaluation of the remineralization capacity of CPP-ACP containing fluoride varnish by different quantitative methods. *J Appl Oral Sci.* 2016;24(3):198-203.
196. McCann HG. Determination of fluoride in mineralized tissues using the fluoride ion electrode. *Arch Oral Biol.* 1968;13(4):475-7.
197. Arnold WH, Dorow A, Langenhorst S, Gintner Z, Banoczy J, Gaengler P. Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. *BMC Oral Health.* 2006;6:8.
198. Elkassas D, Arafa A. Remineralizing efficacy of different calcium-phosphate and fluoride based delivery vehicles on artificial caries like enamel lesions. *J Dent.* 2014;42(4):466-74.
199. Jardim JJ, Pagot MA, Maltz M. Artificial enamel dental caries treated with different topical fluoride regimes: an in situ study. *J Dent.* 2008;36(6):396-401.

200. Yamazaki H, Litman A, Margolis HC. Effect of fluoride on artificial caries lesion progression and repair in human enamel: regulation of mineral deposition and dissolution under in vivo-like conditions. *Arch Oral Biol*. 2007;52(2):110-20.
201. White DJ. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries. II. Effects on subsurface lesions: F uptake, F distribution, surface hardening and remineralization. *Caries Res*. 1988;22(1):27-36.
202. de Groot JF, Borggreven JM, Driessens FC. Some aspects of artificial caries lesion formation of human dental enamel in vitro. *J Biol Buccale*. 1986;14(2):125-31.
203. Kaufman HW, Pollock JJ, Murphy J, Lunardi S, Vlack J. Factors involved in artificial caries induction by oral streptococci in extracted human teeth. *J Dent Res*. 1984;63(5):653-7.
204. Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res*. 1983;17(5):385-91.
205. Arends J, Schuthof J. Microharness and lesion depth studies of artificial caries lesions: a comparison of gelatin and HEC based systems. *J Biol Buccale*. 1980;8(2):175-81.
206. Featherstone JD, Shariati M, Brugler S, Fu J, White DJ. Effect of an anticalculus dentifrice on lesion progression under pH cycling conditions in vitro. *Caries Res*. 1988;22(6):337-41.
207. Lo EC, Zhi QH, Itthagarun A. Comparing two quantitative methods for studying remineralization of artificial caries. *J Dent*. 2010;38(4):352-9.
208. Kumar VL, Itthagarun A, King NM. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aust Dent J*. 2008;53(1):34-40.
209. Lussi A, Megert B, Eggenberger D, Jaeggi T. Impact of different toothpastes on the prevention of erosion. *Caries Res*. 2008;42(1):62-7.
210. Hegde MN, Moany A. Remineralization of enamel subsurface lesions with casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: A quantitative energy dispersive X-ray analysis using scanning electron microscopy: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2012;15(1):61-7.
211. Bajaj M, Poornima P, Praveen S, Nagaveni NB, Roopa KB, Neena IE, et al. Comparison of CPP-ACP, Tri-Calcium Phosphate and Hydroxyapatite on

- Remineralization of Artificial Caries Like Lesions on Primary Enamel-An in vitro Study. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2016;40(5):404-9 %@ 1053-4628.
212. Itthagarun A, King NM, Cheung Y-M. The effect of nano-hydroxyapatite toothpaste on artificial enamel carious lesion progression: an in-vitro pH-cycling study. *Hong Kong Dent J*. 2010;7(2):61-6.
213. Bozathlıoğlu R. Farklı remineralizasyon ajanlarının uygulandığı yapay çürük lezyonlu dişlerin yüzey sertlik değerlerinin karşılaştırılması ve SEM görüntülerinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, 2012
214. Casals E, Boukpepsi T, McQueen CM, Eversole SL, Faller RV. Anticaries potential of commercial dentifrices as determined by fluoridation and remineralization efficiency. *J Contemp Dent Pract*. 2007;8(7):1-10.
215. Huang TT, Jones AS, He LH, Darendeliler MA, Swain MV. Characterisation of enamel white spot lesions using X-ray micro-tomography. *J Dent*. 2007;35(9):737-43.
216. Rodrigues E, Delbem AC, Pedrini D, Cavassan L. Enamel remineralization by fluoride-releasing materials: proposal of a pH-cycling model. *Braz Dent J*. 2010;21(5):446-51.
217. ten Cate JM. Models and role models. *Caries Res*. 2015;49 Suppl 1:3-10.
218. Vieira A, Ruben JL, Huysmans MC. Effect of titanium tetrafluoride, amine fluoride and fluoride varnish on enamel erosion in vitro. *Caries Res*. 2005;39(5):371-9.
219. de Carvalho FG, Vieira BR, Santos RL, Carlo HL, Lopes PQ, de Lima BA. In vitro effects of nano-hydroxyapatite paste on initial enamel carious lesions. *Pediatr Dent*. 2014;36(3):85-9.
220. Villena RS, Tenuta LM, Cury JA. Effect of APF gel application time on enamel demineralization and fluoride uptake in situ. *Braz Dent J*. 2009;20(1):37-41.
221. Itthagarun A, Wei SH, Wefel JS. The effect of different commercial dentifrices on enamel lesion progression: an in vitro pH-cycling study. *Int Dent J*. 2000;50(1):21-8.
222. Thaveesangpanich P, Itthagarun A, King NM, Wefel JS, Tay FR. In vitro model for evaluating the effect of child formula toothpastes on artificial caries in primary dentition enamel. *Am J Dent*. 2005;18(3):212-6.
223. Hu W, Featherstone JD. Prevention of enamel demineralization: an in-vitro study using light-cured filled sealant. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2005;128(5):592-600; quiz 70.

224. Ivancakova R, Hogan MM, Harless JD, Wefel JS. Effect of fluoridated milk on progression of root surface lesions in vitro under pH cycling conditions. *Caries Res.* 2003;37(3):166-71.
225. Takagi S, Liao H, Chow LC. Effect of tooth-bound fluoride on enamel demineralization/ remineralization in vitro. *Caries Res.* 2000;34(4):281-8.
226. Santos Lde M, Reis JI, Medeiros MP, Ramos SM, Araujo JM. In vitro evaluation of fluoride products in the development of carious lesions in deciduous teeth. *Braz Oral Res.* 2009;23(3):296-301.
227. Lata S, Varghese NO, Varughese JM. Remineralization potential of fluoride and amorphous calcium phosphate-casein phospho peptide on enamel lesions: An in vitro comparative evaluation. *J Conserv Dent.* 2010;13(1):42-6.
228. Delbem AC, Bergamaschi M, Sasaki KT, Cunha RF. Effect of fluoridated varnish and silver diamine fluoride solution on enamel demineralization: pH-cycling study. *J Appl Oral Sci.* 2006;14(2):88-92.
229. Magalhaes AC, Comar LP, Rios D, Delbem AC, Buzalaf MA. Effect of a 4% titanium tetrafluoride (TiF₄) varnish on demineralisation and remineralisation of bovine enamel in vitro. *J Dent.* 2008;36(2):158-62.
230. Cochrane NJ, Walker GD, Manton DJ, Reynolds EC. Comparison of quantitative light-induced fluorescence, digital photography and transverse microradiography for quantification of enamel remineralization. *Aust Dent J.* 2012;57(3):271-6.
231. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res.* 1992;71 Spec No:924-8.
232. White DJ. The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Adv Dent Res.* 1995;9(3):175-93; discussion 94-7.
233. Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent RL, Jr., Moreno EC. Kinetics of enamel demineralization in vitro. *J Dent Res.* 1999;78(7):1326-35.
234. Klinger HG, Wiedemann W, Docos E. [Mechanical properties and acid solubility of the dental surface. I. Microhardness]. *Dtsch Zahnarztl Z.* 1980;35(8):823-7.
235. White DJ, Featherstone JD. A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression in vitro. *Caries Res.* 1987;21(6):502-12.
236. Zhang YP, Din CS, Miller S, Nathoo SA, Gaffar A. Intra-oral remineralization of enamel with a MFP/DCPD and MFP/silica dentifrice using surface microhardness. *J Clin Dent.* 1995;6(2):148-53.

237. Newby CS, Creeth JE, Rees GD, Schemehorn BR. Surface microhardness changes, enamel fluoride uptake, and fluoride availability from commercial toothpastes. *J Clin Dent*. 2006;17(4):94-9.
238. Rirattanapong P, Vongsavan K, Suratit R, Tanaiutchawoot N, Charoenchokdilok V, Jeansuwannagorn S, et al. Effect of various forms of calcium in dental products on human enamel microhardness in vitro. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2012;43(4):1053-8.
239. Agrawal N, Shashikiran ND, Singla S, Ravi KS, Kulkarni VK. Effect of remineralizing agents on surface microhardness of primary and permanent teeth after erosion. *J Dent Child (Chic)*. 2014;81(3):117-21.
240. Vongsavan K, Surarit R, Rirattanapong P. The combined effect of xylitol and fluoride in varnish on bovine teeth surface microhardness. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2014;45(2):505-10.
241. Kaur G, Sanap AU, Aggarwal SD, Kumar T. Comparative evaluation of two different remineralizing agents on the microhardness of bleached enamel surface: Results of an in vitro study. *Indian J Dent Res*. 2015;26(2):176-9.
242. Shetty KP, Satish SV, Gouda V, Badade AR, Gouda B, Patil S. Comparative evaluation and effect of organic and inorganic fluoride dentifrices on enamel microhardness: An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2016;6(2):130-3.
243. Zero DT, Rahbek I, Fu J, Proskin HM, Featherstone JD. Comparison of the iodide permeability test, the surface microhardness test, and mineral dissolution of bovine enamel following acid challenge. *Caries Res*. 1990;24(3):181-8.
244. Rehder Neto FC, Maeda FA, Turssi CP, Serra MC. Potential agents to control enamel caries-like lesions. *J Dent*. 2009;37(10):786-90.
245. Poskus LT, Placido E, Cardoso PE. Influence of placement techniques on Vickers and Knoop hardness of class II composite resin restorations. *Dent Mater*. 2004;20(8):726-32.
246. Zimmermann MB, Koulourides T, Muhammad NA, Corpron RE, Higuchi WI, Kowalski CJ. Intraoral uptake of fluoride by presoftened enamel following systemic administration and fluoride mouthrinsing. *Caries Res*. 1985;19(3):255-61.
247. 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(2):110-4.

248. Comar LP, Souza BM, Gracindo LF, Buzalaf MA, Magalhaes AC. Impact of experimental nano-HAP pastes on bovine enamel and dentin submitted to a pH cycling model. *Braz Dent J*. 2013;24(3):273-8.
249. Souza BM, Comar LP, Vertuan M, Fernandes Neto C, Buzalaf MA, Magalhaes AC. Effect of an Experimental Paste with Hydroxyapatite Nanoparticles and Fluoride on Dental Demineralisation and Remineralisation in situ. *Caries Res*. 2015;49(5):499-507.
250. Seppa L. Fluoride varnishes in caries prevention. *Med Princ Pract*. 2004;13(6):307-11.
251. Hausen H, Seppa L, Poutanen R, Niinimaa A, Lahti S, Karkkainen S, et al. Noninvasive control of dental caries in children with active initial lesions. A randomized clinical trial. *Caries Res*. 2007;41(5):384-91.
252. Seppa L, Leppanen T, Hausen H. Fluoride varnish versus acidulated phosphate fluoride gel: a 3-year clinical trial. *Caries Res*. 1995;29(5):327-30.
253. Hazelrigg CO, Dean JA, Fontana M. Fluoride varnish concentration gradient and its effect on enamel demineralization. *Pediatr Dent*. 2003;25(2):119-26.
254. Magalhaes AC, Levy FM, Rios D, Buzalaf MA. Effect of a single application of TiF(4) and NaF varnishes and solutions on dentin erosion in vitro. *J Dent*. 2010;38(2):153-7.
255. Marinelli CB, Donly KJ, Wefel JS, Jakobsen JR, Denehy GE. An in vitro comparison of three fluoride regimens on enamel remineralization. *Caries Res*. 1997;31(6):418-22.
256. Rirattanapong P, Vongsavan K, Saengsirinavin C, Pornmahala T. Effect of fluoride varnishes containing tri-calcium phosphate sources on remineralization of initial primary enamel lesions. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2014;45(2):499-504.
257. Comar LP, Wiegand A, Moron BM, Rios D, Buzalaf MA, Buchalla W, et al. In situ effect of sodium fluoride or titanium tetrafluoride varnish and solution on carious demineralization of enamel. *Eur J Oral Sci*. 2012;120(4):342-8.
258. Kielbassa AM, Hellwig E, Meyer-Lueckel H. Effects of irradiation on in situ remineralization of human and bovine enamel demineralized in vitro. *Caries Res*. 2006;40(2):130-5.
259. Trairatvorakul C, Techalertpaisarn P, Siwawut S, Ingprapankorn A. Effect of glass ionomer cement and fluoride varnish on the remineralization of artificial proximal caries in situ. *J Clin Pediatr Dent*. 2009;34(2):131-4.

260. Schemehorn BR, Wood GD, McHale W, Winston AE. Comparison of fluoride uptake into tooth enamel from two fluoride varnishes containing different calcium phosphate sources. *J Clin Dent*. 2011;22(2):51-4.
261. Tuloglu N, Bayrak S, Tunc ES, Ozer F. Effect of fluoride varnish with added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on the acid resistance of the primary enamel. *BMC Oral Health*. 2016;16(1):103.
262. Girenes G. Yeni geliştirilen iyontoforez etkili florid kaşığının remineralizasyondaki etkinliğinin in vitro olarak değerlendirilmesi. Ankara2012.
263. Gonzalez-Cabezas C, Jiang H, Fontana M, Eckert G. Effect of low pH on surface rehardening efficacy of high concentration fluoride treatments on non-cavitated lesions. *J Dent*. 2012;40(6):522-6.
264. Lenzi TL, Montagner AF, Soares FZ, de Oliveira Rocha R. Are topical fluorides effective for treating incipient carious lesions?: A systematic review and meta-analysis. *J Am Dent Assoc*. 2016;147(2):84-91 e1.
265. Ogaard B. CaF(2) formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res*. 2001;35 Suppl 1:40-4.
266. Jabbarifar SE, Salavati S, Akhavan A, Khosravi K, Tavakoli N, Nilchian F. Effect of fluoridated dentifrices on surface microhardness of the enamel of deciduous teeth. *Dent Res J (Isfahan)*. 2011;8(3):113-7.
267. Gorseta K, Ambarkova V, Skrinjaric T, Glavina D. Influence of Dentifrices pH on Enamel Microhardness In Vitro. *Coll Antropol*. 2015;39(2):427-31.
268. Wiegand A, Krieger C, Attin R, Hellwig E, Attin T. Fluoride uptake and resistance to further demineralisation of demineralised enamel after application of differently concentrated acidulated sodium fluoride gels. *Clin Oral Investig*. 2005;9(1):52-7.
269. Chu CH, Lo EC, Lin HC. Effectiveness of silver diamine fluoride and sodium fluoride varnish in arresting dentin caries in Chinese pre-school children. *J Dent Res*. 2002;81(11):767-70.
270. Llodra JC, Rodriguez A, Ferrer B, Menardia V, Ramos T, Morato M. Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial. *J Dent Res*. 2005;84(8):721-4.
271. Beltran-Aguilar ED. Silver diamine fluoride (SDF) may be better than fluoride varnish and no treatment in arresting and preventing cavitated carious lesions. *J Evid Based Dent Pract*. 2010;10(2):122-4.

272. Mei ML, Ito L, Cao Y, Lo EC, Li QL, Chu CH. An ex vivo study of arrested primary teeth caries with silver diamine fluoride therapy. *J Dent*. 2014;42(4):395-402.
273. Chu CH, Lee AH, Zheng L, Mei ML, Chan GC. Arresting rampant dental caries with silver diamine fluoride in a young teenager suffering from chronic oral graft versus host disease post-bone marrow transplantation: a case report. *BMC Res Notes*. 2014;7:3.
274. Mattos-Silveira J, Floriano I, Ferreira FR, Vigano ME, Frizzo MA, Reyes A, et al. New proposal of silver diamine fluoride use in arresting approximal caries: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2014;15:448.
275. Braga MM, Mendes FM, De Benedetto MS, Imperato JC. Effect of silver diammine fluoride on incipient caries lesions in erupting permanent first molars: a pilot study. *J Dent Child (Chic)*. 2009;76(1):28-33.
276. S S. Farkli İçeriklerdeki Remineralizasyon Ajanlarının Remineralizasyon Kapasitelerinin Ve Antimikrobiyal Etkinliklerinin Değerlendirilmesi. İzmir: İzmir Katip Çelebi Üniversitesi; 2015.
277. Liu BY, Lo EC, Li CM. Effect of silver and fluoride ions on enamel demineralization: a quantitative study using micro-computed tomography. *Aust Dent J*. 2012;57(1):65-70.
278. Chu CH, Mei L, Seneviratne CJ, Lo EC. Effects of silver diamine fluoride on dentine carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *Int J Paediatr Dent*. 2012;22(1):2-10.
279. Mei ML, Ito L, Cao Y, Li QL, Lo EC, Chu CH. Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. *J Dent*. 2013;41(9):809-17.
280. Yee R, Holmgren C, Mulder J, Lama D, Walker D, van Palenstein Helderman W. Efficacy of silver diamine fluoride for Arresting Caries Treatment. *J Dent Res*. 2009;88(7):644-7.
281. Knight GM, McIntyre JM, Craig GG, Mulyani, Zilm PS, Gully NJ. An in vitro model to measure the effect of a silver fluoride and potassium iodide treatment on the permeability of demineralized dentine to *Streptococcus mutans*. *Aust Dent J*. 2005;50(4):242-5.
282. Chu CH, Lo EC. Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: a review. *Oral Health Prev Dent*. 2008;6(4):315-21.
283. Hosoya Y, Watanabe E, Tadokoro K, Inoue T, Miyazaki M, Tay FR. Effects of ammonium hexafluorosilicate application on demineralized enamel and dentin of primary teeth. *J Oral Sci*. 2012;54(3):267-72.

284. Kawasaki A, Suge T, Ishikawa K, Ozaki K, Matsuo T, Ebisu S. Ammonium hexafluorosilicate increased acid resistance of bovine enamel and dentine. *J Mater Sci Mater Med*. 2005;16(5):461-6.
285. Kucukyilmaz E, Savas S, Akcay M, Bolukbasi B. Effect of silver diamine fluoride and ammonium hexafluorosilicate applications with and without Er:YAG laser irradiation on the microtensile bond strength in sound and caries-affected dentin. *Lasers Surg Med*. 2016;48(1):62-9.
286. Hernandez-Sierra JF, Ruiz F, Pena DC, Martinez-Gutierrez F, Martinez AE, Guillen Ade J, et al. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. *Nanomedicine*. 2008;4(3):237-40.
287. Espinosa-Cristobal LF, Martinez-Castanon A, Martinez-Maarti- nez RE, Loyola-Rodriguez JP. Antibacterial effect of silver nanoparticles against *Streptococcus mutans*. *Mater Lett*. 2009;63:2603–6.
288. Lu Z, Rong K, Li J, Yang H, Chen R. Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria. *J Mater Sci Mater Med*. 2013;24(6):1465-71.
289. Rahiotis C, Vougiouklakis G, Eliades G. Characterization of oral films formed in the presence of a CPP-ACP agent: an in situ study. *J Dent*. 2008;36(4):272-80.
290. Hattab FN, Wei SH. Chemical changes and surface morphology of acid-etching of human enamel treated with topical fluoride agents in vitro. *Caries Res*. 1987;21(6):482-93.
291. Moller H, Schroder U. Early natural subsurface caries. A SEM study of the enamel surface before and after remineralization. *Caries Res*. 1986;20(2):97-102.
292. Ingram GS, Fejerskov O. A scanning electron microscope study of artificial caries lesion formation. *Caries Res*. 1986;20(1):32-9.
293. Navarro M, Monte Alto LA, Cruz RA, Prazeres J. Calcium fluoride uptake by human enamel after use of fluoridated mouthrinses. *Braz Dent J*. 2001;12(3):178-82.
294. Zhou SL, Zhou J, Watanabe S, Watanabe K, Wen LY, Xuan K. In vitro study of the effects of fluoride-releasing dental materials on remineralization in an enamel erosion model. *J Dent*. 2012;40(3):255-63.
295. Karlinsey RL, Mackey AC, Dodge LE, Schwandt CS. Noncontact remineralization of incipient lesions treated with a 5% sodium fluoride varnish in vitro. *J Dent Child (Chic)*. 2014;81(1):7-13.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Sayı : 56989545/050.04-163
Konu : Çalışmanız hk.

05/05./2015.
AYDIN

Sayın, Prof.Dr. Işıl SÖNMEZ
ADÜ Diş Hek. Fak.
Pedodonti AD

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 30.04.2015 tarihinde yapılan olağan toplantısında çalışmanızla ilgili alınan 27 nolu karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize sunarım.

Prof.Dr. Nefati KHYLİDOĞLU
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı.

KARAR 27

Protokol No : 2015/539
Sorumlu Yürütücü : Prof.Dr. Işıl SÖNMEZ
ADÜ Diş Hek. Fak.
Pedodonti AD

Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Işıl SÖNMEZ'in "Nano gümüş florürün farklı flor ajanları ile karşılaştırmalı olarak remineralizasyon etkisinin değerlendirilmesi" başlıklı klinik araştırmasının 12.03.2015 tarihli kurul kararında eksiklikler saptanmıştı. 15.04.2015 tarihli gelen dilekçesi ve ekleri görüldü. İstenen bilgi ve belgelerin dosyaya konulduğu görülmüştür.

Sonuçta klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde (ADÜBAP başvurusu bütçe onayının (hizmet sözleşmesinin) dosyaya konulmak üzere gelmesi şartıyla) gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Yine sorumlu araştırmacıya; Form 2'nin 11.1.'in son bölümünde taahhüt edilen çalışma bittikten sonra nihai raporun, [Sonuç Raporu (web'te), BGOF (Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu-gönüllüler tarafından bizzat kendilerinin kendi adı-soyadını yazması ve imzalamasının sağlanması ile adreslerinin eksiksiz olarak formlara yazılmasına dikkat edilmelidir.) ve ORF (Olgu Rapor Formu/Anket)] lerin gönderilmesi gerektiğinin hatırlatılmasına ve sorumlu yürütücülerinin bu hususa özen göstermesi gerektiğinin bir kez daha vurgulanmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Adres: Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Merkez Kampüsü – Kepez Mevkii- AYDIN
Tel: 256- 225 31 66
Faks : 256-212 31 69
Web : <http://www.site.adu.edu.tr/etikkurulu/goek/>
e-posta: goetik@adu.edu.tr