



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TEOBROMİNİN BAŞLANGIÇ MİNE ÇÜRÜKLERİ
ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İN VİTRO OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Zübeyde UÇAR GÜNDOĞAR
DOKTORA TEZİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

DANIŞMANLAR

Yrd. Doç. Dr. Gül KESKİN

Doç. Dr. Çağdaş ÇINAR

Gaziantep

2017

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

TEOBROMİNİN BAŞLANGIÇ MİNE ÇÜRÜKLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN
İN VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Zübeyde UÇAR GÜNDOĞAR

Tez Savunma Tarihi: 28/12/2017
Sağlık Bilimleri Enstitü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir 'Doktora' derecesi için uygun ve yeterli olduğunu onaylıyorum.

Yrd. Doç. Dr. Gül KESKİN
Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir 'Doktora' tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Gül KESKİN
Tez Danışmanı

Doç. Dr. Çağdaş ÇINAR
Ortak Tez Danışmanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir 'Doktora' tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

İmzası

Yrd. Doç. Dr. Gül KESKİN

Doç. Dr. Çağdaş ÇINAR

Prof. Dr. Muharrem Cem DOĞAN

Doç. Dr. Resmiye Ebru TİRALİ

Doç. Dr. Uğur AYDIN

Yrd. Doç. Dr. Esra DÜZYOL

Yrd.Doç.Dr. Ceren DEVECİ

BEYAN

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

Aralık 2017

Dt. Zübeyde UÇAR GÜNDOĞAR

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tezimin hazırlanması sürecinde desteğini ve ilgisini esirgemeyen, tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Gül KESKİN'e,

Doktora eğitimime ve tezimin hazırlanmasına katkıda bulunan ortak tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Çağdaş ÇINAR'a,

Tezimin hazırlanmasında yardımcı olan çok kıymetli bölüm arkadaşım Zeynep ÖZKALENDER'e,

Tüm eğitimim süresince beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve bölümümüzün tüm çalışanlarına,

Her zaman yanımda olan ve tez sürecimde beni her yönden sabırla destekleyen eşim Dr. Hasan GÜNDOĞAR'a,

Varlıkları ile herşeyi anlamlandıran canım kızım ve canım oğluma,

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından *DHF.15.07* proje no ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

SİMGE ve KISALTMALAR.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
TABLO LİSTESİ	vii
RESİM LİSTESİ	viii
ÖZET	1
ABSTRACT	2
GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
GENEL BİLGİLER	5
1.1 Diş Çürüğü	5
1.1.1 Diş çürüğü ile ilişkili faktörler.....	7
1.1.2 Dinamik demineralizasyon-remineralizasyon süreci.....	17
1.1.3 Başlangıç Çürük Lezyonu (Mine Çürüğü).....	19
1.2 Başlangıç çürük lezyonlarının non-invaziv tedavisi ve kullanılan remineralizasyon ajanları.....	21
1.2.1 Fluorid	23
1.2.2 Teobromin	27
1.3 Yapay çürük modelleri	30
1.3.1 Biyolojik Model	30
1.3.2 Asit Tamponlarının Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon Modeli.....	31
1.3.3 pH Siklus Modelinin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon/ Remineralizasyon Modeli 31	
1.4 Demineralizasyon ve Remineralizasyonu Değerlendirme Yöntemleri.....	33
1.4.1 Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımlı X Işını Spektroskopisi (SEM-EDX) 33	
1.4.2 Mikrosertlik ölçümü.....	34
GEREÇ VE YÖNTEM	36
1.5 Etik Kurul Onayı	36
1.6 Örnek Sayısının Belirlenmesi:	36
1.7 Dişlerin Toplanması ve Saklanması	36

1.8 Deney Sürecinde Kullanılacak Mine Örneklerinin Hazırlanması.....	36
1.8.1 Mikrosertlik Çalışması İçin Gerekli Örneklerin Hazırlanması	36
1.8.2 SEM-EDX Ölçümü Yapılacak Örneklerin Hazırlanması	39
1.9 Başlangıç Mikrosertlik Ölçümleri (1. Ölçüm).....	39
1.10 Başlangıç SEM-EDX Ölçümleri (1. Ölçüm).....	41
1.11 Çalışma Gruplarının Oluşturulması	42
1.11.1 Mikrosertlik Analizi Yapılacak Örneklerin Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	42
1.11.2 SEM-EDX Analizi Yapılacak Örneklerin Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	42
1.12 Yapay Çürük Lezyonu Oluşturulması.....	43
1.13 Demineralizasyon Sonrası Mikrosertlik ve SEM-EDX Ölçümleri (2. Ölçüm) ...	44
1.14 Çalışmada Kullanılacak Solüsyonların Hazırlanması.....	44
1.14.1 Remineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması	44
1.14.2 Teobromin İçeren Solüsyonların Hazırlanması	44
1.14.3 Fluorid İçeren Solüsyonların Hazırlanması	44
1.15 Mine Örneklerine Ağız Ortamını Taklit Eden pH Döngüsünün Uygulanması .	45
1.16 Tedavi sonrası SEM-EDX ve Mikrosertlik Ölçümleri (3. Ölçüm)	47
1.17 İstatistiksel Değerlendirme	47
BULGULAR	48
1.18 Mikrosertlik Testi.....	48
1.19 SEM-EDX Analizi	50
1.19.1 Tedavi gruplarının ortalama atomik %Ca değerlerinin karşılaştırılması	50
1.19.2 Tedavi gruplarının ortalama atomik %P değerlerinin karşılaştırılması.....	52
1.19.3 Tedavi gruplarının ortalama atomik %Ca/P oranlarının karşılaştırılması	54
TARTIŞMA.....	56
SONUÇ ve ÖNERİLER	70
KAYNAKLAR.....	72
EKLER.....	84
EK-1.....	84
EK-2: ÖZGEÇMİŞ.....	85

SİMGE ve KISALTMALAR

AAPCC
DSÖ
EPH
EDX
FAP
FHAP
HAP
KHN
MHDP
SEM
VHN

Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliği
Dünya Sağlık Örgütü
Ekolojik plak hipotezi
Enerji Dağılımlı X- Işını Spektroskopisi
Fluoroapatit
Fluorohidroksiapatit
Hidroksiapatit
Knoop Yüzey Mikrosertliği
Metilhidroksidifosfat
Taramalı Elektron Mikroskobu
Vickers Yüzey Sertliği



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2-1: (A) Keye'nin çürük modeli (B) Multifaktöriyel çürük modeli.....	6
Şekil 2-2: “Belirleyiciler-Değişkenler” Çürük Modeli	7
Şekil 2-3: Mine prizmaları ve prizmalar arası bölge (26).....	8
Şekil 2-4: Mikrobiyal dental plak oluşum evreleri (26)	13
Şekil 2-5: Ekolojik Plak Hipotezi	14
Şekil 2-6: Çürük Balansı Modeli	17
Şekil 2-7: Dental biyofilmde F varlığında mine demineralizasyonu.....	24
Şekil 2-8: Dental biyofilmde F varlığında mine remineralizasyonu.....	25
Şekil 2-9: A. Teobromin B. Teofilin C. Kafein Kimyasal Yapıları.....	28
Şekil 2-10: Mineral akışına göre in vitro pH siklus modellerinin sınıflandırılması	32
Şekil 3-1: pH siklus akışı.....	46
Şekil 4-1: Mikrosertlik (KHN) değerleri grafiği.....	49
Şekil 4-2: Atomik %Ca değerleri grafiği.....	51
Şekil 4-3: Atomik %P değerleri grafiği	53
Şekil 4-4: Atomik %Ca/P grafiği.....	55

TABLO LİSTESİ

Tablo 2-1: Sertlik ölçüm Testleri.....	35
Tablo 4-1: Başlangıç, Demineralizasyon ve Tedavi Sonrası Mikrosertlik (KHN) değerleri	48
Tablo 4-2:Başlangıç, Demineralizasyon ve Tedavi Sonrası SEM-EDX Atomik Ca Değerleri Tablosu	50
Tablo 4-3: Başlangıç, Demineralizasyon ve Tedavi Sonrası SEM-EDX Atomik P Değerleri Tablosu	52
Tablo 4-4: Başlangıç, Demineralizasyon ve Tedavi Sonrası SEM-EDX Atomik Ca/P Değerleri Tablosu	54

RESİM LİSTESİ

Resim 3-1: A. Teflon kalıbın tabanına yerleştirilmiş mine örneği B. Teflon kalıp içerisine akrilik uygulaması C. Teflon kalıp içerisinden çıkarılmış mine örneği.....	37
Resim 3-2: A. Struers LaboPol-5 cilalama cihazı B. Örneklerin 3'lü gruplar halinde cihaza yerleştirilmesi	38
Resim 3-3: Zımparalama ve cilalama işlemi sonrası örnekler.....	38
Resim 3-4: Çalışma alanları oluşturulmuş mine örnekleri	38
Resim 3-5: SEM-EDX ölçümleri için hazırlanan mine örnekleri.....	39
Resim 3-6: A. Mikrosertlik Cihazı (Future-Tech FM 700e,Japonya) B. Mikrosertlik cihazına yerleştirilmiş mine örneği.....	40
Resim 3-7: A. Inverted mikroskop (Nikon ECLIPSE MA100/Japonya) B. Elde edilen verilerin bilgisayar üzerinde yapılan ölçümleri	40
Resim 3-8: SEM (JEOL JSM-639OLV Taramalı Elektron Mikroskobu) ile EDX cihazı (IXRF Systems Model 550i).....	41
Resim 3-9: Mine örneklerinin mineral analizi.....	42
Resim 3-10: Deney solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılan kimyasallar.....	43
Resim 3-11: Mikrosertlik örneklerine uygulanan pH siklusu düzeneği	46
Resim 3-12: SEM-EDX örneklerine uygulanan pH siklusu düzeneği	47

ÖZET

TEOBROMİNİN BAŞLANGIÇ MİNE ÇÜRÜKLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İN VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Zübeyde UÇAR GÜNDOĞAR
Doktora Tezi, Pedodonti Anabilim Dalı

Tez Danışmanları: Yrd. Doç. Dr. Gül KESKİN, Doç. Dr. Çağdaş ÇINAR

Aralık 2017, 84 sayfa

Fluorid uzun yıllardır remineralizasyon ajanı olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda floridin olası yan etkileri nedeniyle yeni remineralizasyon ajanı arayışına gidilmiştir. Kakao çekirdeğinden elde edilen teobromin güncel remineralizasyon ajanlarından bir tanesidir. Bu in vitro çalışmanın amacı başlangıç çürük lezyonlarının tedavisinde teobromin ve floridin farklı konsantrasyonlarının remineralizasyon etkinliğini değerlendirmektir. Bu amaçla sığır dişlerinden hazırlanmış 10 mine örneğinden oluşan 5 deney grubu [200 mg/l Teobromin grubu (*Grup T1*), 500 mg/l Teobromin grubu (*Grup T2*), 500 ppm Fluorid grubu (*Grup F1*), 1450 ppm Fluorid grubu (*Grup F2*), Kontrol grubu (*Grup K*)] oluşturulmuştur. Bütün örnekler yapay çürük lezyonu oluşturmak amacı ile 32 saat boyunca demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Yüzey sertlik değerleri (KHN) Knoop mikrosertlik cihazı, kalsiyum (Ca), fosfor (P) miktarları ve Ca/P oranları enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (SEM-EDX) kullanılarak analiz edilmiştir. Remineralizasyon ajanları deney gruplarına 8 gün boyunca bir pH döngüsü içerisinde uygulanmıştır. Örneklerin mikrosertlik ve mineral ölçümleri tedavi sonrasında tekrarlanmıştır. Araştırmamızın sonuçlarına göre K grubu hariç tüm gruplarda KHN, Ca ve P tedavi sonrası değerleri demineralizasyon sonrası değerleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir. Tedavi sonrası KHN ve Ca değerleri açısından F2 ve T2 grupları diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir. Çalışmamızın sonuçlarına göre 500 mg/l Teobromin'in, 1450 ppm Fluoride yakın düzeyde yüzey sertliğini ve Ca ile P birikimini arttırdığı söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Fluorid, Mikrosertlik, Remineralizasyon ajanları, SEM-EDX, Teobromin.

ABSTRACT

EVALUATION THE EFFECT OF THEOBROMINE ON INITIAL ENAMEL CARIES IN VITRO

Zübeyde UÇAR GÜNDOĞAR, DDS

PhD Thesis, Department of Pediatric Dentistry

Supervisors: Assist. Prof. Gül KESKİN, DDS, PhD, Assoc. Prof. Çağdaş ÇINAR, DDS, PhD

December 2017, 84 pages

Fluoride has been used as a remineralization agent for many years. In the recent years, due to possible side effects of fluoride, research related with a new remineralization agent has been made. Theobromine derived from cocoa bean is one of the current remineralization agents. The aim of this in vitro study was to assess the remineralization efficacy of different concentrations of theobromine and fluoride in the treatment of initial caries lesions. For this purpose, 5 experimental groups consisting of 10 bovine enamel samples prepared (200 mg/l Theobromine group (Group T1), 500 mg/l Theobromine group (Group T2), 500 ppm Fluoride group (Group F1), 1450 ppm Fluoride group (Group F2), and control group (Group K). All samples were incubated with demineralization solution for 32 hours to create artificial caries lesions. Surface hardness values calculated with (KHN) Knoop microhardness device and quantities of Calcium (Ca) and phosphorus (P) and, Ca / P ratios were analyzed with using energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDX). Remineralization agents were applied to the groups in an experimental pH cycle for 8 days. Microhardness and mineral deposition measurements of the samples were repeated after treatment. According to the results of our study, the values of KHN, Ca and P deposition after treatment in all groups except group K showed a statistically significant increase compared with post demineralization values. There was a statistically significant increase in F2 and T2 groups in terms of KHN and Ca values, after treatment compared to all other groups. Based on the results of our study, it can be said that 500 mg/l Theobromine increased the surface hardness and Ca and P deposition at the close level of 1450 ppm Fluoride.

Key words: Fluoride, Microhardness, Remineralization agents, SEM-EDX, Theobromine.

GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre diş çürüğü dünya nüfusunun büyük bölümünü etkileyen bir hastalıktır ve önemli halk sağlığı sorunlarından biri olarak kabul edilmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde rafine karbonhidratlara ulaşımın kolaylaşmasıyla çürükten etkilenen kişi sayısı dramatik bir şekilde artış göstermiştir (1,2). Çürük dağılımı ve sıklığı çeşitli ülkelere ve toplumlara göre farklılık göstermesine rağmen, hastalık genel olarak en sık çocukları etkilemektedir ve çocuklarda en yaygın görülen kronik hastalık olarak kabul edilmektedir. Diş çürükleri çocukların sadece ağız ve diş sağlığını etkilemekle kalmayıp aynı zamanda onların eğitim süreçlerini, sosyal ve duygusal gelişimlerini de olumsuz etkilemektedir (3).

Diş çürüğü kompleks bir hastalıktır ve hastalığın çok çeşitli etyolojik faktörleri vardır. Diyet ve dental plak içerisindeki bakteriler çürük oluşumunda çok önemli bir rol oynamaktadır (4). Diş çürüğü, cerrahi ya da restoratif bir müdahale yapılmazsa dişin kaybı ile sonuçlanacak ilerleyici bir hastalık olarak kabul edilirken artık restoratif tedavilerin tek başına hastalık sürecini durduramadığı ve restorasyonların ömürlerinin de sınırlı olduğu kabul edilmiştir (5,6). Bazı çürük lezyonları ilerleyici karakterde değildir ve restorasyona gerek duyulmadan tedavi edilebilir (7).

Güncel diş hekimliği pratiğinde “minimal invaziv” anahtar sözcüktür. Bu yaklaşımda doku kaybını ve hasta rahatsızlığını en aza indirmek amacıyla girişimsel tedavi seçeneklerinden mümkün olduğunca kaçınılmaktadır. Çoğunlukla çürüğün önlenmesi ve erken müdahalesi üzerine yoğunlaşan bu güncel yaklaşımın temel ilkesi, erken çürük lezyonlarının remineralizasyonu ve erken yüzey lezyonlarına geleneksel girişimsel yaklaşım yerine biyolojik veya terapötik uygulamaların tercih edilmesidir (8).

Bu biyolojik yaklaşımın en önemli unsurlarından biri, demineralizasyon/remineralizasyon döngüsünü kontrol etmek amacıyla remineralize edici ajanların uygulanmasıdır. Çürük yönetimi için en iyi strateji, remineralizasyon etkisi oluşturabilecek ajanlar ile süreci iyileştirme yöntemlerine odaklanmaktır. Fluorid, ksilitol, amorf kalsiyum fosfat, kazein deriveleri, trikalsiyum fosfat, kalsiyum sodyum fosfosilikat, nanohidroksiapatit, lazer ve ozon gibi birçok remineralizasyon tekniği güncel olarak kullanılmaktadır (9). Ayrıca

potansiyel terapötik özellikleri olabilecek doğal ürünlerden türetilmiş aktif doğal bileşenlere (çay, kahve, üzüm, propolis, shitake mantarları, kakao çekirdeği, geleneksel otlar vb.) de artan bir ilgi duyulmaktadır (10).

Kakao çekirdeğinden elde edilen teobrominin, mine kristallerinin boyutlarını arttırarak minenin asit ataklarına karşı daha dirençli olmasını sağladığı, güçlü antiglikoziltransferaz özelliğe sahip bileşenleri sayesinde bakteriler üzerinde etkili olduğu ve alternatif bir remineralizasyon materyali olabileceği bildirilmiştir (11–13). Ancak teobromin ile ilgili çalışmalar yetersizdir. Çalışmamızda güncel bir çürük önleyici olan teobrominin iki farklı konsantrasyonunun başlangıç çürük lezyonlarındaki remineralizasyon etkisinin in vitro koşullarda florid ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.



GENEL BİLGİLER

1.1 Diş Çürüğü

Günümüze kadar diş çürüğü ile ilgili çok sayıda teori ortaya atılmış ve özellikle “hastalığın nedeni” üzerinde durulmuştur. Bu bilimsel sürecin başlangıcında ortaya atılan en önemli teori “kurt teorisi” olmuştur. Miles ve Underwood diş çürüğü oluşumunun “organizmaların” varlığına ve çoğalmasına bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir (14). Miller takip eden yıllarda kemo-parazitik teoriyi (Şimiko-paraziter teori) bilim dünyasına sunmuştur. Miller, ağızdaki mikroorganizmaların ürettikleri asitlerin oluşturduğu dekalsifikasyon ile minerde ve dentinde çürüklerin meydana geldiğini iddia etmiştir. Asit, çürük oluşum sürecinde birincil faktör olarak kabul edilmiştir. Miller’in teorisi çürüğün nedenini açıklamada yetersiz kalsada, diş çürüğünün nasıl oluştuğu konusundaki bilgilerin omurgasını oluşturacak kadar kayda değer bir teori olmuştur (14,15).

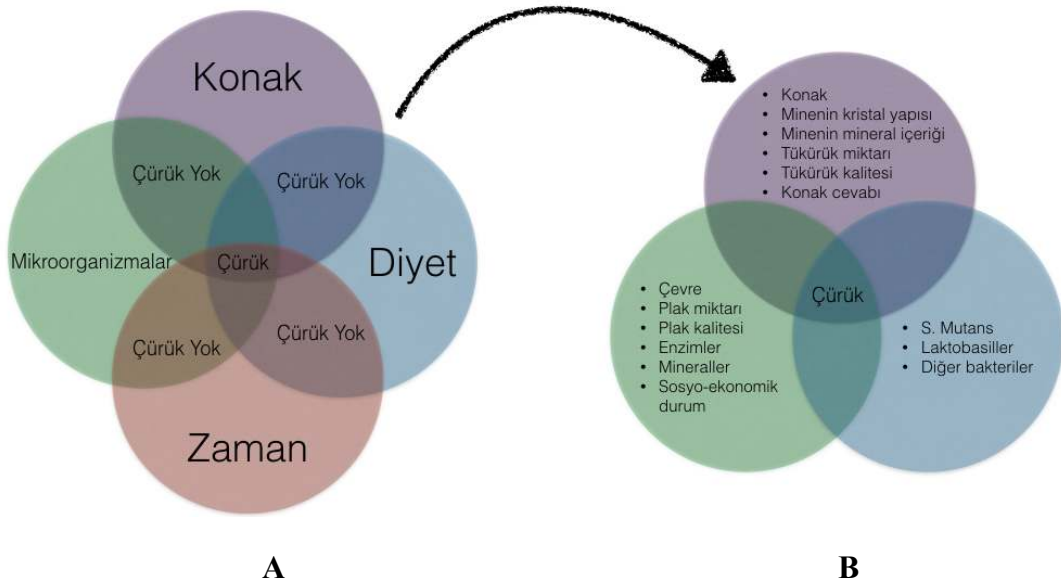
Daha sonraki yıllarda dental plakta mevcut olan *Streptokok*, *Laktobasil* ve *Aktinomiçes* gibi bazı spesifik mikroorganizmaların çürük insidansı ile güçlü bir ilişkisi olduğunu kanıtlanmıştır (15). Keyes ve Fitzgerald; hastalığın tanımını “üç temel faktör olan konak, mikroflora ve diyetin karşılıklı etkileşimleri sonucunda ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalık” şeklinde değiştirmiş ve diş çürüğünün bulaşıcı enfektif bir hastalık olduğunu iddia etmişlerdir (16,17). Bugün hala bu model geçerliliğini sürdürmektedir ancak bu modele ek olarak; biyolojik determinantların ve farklı faktörler arasındaki etkileşimlerin de süreç üzerinde önemli bir rolü olduğu kabul edilmiştir (15).

Bu zamana kadar geçerliliği kabul edilmiş tüm teoriler çürük gelişiminde kesin olarak şu üç ana faktöre dikkat çekmiştir;

- a. Diyet
- b. Dental plak/Mikrobiyal faktörler
- c. Konak.

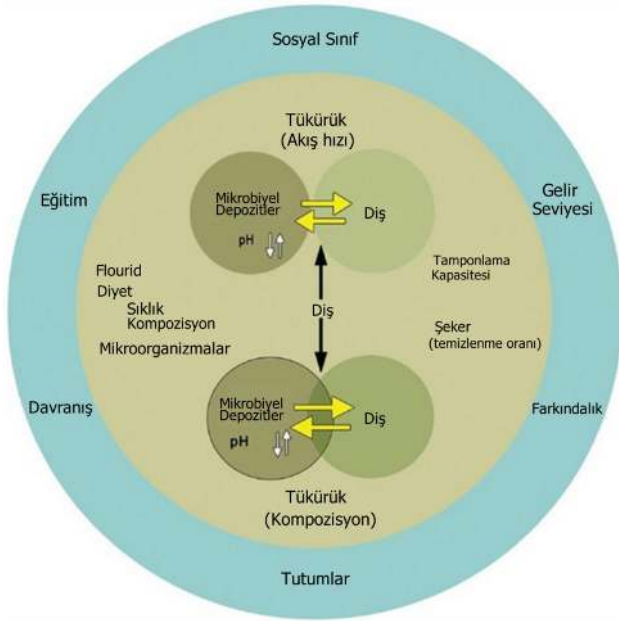
Dental plak ve diyet, diş dokusunda hasar meydana gelebilmesi için birbirlerine bağımlı iki faktördür. Konak ise bu etkileşimin platformudur ve diğer iki faktörün etkileşiminden zarar gören taraftır. Bu üç bileşenin kesişen bölümü çürüğü işaret etmektedir. Bilim dünyasında bu üç faktörün kesin kabulünden kısa bir süre sonra bileşenlere zaman/sıklık faktörü

eklenmiştir. Diğer bir deyişle bu faktör “diğer üç faktörün etkileşim süresini” ifade etmektedir. Diyetteki karbonhidratlarla dental plaktaki karyojenik mikroorganizmaların uzun süre etkileşim halinde kalması asitlerce oluşturulan yıkımın daha ciddi seviyede olmasına neden olmaktadır (Şekil 2-1A). İlerleyen dönemde bu çürük modeli, hastalığın karmaşık yapısını basitleştirerek ana bileşenler içerisindeki sayısız küçük faktörü de gösterecek şekilde modifiye edilmiştir (Şekil 2-1B). Bu faktörlerin her biri, ana faktörlerin etkileşimleri içerisinde kesin bir rol oynamaktadır. Ancak her iki model de hastalığı ifade edebilmede yetersiz kalmıştır (15).



Şekil 0-1: (A) Keye'nin çürük modeli (B) Multifaktöriyel çürük modeli

Teorik olarak hastalığın oluşabilmesi için tüm faktörlerin aynı anda ve aynı yoğunlukta bulunması gerekmektedir. Ancak pratikte bu tanım, karşılaşılan tüm durumları tanımlayamamaktadır. Bu yetersizliği açıklamak için çemberler yeniden düzenlenmiş ve faktörler ‘belirleyiciler’ ve ‘değişkenler’ olarak farklı bir şekilde gruplandırılmıştır. Major ve minör bileşenlerin çoğu “belirleyicidir” ve birbirleri ile etkileşim yolları mine çözünmesini belirlemektedir. Benzer belirleyicilere sahip iki bireyin risk seviyesindeki değişiklikler ve aynı risk seviyesindeki iki bireyin belirleyici karakterindeki varyasyonlar, çevresel olarak yerleştirilmiş “değişkenlerin” etkileri olarak açıklanmıştır (Şekil 2-2)(14,15).



Şekil 0-2: “Belirleyiciler-Değişkenler” Çürük Modeli

Bu bilgiler doğrultusunda genel bir tanım yapmak gerekirse “Diş çürüğü mikrobiyal, genetik, immunolojik, davranışsal ve çevresel faktörlerin, hastalığın oluşumuna ve gelişimine katkıda bulundukları ve birbirleriyle sürekli etkileşim halinde oldukları multifaktöriyel kompleks bir hastalıktır”. Hastalığın mekanizması ise diş sert dokuları ile dental plak arasındaki demineralizasyon-remineralizasyon dengesinin yıkım yönünde değişmesi ile mine yüzeyinden mineral kaybı olması şeklinde özetlenebilir (14,15,18–21).

Çürük süreci;

- Dental plak ve tükürükteki koruyucu ve yıkıcı faktörler arasındaki etkileşime,
- Tükürük ve özellikle plak içerisindeki karyojenik ve non-karyojenik mikrobiyal popülasyon arasındaki dengeye,
- Dental hidroksiapatitin (HAP) asidojenik değişiklikler karşısında daha güçlü ya da daha zayıf olmasına neden olan mine, dentin ve sementin fizikokimyasal yapısına bağlıdır (22).

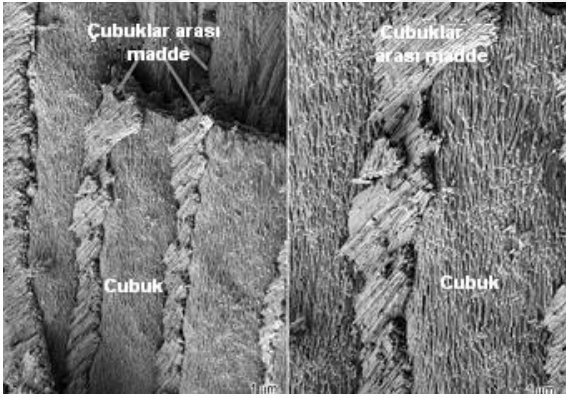
1.1.1 Diş çürüğü ile ilişkili faktörler

1.1.1.1 Mine (Konak)

Mine ameloblast adı verilen hücreler tarafından oluşturulan, inorganik, organik ve su bileşenleri olan ektoderm kökenli mineralize bir yapıdır. Yapısında HAP (%95-96), su (%2-

3), karbonat (%2), eser elementler (sodyum, magnezyum, potasyum, klorür, çinko, %1), florid (%0.01-0.05) ve protein-lipid (<% 1) vardır. Temel olarak inorganik bileşenlerden meydana geldiği için vücuttaki en sert doku tabakasıdır (23–25).

Mine, mine prizmaları adı verilen çubuk benzeri yapılardan meydana gelmektedir (Şekil 2-3). Her bir mine prizması, hekzagonal şekilde düzenlenmiş sayısız HAP kristalinden oluşmuştur. Mine prizmalarının esas yapısını oluşturan HAP kristallerinin ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$) ana bileşenleri kalsiyum (Ca^{+2}), fosfat (PO_4^{-3}) ve hidroksil (OH^-) iyonlarıdır. Bu kristal yapı kemik, dentin ve sementin de mineral yapısını oluşturur. Ancak bu yapılar, mineye göre çok daha yüksek oranlarda organik içeriğe (%35-50) sahiptir ve yapılarında çevresi mineraller ve organik matriks ile çevrili odontoblast, osteosit ve sementoblast adı verilen hücresel bileşenler bulunur. Bu hücreler sürekli olarak doku tamiri, yenilenmesi ve gelişmesini sağlar. Ancak minenin hücresel elemanları dişler ağız ortamına sürmeden önce yok olur. Minede hücresel onarım mekanizmalarının eksikliği nedeni ile çürüğün oluşması ve ilerlemesi, diş ve pelikül/plak arasında meydana gelen fizikokimyasal olaylara bağlıdır. Minenin temelini oluşturan HAP yapının devamlılığı, ortamın pH'sına ve ağız sıvıları içerisindeki Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F^- iyonlarının konsantrasyonlarına bağlıdır (23,24).



Şekil 0-3: Mine prizmaları ve prizmalar arası bölge (26)

HAP kristallerinin yapısını ve doku içerisindeki düzenini tam olarak anlamak önemlidir. Bazı faktörlere bağlı olarak yapısında ortaya çıkan fizikokimyasal değişiklikler, yapının stabilitesinde ve asit atakları karşısındaki direncinde farklılıklar oluşmasına neden olur. Temel olarak Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve OH^- iyonlarından meydana gelir ve yapısında ana bileşenlerle birlikte çok sayıda farklı mineral ve molekül grupları yer almaktadır. Yapıya dahil olan minerallerden bazıları yapıyı güçlendirirken, bazıları yapının zayıflamasına yol açmaktadır. Örneğin florid kristal yapıyı stabilize edip asit atakları karşısındaki direnci artırırken,

yapıya katılan karbonat, klorür, demir, çinko ve magnezyum gibi bazı mineraller kristal yapının bozulmasına, renklenmesine ve çürük yatkinlığına neden olabilmektedir (24,27).

HAP kristallerinin dışında kalan küçük boşluklar birleşerek mikropor ya da por olarak isimlendirilen, içleri su ve organik bileşiklerle (büyük protein kompleksleri, serbest amino asitler, lipidler ve özellikle enamelin adı verilen mine özel proteinleri) dolu yapılar oluşturur. Minenin bu poröz yapısı dokunun geçirgenliğini şekillendirip, sıvı hareketine ve difüzyonuna izin verirken, aynı zamanda dişin yoğunluğunda ve sertliğinde varyasyonlara neden olur. Ağız pH'sındaki ciddi düşüşlerde, bu porlar demineralizasyona daha yatkin alanlar oluşturur. Asit ataklar karşısında HAP kristallerinde bir miktar çözünme meydana gelir ve kristaller arası mesafeler artar. Boşluk hacminde artışa bağlı olarak minenin geçirgenliği de artar (24,25).

Yeni sürmüş dişlerin formasyonları tamamlandığı halde mineralizasyonları tamamlanmadığı için minenin geçirgenliği çok yüksektir ve çürük yatkinlığı en üst seviyededir. Dişin sürmesi ile birlikte yüzey hızlı bir şekilde bir zar ile kaplanır ve mine bulunduğu ortam ile mineral alışverişine başlar. Zayıf minerallerin daha güçlü minerallerle yer değiştirmesine ve organik kısmın azalmasına bağlı olarak; başlangıçta plaktan gelen sıvılar minenin 200 µm derinliğe kadar ilerleyebilirken, sürme sonrası maturasyon ile en fazla 20 µm derinliğe ilerleyebilir. Ayrıca minenin başlangıç kristal yapısını oluşturan karbon içerikli apatitler, asit atakları karşısında en zayıf yapı olarak bilinmektedir. Ağız ortamındaki mineral iyonları ve floridin mine yüzeyine geçişi ile karbonattan zengin HAP yapı, yerini çözünürlüğü daha az ve aside daha dirençli olan HAP veya FHAP yapıya bırakır (24,25,27,28).

1.1.1.2 Tükürük

Tükürük, parotis, submandibular ve sublingual olarak 3 çift major bez ve oral kaviteye dağılmış çok sayıdaki minör bez (bukkal, palatal, labial ve lingual) tarafından sentezlenen ve salgılanan genellikle alkali, berrak, visköz bir sıvıdır. Tükürüğün büyük bir kısmı (%94-99) sudur. Suyun dışında yapısında proteinler, inorganik maddeler, lipidler (yağ asitleri, kolesterol, kompleks lipidler), karbonhidratlar (serbest glikoz, glikolize protein ve lipidler) ve daha küçük organik moleküller (steroitler, uçucu bileşikler, üre, ürik asit, amonyak) vardır. Ayrıca bileşiminde değişen oranlarda diş eti oluşu sıvısı, gıda artıkları, bakteri artıkları, dejenere olmuş enflamatuvar hücreler ve ağız epitel hücrelerinin dökülmesinden kaynaklanan hücre artıkları da mevcuttur (22,29).

Tükürüğün 7 temel işlevi vardır (29);

1.Koruma: Tükürük oral kaviteyi sürekli yıkayarak yüzeyde kayganlaştırıcı bir etki oluşturur. Müsinler (MG1 ve MG2) yüksek protein ağırlığında glikoproteinlerdir ve tükürüğün viskoelastik özelliklerini sağlarlar. Müsin yapı yüzeyleri kaplayarak ağız içerisindeki dokuları sert, sıcak-soğuk maddelerin zararlı etkilerinden korur ve ağız boşluğundan bakterilerin temizlenmesine yardımcı olur. MG1 diş yüzeylerini örter ve asit ataklarına karşı bir bariyer oluşturur. MG2 bakterilere karşı ciddi bir afiniteye sahiptir ve çok sayıda bakteriyi kendisine bağlar. Müsinlerle aglutine hale gelen bakteriler tükürüğün etkisi ile ağız ortamından kolaylıkla uzaklaştırılabilirler (22,29).

2. Tamponlama: Yaşamsal işlevlerin doğru bir şekilde sürdürülebilmesi için vücut sıvılarındaki hidrojen iyonu (H^+) konsantrasyonunun dar sınırlar içinde tutulması gerekmektedir. Tükürüğün tamponlama kapasitesi, asidik değişiklikler karşısında pH'yı nötral hale getirilebilme kapasitesini ifade eder. Tamponlama görevi yapan maddeler ya ortamdan OH^- iyonu alarak ya da ortama H^+ iyonu vererek pH değişikliklerini önlerler. Bu özellik ağız sağlığına iki şekilde katkı sağlar;

a) Ortamın pH'sını optimal seviyede tutarak patojen mikroorganizmaların oral kavitede hakim türler olmasını engeller.

b) Plak içerisinde yer alan bakterilerin ürettikleri asidi nötralize ederek diş minesini demineralizasyon ve kavitasyondan korur (29,30).

Tükürükteki ilk tamponlayıcı bikarbonattır (CHO_3^-). Ek olarak arjininden zengin proteinler, fosfatlar ve karbonik anhidraz enzimi asidojenik saldırılar karşısında tamponlayıcı özellik gösterir. pH yükseltici protein olarak bilinen sialin ve diğer alkali proteinler asidik değişiklikler karşısında nötral pH'ya daha hızlı bir geri dönüş sağlar (22).

3. Antimikrobiyal etki: Tükürük laktoferrin, aglütinin, lizozim, tükürük peroksidazı, prolince-zengin protein, tlgA gibi antimikrobiyal etkiye sahip çok sayıda protein içermektedir. Ağız boşluğunun ekolojisinde çok ciddi bir etkiye sahip bu proteinler, koloni oluşturma girişiminde bulunan çok sayıda mikroorganizmayı engeller. Etkisi en iyi bilinen lizozimdir. Lizozim bakterilerin hücre duvarlarına etki ederek hücre duvarını yıkıcı etki gösterir. Laktoferrin demir bağlayan bir proteindir ve bakterilerin metabolik faaliyetleri için gerekli bir element olan demirden tükürüğü arındırır (22,29–31).

Tükürüğün başlıca antiviral aktivitesini immunoglobulinler sağlar. Tükürük IgA'sı oral sistemdeki bağışıklık sisteminin baskın faktörüdür. Bakteri, virüs ve bunların ürünlerinin nötralizasyonu bu immunoglobulinin antijen-antikor mekanizması ile sağlanır. Tükürükteki antifungal özellik gösteren moleküller ise sisteince-zengin proteinler ve histidine-zengin proteinlerdir (22,29).

4. Diş maturasyonunun tamamlanması: Dişler ağız içerisine sürdüklerinde mineral yapıları henüz tamamlanmamıştır. Tükürük kaynaklı Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F^- gibi iyonlar yüzey HAP kristallerine gerekli iyonların difüzyonunu sağlar ve minenin sürme sonrasında olgunlaşmasına yardımcı olurlar. Bu olay mine dış yüzeyinin sertliğinin artmasına ve geçirgenliğinin azalmasına katkı sağlar (29).

5. Sindirim: Tükürük sindirim sürecinde önemli bir role sahiptir. Besinlerin çevresi müninlerle kaplanır ve böylece sert kısımlar yumuşak dokulara zarar vermez, yutma kolaylaşır. Tükürük yapısındaki bazı enzimler, nişastanın sindiriminin ağızda başlamasını sağlar (29).

6. Tat alma ve konuşma: Tükürük besin maddelerini çözer, bileşikler tad tomurcuklarına taşınır ve tat alma sağlanır. Tat alma, zararlı ve zehirli maddelerin tanınması ve reddedilmesi sayesinde koruyucu işlev görür. Tükürük dil ve mukozaların yüzeylerini kaplayarak kaygan yüzeyler oluşturur. Bu şekilde konuşma daha rahat yapılabilir (29).

7. Doku onarımı: Tükürük ağız içerisinde meydana gelebilecek travmalarda içeriğindeki bazı bileşikler sayesinde daha hızlı bir iyileşme sağlamaktadır. Oral dokular diğer dokulardan daha hızlı iyileşme gösterir (29).

Diş sert dokularının demineralizasyon ve remineralizasyon dinamikleri, tükürük ve dental plağın bileşenlerinden bariz bir şekilde etkilenmektedir. Major tükürük bezleri tarafından salgılanan ve ağız içerisinde karışan tükürük, çürük sürecinde önemli rol oynayan tamponlama ajanları, antibakteriyel ajanlar ve mineralizasyonu etkileyen faktörler içerir (31). Çürüğün oluşumu ya da tamiri çoğu tükürüğün bileşenleri olan Ca^{+2} , PO_4^{-3} , florid, pelikilin koruyucu proteinleri, tükürüğün antibakteriyel komponentler ile karjyenik bakteriler, plak asidojenitesi, sık karbonhidrat alımı, tükürük bezi disfonksiyonu gibi patolojik faktörler arasındaki dengeye bağlıdır (22).

Tükürüğün çürük önleyici özelliği ve diğer tüm fonksiyonlarının etkinliği, tükürük akış

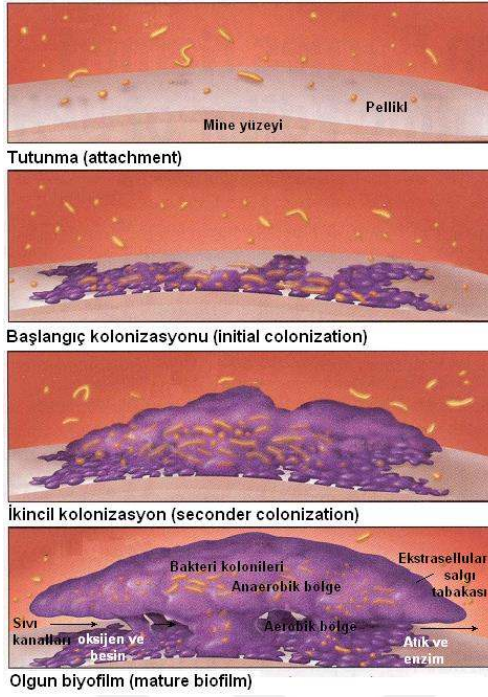
hızına bağlı olduğu için, akış hızı tükürüğün en önemli parametresi olarak kabul edilebilir. Tükürük akış hızı tükürük bezlerinin istirahat halinde olmasına ya da uyarılmasına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Tükürük bezleri uyarıldıklarında salgının kompozisyonu, sindirilmiş maddelerin artıklarının uzaklaştırılabilmesi için, müközden seröze doğru değişiklik gösterebilmektedir. Asidik gıdaların kimyasal uyarımı tükürük akışını önemli ölçüde arttırmaktadır. Uyarılara bağlı olarak farklı tükürük bezleri etkilenebilir. Bu etkilene sonucunda tükürük akış hızında ve bileşenlerinde varyasyonlar oluşur ve tükürüğün koruma seviyesi etkilenebilir (32).

1.1.1.3 Dental plak

Fizyolojik temizleme mekanizmaları ile temizlenemeyen çok sayıda yüzeye sahip olan dişler mikroorganizma türlerinin çoğu için ideal bir yaşam alanıdır. Dental plak, temizlenemeyen diş yüzeylerine sıkıca yapışan ve yapısında protein, polisakkarit ve çok sayıda mikroorganizmanın yer aldığı organik bir birikintidir. Biyofilm, bakterilerin çeşitli fizyolojik özelliklerini sergiledikleri “mikro-ekosistem” olarak fonksiyon görmektedir. Mikrobiyal biyofilm tabakasının çürük ve periodontal hastalıkların etiyolojilerinde önemli bir yeri vardır (33).

Mikrobiyal dental plak dört aşamada oluşmaktadır (Şekil 2-4) (33);

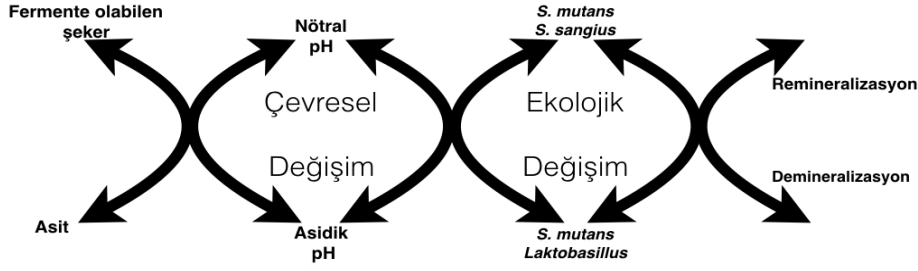
1. Tutunma (Pelikül oluşumu ve öncü bakterilerin pasif kolonizasyonu)
2. Başlangıç kolonizasyonu (Öncü bakterilere geç kolonizerlerin yapışması)
3. İkincil kolonizasyon (Bağlanan mikroorganizmaların çoğalması)
4. Olgun biyofilm (Toplanmanın ilerlemesi-Zirve topluluk oluşumu)



Şekil 0-4: Mikrobiyal dental plak oluşum evreleri (26)

Suda çözünmeyen, aselüler bir protein tabakası olan pelikl; dişlerin fırçalanmasından kısa bir süre sonra temizlenmiş diş yüzeylerine proteinlerin (tükürük kaynaklı staterin, prolinden zengin protein ve müsinöz proteinler) kuvvetli bir şekilde bağlanması sonucu oluşur. Dişe bağlanma yeteneğine sahip mikroorganizma türleri pelikl tabakasına yapışır ve diğer türlerin bağlanabilmeleri için uygun bir ortam oluştururlar. Pelikl diş minesini demineralizasyondan koruyup minenin sürme sonrası maturasyonuna yardımcı olurken aynı zamanda bakteriyel adezyon ve dental plak gelişimi için de substrat görevi görür (34).

Diş çürüklerinin etiyolojisi ile ilgili farklı plak hipotezleri ortaya atılmıştır. Spesifik olmayan plak hipotezinde (SOPH) tüm plak florasındaki mikroorganizmaların, Spesifik plak hipotezinde (SPH) birkaç özel türün hastalıkta aktif bir şekilde etkili olduğu kabul edilmiştir (35). SOPH kapsamında hedef tüm plağı uzaklaştırmakken, SPH kapsamında hedef antimikrobiyal tedavilerle sadece patojen mikroorganizmaları ortadan kaldırmak olmuştur. İki teorisinde çürük-dental plak ilişkisini tam olarak tanımlayamaması nedeni ile 1991 yılında yeni bir hipotez olarak ekolojik plak hipotezi (EPH) ortaya atılmıştır (Şekil 2-5)(36). Bu hipotez çevresel koşullardaki değişiklikler sonucunda yerleşik mikrofloranın dengesinin bozulduğunu ve bu sonucunda çürüklerin ortaya çıktığını savunmaktadır. EPH sadece belirli türleri hedef almaz; plakta bu değişikliklerin oluşmasına neden olan faktörleri de hedef alır (18,34,36).



Şekil 0-5: Ekolojik Plak Hipotezi

Diş çürüğünün patogenezinde ağız boşluğu içerisinde mevcut iki fizyolojik dengedeki bozulmadan bahsedilebilir (15);

1. Biyofilm içerisindeki mikrobiyal dengenin bozulması
2. Diş ve ağız sıvıları arasındaki mineral dengesinin bozulması

Birinci madde çürük sürecinin dental plakla ilgili olan kısmıdır. Biyofilmde farklı türdeki mikroorganizmalar arasında, mikroflora ve konak arasındaki gibi, dinamik bir denge vardır. Biyofilm içerisindeki patolojik mikroorganizmalar, fermente olabilen basit şekerleri karmaşık biyokimyasal yollar aracılığı ile metabolize eder ve minede çözünmeye yol açan asitleri meydana getirirler. Bu asit ortam, ağız sıvıları içerisindeki CHO_3^- ve PO_4^{3-} aracılığı ile 30-60 dakika içerisinde tamponlanır ve pH'daki bu dalgalanma her şeker alımında izlenir. Ağız ortamında dengeyi bozabilecek durumlar sıklıkla meydana gelsede, mevcut mikrobiyal kolonilerin yapılarında ve kompozisyonlarında ciddi bir değişikliğe her zaman neden olmaz. Asit ataklarının yoğunluğu ve sıklığı ağız sıvılarının tamponlama kapasitesini aşarsa mikrobiyal biyofilmin fizyolojik dengesinde değişiklik olur ve dengeler yıkım yönünde değişir. Oluşan yeni düzende dirençsiz mikroorganizmalar yok olurken dirençli türler daha da kuvvetli bir hale gelir. Ortamın sürekli asidik bir hal alması biyofilmde *S. mutans* ve *Laktobasil* gibi asidürik mikroorganizmaların yaşamalarını ve çoğalmalarını kolaylaştırır. Bu mikroorganizmalar aynı zamanda asidojenik oldukları için ortamdaki asit miktarında hızla bir artışa da neden olurlar. Böylece *S. mutans* ve *Laktobasillerin* sayıları başlangıç kolonizerleri arasında azken, karyojenik biyofilm içerisinde baskın tür haline gelirler. Ortaya çıkan bu değişiklik, plağın konağa karşı daha tehlikeli bir hal almasına neden olur (15).

Dental plağın asidojenik potansiyelini etkileyen 3 durum vardır:

1. Plak mikroflorasının kompozisyonu ve metabolik özellikleri: Çürük aktivitesi yüksek olan bireylerde plaktaki mevcut mikroorganizmalar ciddi asidojenik ve asidürik yapıdadır. Bu tür bakteriler ortamda sürekli ekstrasellüler ve intrasellüler polisakkaritlerin bulunmasına ve diyetle karbonhidratların bulunmadığı koşullarda dahi asit oluşumuna neden olur. Bu olay bireyler arasındaki çürük aktivitesindeki farklılığı da açıklar.
2. Tükürüğün temizleyici etkisi: Tükürük akışının normal olmadığı durumlarda beslenme sonrası plak pH'sı çok daha uzun süre düşük kalır. Tükürüğün yıkayıcı etkisi ve tamponlama özelliği sadece plağın kalın olmadığı durumlarda ve en dış tabakasında gözlenir.
3. Tüketilen besinlerin karyojenik, kimyasal ve fiziksel özellikleri: Fermente olabilen karbonhidratların sık tüketimi plak pH'sının düşüşünde önemli bir etkiye sahiptir. Hastalarda çürük riskinin azaltılabilmesi için, plak pH'sının hem sık hemde uzun süre düşüşlerine neden olan durumların kontrol altına alınması gerekmektedir (21).

Günümüzde artık hastalığın ağız boşluğunun normal florasına ait mikroorganizmalar tarafından oluşturulduğu ve biyofilm içerisindeki mikrobiyolojik dengelerin bozulması sonucunda geliştiği görüşü kabul görmektedir. Dental plağın yapısına dahil olan ve çürük ile ilişkili türlerin hepsi konağa ait mikroorganizmalardır. Dış yüzeylerine kolonize olan endojen mikroorganizmalar, kolonizasyon direnci yoluyla, eksojen mikroorganizmaların invazyonunu engeller. Bu bilgiler ışığında dış çürükleri “endojen enfeksiyonlar” olarak kabul edilmiştir. Ortaya çıkan herhangi bir etkenle kalıcı floranın elemanlarından bir grup diğer türlere göre üstünlük kazanırsa, biyofilmin hemostatik dengesi bozulur ve endojen enfeksiyonlar ortaya çıkar (37–39). Çürüğün mikrobiyal etiyolojisinin yorumlanmasında meydana gelen değişiklikler dış çürük sürecinin kendi içerisinde evrimleşmesine neden olmuştur. Bu sebeple dış çürüklerinin operasyonel olmayan girişimlerle kontrol altında tutulabileceği konusunda ciddi bir bilinçlenme söz konusudur (40).

1.1.1.4 Diyet

Diyet dış çürüklerinin etiyolojisinde çok önemli bir yer tutar. 1940 yılında asitlerin dış çürüğündeki önemi, çeşitli şekerlerle ilişkisi ve dişlerle temas sürelerinin önemi Stephan tarafından tanımlanmıştır. Ağızın sükröz solüsyonu ile çalkalanmasından sonra plak

pH'sında zaman içerisinde ortaya çıkan değişimler Stephan eğrisi ile gösterilmiştir (41). Basit şekerlerin (örneğin sükroz) nişastalar ile karşılaştırıldıklarında daha fazla asit üretme potansiyeline sahip oldukları ve ortam pH'sının nötral hale getirilebilmesi için daha uzun bir süreye ihtiyaç duyulduğu kesin olarak ifade edilmiştir (42). 1945-1952 yılları arasında Vipeholm'un ve 1942 yılında Hopewood'un ünlü girişimsel insan çalışmaları, diyet şekerlerinin miktar, kalite ve alım sıklığı ile çürük insidans ve prevalansı arasında kesin bir ilişki olduğunu kanıtlamıştır (43,44). Vipeholm'un çalışmasında, çalışmaya dahil edilen bireylerin diyetleri şeker içerikli diyetler ile değiştirildiğinde hastalarda daha fazla çürük olduğu görülmüştür (44). Hopewood'un çalışmasında ise Hopewood evi olarak adlandırılan eve bebeklik çağından itibaren alınan çocuklarda rafine şeker içermeyen gıdalarla beslendikleri sürece çürük oluşmadığı gözlenmiştir. Ancak çocuklar bu evden ayrıldıklarında ve rafine şeker içerikli diyetle beslendiklerinde hastalarda dikkat çekici düzeyde çürük gelişimi olduğu görülmüştür (43). Yüksek oranda rafine karbonhidrat içeren ve karbonhidrat alımının sık olduğu diyetlerde, hızlı bir şekilde opak mine lezyonlarının gelişmektedir (15).

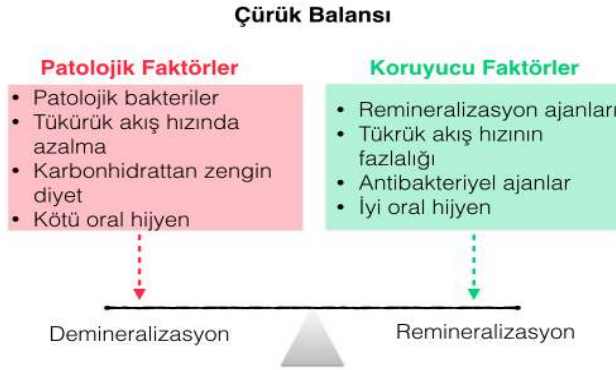
Beslenme şekillerindeki değişiklikler ve florid gibi koruyucu ajanların kullanımının yaygınlaşması diyet ve çürük süreci arasındaki ilişkiyi modifiye etsede, diyet hala çürük sürecinin ana faktörü olmaya devam etmektedir. Karbonhidratlar kompleks ve basit olarak ayrılabilir. Nişasta gibi kompleks karbonhidratlar ağız sıvılarında çözünemedikleri ve biyofilm içerisine çok az difüze oldukları için daha az karyojenik kabul edilmektedirler. Nişasta biyofilm bakterileri tarafından metabolize edilemeden tükürük amilazları tarafından parçalanır ve ağızdan temizlenir (45).

Sükroz diyet şekerinin ana kaynağını oluşturur ve glikoz, fruktoz ve laktozdan daha karyojeniktir. Sükrozun karyojenik etkisi iki özelliği ile açıklanabilir:

1. Sükroz dental plak içerisine kolayca girer ve plak bakterileri tarafından metabolize edilerek demineralizasyon için gerekli asit ortamının oluşmasına neden olur.
2. Sükroz çözünebilir ve çözünemeyen ekstrasellüler glukanların üretiminde yer alır. Ekstrasellüler polisakkaritlerin sentezi *S. mutans* ve diğer karyojenik mikroorganizmaların dental plak içerisinde akümüle olmasına yardımcı olur ve diyet karbonhidratlarının diş yüzeyine bitişik dental plağın daha derin tabakalarına penetre olmasını sağlar (46).

1.1.2 Dinamik demineralizasyon-remineralizasyon süreci

Diş sert dokularının fizikokimyasal demineralizasyon ve remineralizasyon süreci tükürük ve dental plağın bileşenlerinden önemli ölçüde etkilenir. Demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki denge, koruyucu faktörler ile patolojik faktörler arasındaki denge tarafından kontrol edilir ve bu dengeye “çürük balansı” denir (Şekil 2-6). Faktörlerden baskın olan taraf sürecin hangi taraf lehine ilerleyeceğini belirlemektedir (47).



Şekil 0-6: Çürük Balansı Modeli

1.1.2.1 Demineralizasyon

Plak sıvısı ve tükürük, fizyolojik koşullar altında, dişin ana yapısını oluşturan iyonlar açısından süper doygun bir halde bulunur. HAP yapının devamlılığı için bu denge gereklidir. Nötral pH'ya sahip sıvı bir ortam içerisinde HAP kristalleri minimal seviyede çözünür ve sıvı ortama Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve OH^- iyonları geçer. Plak ve tükürük yine aynı iyonları içerdiği için aşırı doygun hale gelir ve bu süreç minerallerin diş yüzeyine geri çökelmeleri ile sonuçlanır. Ağızdaki dengeleri bozan herhangi bir patolojik faktör ortaya çıkmadığı sürece, dinamik bir denge içerisinde mine ile ağız sıvıları arasında bu iyon değişimi sürekli devam etmektedir (48).

Minerin demineralizasyonunu etkileyen en önemli faktör ortamın özellikle de dental plağın pH'sıdır. Normal şartlar altında plak pH'sı 7-7.8'dir. HAP kristallerinin çözünmesi belirli bir pH değerinin altında gerçekleşir ve bu seviye “kritik pH” olarak adlandırılır. HAP kristalleri için kritik pH yaklaşık olarak 5.5-6'dır. Bakterilen karbonhidratları fermente etmesi ortama asit çıkışına neden olur ve ortam pH'sı hızlı bir şekilde düşer. Normal şartlarda vücut sıvılarında H^+ iyonu konsantrasyonunda meydana gelen küçük değişiklikler bile fizyolojik dengeleri ve enzimatik reaksiyonları bozarken,

dental plakta pH düşüşüyle H^+ konsantrasyonunda 100-1000 kat artış meydana gelir. Ortamdaki PO_4^{-3} ve OH^- iyonları diş-biyofilm arayüzündeki H^+ ile reaksiyona girerek, HPO_4^{-2} ve H_2O gibi kompleksler oluşturur. Ortamın pH'sı daha da düşerse H^+ , HPO_4^{-2} ile birleşerek daha asidik bir iyon olan $H_2PO_4^-$ 'ü oluşturur. Lokalize asidite ağız sıvıları tarafından tamponlanır ancak sıvılar özellikle PO_4^{-3} açısından doymun olmayan bir hale geçer. Demineralizasyon; ortam pH'sının düşüşü ile konsantrasyonu ciddi şekilde artan H^+ iyonlarının plaktan dişe ve minenin kristal yapısından çözünen Ca^{+2} , PO_4^{-3} iyonlarının komşu biyofilm tabakasına geçmesi ile gerçekleşir (47,49–52).

Diş sert dokularında yıkım meydana gelebilmesi için plak sıvılarında açığa çıkan asitlerin mine içerisine difüze olabilecek kadar yüksek konsantrasyona ulaşması gerekmektedir. Eğer plak birikimi ve sık şeker tüketimi gibi patolojik faktörlere dişler sürekli maruz kalırsa ağız sıvıları, minedeki mineral kaybını tamir edebilme yeteneklerini kaybeder. Mine ve dentinin kristal yapısında atomik seviyede başlayan demineralizasyon durdurulamaz ve kavitasyon oluşur (53).

1.1.2.2 Remineralizasyon

Biyofilm varlığında her sükröz atağında dişin hemen yakınında asidik bir ortam oluşur ve bu durum mineral kaybı veya kazancı ile sonuçlanan kimyasal reaksiyonlar dizisini başlatır. Demineralizasyon sürecinde plak ve tükürüğe geçen mineraller, bu sıvıların dişe göre daha doymun hale gelmesine neden olur. Dental plaktaki asitlerin, tükürükteki bazı mekanizmalarla tamponlanması sonucunda pH nötr bir hale gelir. Dental biyofilm içindeki H^+ iyonu ile demineralize olmuş mine dokusundaki kristalleri çevreleyen porlardaki H^+ iyonu konsantrasyonu eşitlenir. Ortam pH'sının normale dönmesi ile ağız sıvılarında artmış olan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları remineralizasyonu başlatır. Remineralizasyon, demineralizasyon sürecinde kaybedilen minerallerin yeniden diş yüzeyine çökmesi ile gerçekleşen doğal bir tamir mekanizmasıdır ve lezyonun tamiri/iyileşmesi şeklinde ifade edilebilmektedir (40).

Remineralizasyon sürecinde oluşan itiş gücü, ağız sıvılarında aşırı doymun halde bulunan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyon seviyelerinin daha az doymun halde olan yüzeyel mine porlarındaki sıvılarla aynı seviyelere gelmesini sağlar. Remineralizasyon, H^+ iyonlarının pasif geçişi ile değil, Ca^{+2} ve PO_4^{-3} pasif taşınması ile olur (49). Kaybedilen minerallerin yeniden diş yüzeyine çökmesi ile remineralizasyon gerçekleşir. Bununla birlikte kazanılan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} miktarı kaybedilenden daha düşüktür ve net sonuç küçük bir

mineral kaybıdır (53,54). Bu süreç minenin fiziksel ve biyolojik özelliklerinin değişmesine de neden olur. Bu mineral değişimiyle mine olgunlaşır ve mineralize alanları artar. Oluşan yeni kristal yapıda organik matriksin kaybı, minenin asidik sıvılara karşı geçirgenliğini azaltarak çürüğe karşı daha dirençli olmasını sağlar. Yeni oluşan kristaller, ortamda mevcut iyonlara bağlı olarak kristallerin başlangıç boyutundan daha büyüktür ya da aynı boyuttadır (54).

Remineralizasyonda hedef, minerallerin başlangıç çürük lezyonlarında mineral kaybının en fazla olduğu lezyon gövdesine ulaşmaları ve bu bölgelere çökelmeleridir. Ancak çok yüksek konsantrasyonlarda remineralize edici ajanlar uygulandığında, yüzeye mineral çökmesi hızla olmaktadır ve bunun sonucunda difüzyon kanalları tıkanmaktadır. Bu durumda lezyonda asıl mineral kaybının izlendiği lezyon gövdesi tabakasında iyileşme olmazken sadece yüzeyel kısımda birikme olmaktadır (54).

Başlangıç çürük lezyonlarının tedavisinde hedeflenen remineralizasyonun gerçekleşebilmesi için, hastalarda diyet düzenlenmesi ve oral hijyen kontrolleri yapılarak dental plak oluşumunun en aza indirilmesi gerekmektedir. Sonrasında remineralize edici ajanlarla mineral kaybının önlenmesi ve tamirin teşviki sağlanmalıdır (54).

1.1.3 Başlangıç Çürük Lezyonu (Mine Çürüğü)

Diş çürüklerinin en erken evresi olan başlangıç çürük lezyonları, mine ile sınırlı, bitişik sağlam mine dokusundan daha yumuşak ve poröz yapıda ve kavitasyonsuz demineralize alanlar şeklindedir. Minenin mineral içeriğinin azalmasına bağlı olarak yüzeyde beyaz opak nokta şeklinde alanlar görülür. Hava ile kurutulduğunda daha da beyaz bir görüntü izlenir. Bu klinik görüntü nedeniyle başlangıç çürük lezyonları “Beyaz Nokta Lezyonları (White Spot)” olarak da adlandırılabilir (55–57).

Sağlam mine dokusunda porların çok az olması dokunun saydam bir görüntüde olmasına neden olur. Çürük lezyonu, mine yüzeyi ve dental plak arasında gelişmektedir. Dişin demineralizasyon-remineralizasyon süreçlerine sürekli maruz kalması sonucunda minede mineral kaybı olur, mikropörözite artar ve dokunun kırılma indeksi değişir. Mine, hava ve suyun kırılma indekslerindeki farklılıktan kaynaklanan ve dokunun saydamlığını kaybetmesi şeklinde ortaya çıkan bu görüntü başlangıç opak mine lezyonlarının ilk belirtisidir. Minenin normal şartlarda kırılma indeksi 1.62’dir. Pörözitesi artmış demineralize mine dokusu ıslatıldığında porlar su ile dolar. Suyun kırılma indeksi 1.33’tür ve mine ile kırılma indekslerindeki bu farklılık dokunun

saydamlığını kaybetmesine ve opaklaşmasına neden olur. Havanın kırılma indeksi ise 1'dir. Mine kurutulduğunda hava ile su yer değiştirir. Hava-mine arası kırılma indeksi farkı su-mine arası kırılma indeksi farkından daha büyüktür. Bu sebeple opak mine lezyonları kurutulduğunda daha belirgin bir görüntü sergiler. Minenin başlangıç lezyonlarında oluşan bu yüzey altı pörözite hekimlere lezyonların erken teşhisinde kolaylık sağlar. Başlangıçta klinik olarak bir değişiklik gözlenmezken, ikinci haftadan itibaren hava ile kurutulduğunda görülebilen opak beyaz alanlar oluşur. Sadece mine dokusu ile sınırlı bu süreçte kavitasyon oluşmamıştır (58,59).

Koruyucu herhangi bir tedbir alınmazsa üçüncü ve dördüncü haftalardan itibaren lezyonun ilerlemesiyle ıslak mine yüzeyinde dahi net bir şekilde görülebilen beyaz nokta lezyonları oluşur. Bu aşamalardan sonra kavitasyon gözlenebilir ve bundan sonraki süreçte remineralizasyon tedavisinden söz edilemez (47,56,57).

1.1.3.1 Başlangıç Çürük Lezyonunun Histolojik Katmanları

Başlangıç evresindeki mine çürükleri polarizasyon mikroskobu ve ışık mikroskobu ile incelendiğinde sınırları belirgin 4 farklı histolojik tabakadan oluştuğu görülmektedir. Bu tabakalardan ikisi demineralizasyon, diğer ikisi de remineralizasyon alanlarıdır (57).

1. **Yüzeyel tabaka:** Lezyon gövdesini gizleyen, ağız ortamı ile doğrudan ilişkili olan mineralden zengin bu tabakanın, gerek tükürüğün remineralizasyon etkisi gerekse lezyon bölgesinden çözünen minerallerin burada birikmesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Demineralizasyon ve remineralizasyondan sorumlu iyonların geçişine izin vererek difüzyon bariyeri görevi yapar. Çürük ataklardan çok az etkilenmiş olan yüzeyel tabaka oldukça sert bir yapıda olup, hipermineralize alanlara rastlanabilmektedir. Bu tabakada porlar sağlıklı minedeki porlardan daha geniştir ve yapı sağlıklı mineden daha porözdür. Bu tabakadaki mineral kaybı %5-10 civarındadır (27,56).

2. **Lezyon gövdesi:** Başlangıç çürük lezyonunda yüzeyel tabakanın altında en fazla mineral kaybının gözlemlendiği en geniş demineralizasyon alanıdır. Bu tabakada yaklaşık %24 mineral kaybı vardır. Lezyon gövdesinde su ve organik yapı tükürük ve bakteri girişine bağlı olarak artmıştır. En fazla por hacmine sahip olan bölgedir. Porların genişliği bakteri penetrasyonu için yeterli genişlikte olursa bu alanlarda bakteriler bulunabilir. Transmisyon elektron mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu kullanılarak yapılan incelemelerde bu tabakada bakterilere rastlanmıştır. Ayrıca ilerlemiş lezyonlarda bu tabaka radyografide izlenebilmektedir. Oldukça geniş bir alanda demineralizasyon gerçekleşmesine rağmen

kalan kristallerin protein matriksi üzerindeki pozisyonu koruduğu belirtilmiştir (27,56).

3. **Karanlık tabaka:** Yüzeyel tabakaya oranla daha çok lezyon gövdesine oranla ise daha az poröz bir yapıdadır. Toplam por hacmi %2-4 arasındadır. Demineralizasyon-remineralizasyon süreçlerine bağlı olarak yaklaşık %6 oranında mineral kaybı gösterir. Bu tabakanın içerisinde çok sayıda mikropor bulunmaktadır ve bu mikroporlar kinolin boyasını tutarak polarize ışık mikroskopunda karanlık bir bölge şeklinde görüntü oluştururlar. Saydam tabakaya göre daha fazla demineralizasyon görülürken, lezyon gövdesine göre demineralizasyon miktarı daha azdır. Karanlık alanın boyutu meydana gelmiş remineralizasyonun miktarı hakkında da fikir verebilmektedir (27,56).

4. **Saydam tabaka:** Çürük dokuyu sağlıklı mine tabakasından ayıran kısımdır. Sağlam mine yapısında bulunan enine prizma çizgileri ve retzius çizgileri ya çok azalmıştır ya da tamamen kaybolmuştur. Mikroskop incelemelerinde net görüntü sergilemediği için bu isim verilmiştir. Sağlam mineden on kat daha fazla poröz bir yapıya sahiptir. Bu bölgedeki mineral kaybı yaklaşık %1-2 oranındadır. En derin tabaka olduğu ve mine lezyonunun ilerlemişliğini tanımladığı belirtilmiştir (27,56).

1.2 Başlangıç çürük lezyonlarının non-invaziv tedavisi ve kullanılan remineralizasyon ajanları

Çürüğün dişlerde geri dönüşü olmayan delikler olarak kabul edildiği dönemlerde tedavi seçeneği yalnızca bu boşluğun iyi bir restorasyon yapılarak doldurulması şeklinde olmuştur. Malzeme bilimi ve yüksek hızla kesim yapan cihazlardaki teknik gelişmeler restoratif tedavi kalitesinin yükseltilmesine olanak sağlamıştır ancak bu mekanik çözümler hastalığın aslının anlaşılmasını geciktirmiştir (60). G.V. Black 1908 yılında çıkardığı operatif diş hekimliği kitabında diş hekimlerinin çürükler karşısında sadece mekanik tedavi yönünde eğilim göstermelerinin uygun olmadığını ifade etmiştir. Daha sonra Massler, diş hekimlerinin mesleğin operatif ve restoratif fazları üzerine çok fazla odaklandıklarını ve dişlerde sadece kavite açıp doldurmanın hastalık sürecinin ihmal edilmesine neden olduğunu ifade etmiştir. Diş çürüklerinin engellenmesi kavramı ilk kez McKay'in 'Colorado brown stain' adı verilen dişler üzerindeki kahverengi lekelenmeleri (florozis) farketmesi ile gündeme taşınmış ve floridlerin çürük önleyici etkileri üzerinde çokça çalışılmıştır. Suların floridlenmesi ile koruyucu uygulamalar başlamış ve başlangıçta hasta odaklı topikal uygulamalara göre sistemik toplumsal uygulamalara daha fazla önem verilmiştir. Bireysel tedavi planlamalarına koruyucu

uygulamalar dahil edilse bile bunlar her zaman restoratif tedaviye ek olarak uygulanmış ve hiçbir zaman birincil tedavi seçeneği olarak görülmemiştir (60).

Güncel yaklaşıma göre çürük; dişlerin mineral fazında sürekli ve tek yönlü bir demineralizasyon süreci değil, pH düşüşü ile hızlı bir şekilde gerçekleşen demineralizasyonu ve koruyucu faktörlerin etkisi ile hemen arkasından gelen remineralizasyonu içeren dinamik bir süreçtir ve bir siklus halindedir. Zamanla birçok çalışma yapılmış ve diş çürüğü sürecinde remineralizasyon daha fazla önem kazanmıştır. Bu kavramın anlaşılması çürük sürecinin ilerleyişinin durdurulmasında ya da direk hastalıktan korunmada büyük bir öneme sahiptir (60)

Günümüzde koruyucu stratejiler ve başlangıç çürük lezyonlarının minimal ya da non-invaziv tedavisi üzerinde yoğun bir odak vardır. Araştırmacılar başlangıç mine lezyonlarına remineralizasyon ajanlarının uygulanmasıyla çözülmüş mine kısımlarının tamir edilebileceğini ve dişteki kaybın yerine konulabileceğini ileri sürmektedir (61–63). Kavitasyon oluşmamış çürük lezyonlarında mine prizmalarının orjinal kristal yapısının büyük bir kısmı bozulmaz ve başlangıç demineralizasyonuna maruz kalmış kristaller remineralizasyon için çekirdek merkezi gibi fonksiyon görürler. Başlangıç mine lezyonlarının erken evrelerinde mikrobiyal birikintiler uzaklaştırılırsa lezyon inaktif hala gelir ve böylece çürük süreci durdurulabilir. Ağız sıvılarında bulunan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları mine yüzeyine geçerler ve demineralize olmuş kristaller üzerinde birikirler. Bu mekanizma ile çürüğün erken döneminde lezyon remineralize olabilir (21). Çürüklerden korunma kavramı adı altında tüm tedavi seçenekleri çürük etiyolojisinde yer alan diyet, konak, tükürük ve mikrobiyal faktörler gibi nedensel faktörlerin modifiye edilmelerini ya da ortadan kaldırılmalarını hedeflemektedir. Bu faktörlerin diş çürüklerinin kontrolündeki rolleri çok önemlidir (64).

Bir çürük lezyonunda tedaviye karar verilmeden önce aşağıdaki sorular cevaplanmalıdır (60,64);

- Bu lezyona müdahaleye gerek var mı?
- Evet ise; bu non invaziv bir yaklaşım mı olmalıdır yoksa girişimsel bir uygulama mı gerektirir?
- Koruyucu bir tedavi uygulanacaksa rejim ne olmalıdır?
- Eğer restoratif tedavi gerekiyorsa, bu nasıl en az kayıpla yapılabilir?
- Hasta düşük/orta/yüksek risk grubunun hangisinde yer almaktadır?

- Baskın nedensel faktör/faktörler nelerdir?

Günümüze kadar remineralizasyon oluşturabilmek amacı ile florid, ksilitol, amorf kalsiyum fosfat, kazein deriveleri, trikalsiyum fosfat, kalsiyum sodyum fosfosilikat, nanohidroksiapatit, lazer, ozon ve teobromin gibi birçok yöntem önerilmiştir. Güncel olarak geliştirilmiş remineralizasyon ajanlarının başlangıç çürük lezyonlarındaki iyileştirici etkilerinin karşılaştırmalı olarak kapsamlı incelendiği çalışmalar ciddi bir öneme sahiptir. Tez konumuzla ilgisi nedeni ile teobromin ve floridin remineralizasyon oluşturuıcı etkileri üzerinde durulacaktır.

1.2.1 Florid

Fluor elementi 1886 yılında Henri Moissan tarafından keşfedilmiştir. Floridin dişler üzerindeki faydası 1900'li yılların başında diş hekimi Dr. McKay'in Koloradolu yerlilerin dişleri üzerindeki belirgin kahverengi renklenmeleri (Colorado Brown Stain) farketmesiyle tesadüfi bir şekilde ortaya çıkmıştır. Uzun araştırmalar sonucunda bu renklenmelerin gelişimsel bozukluklar olduğu (fluorozis) ve lekelerin izlendiği bireylerde şaşırtıcı bir şekilde dişlerin çürüğe karşı daha dirençli oldukları görülmüştür. Dr. McKay daha sonra mevcut renklenmelerin su kaynaklı olduğunu ve renklenmeye neden olan suların florid içeriklerinin normale göre çok daha fazla olduğunu keşfetmiştir (60,64,65).

1940'lı yılların başında dişleri güçlendirmek amacı ile Grand Rapids'te suların floridlenmesi projesi yapılmıştır. 15 yıllık proje sürecinde neredeyse 30000 okul çocuğundaki çürük oranları araştırmacılar tarafından kaydedilmiştir. Yapılan takip sonucunda doğumdan itibaren floridlenmiş su tüketen çocuklarda çürüklerde %60 oranında azalma izlenmiştir. Bu pilot çalışmanın başarısına dayanarak devletler diş çürüklerini azaltmak ve ağız sağlığını iyileştirmek amacıyla kamu sularının floridlenmesi yönünde uygulamalar yapmaya karar vermişlerdir. Florid bu şekilde diş hekimliği alanına koruyucu bir uygulama olarak girmiştir (66,67).

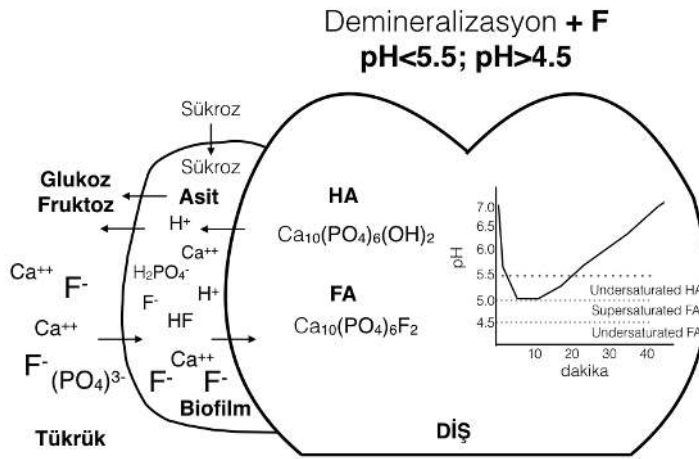
Başlangıçta floridin dişlerin yapısına sürme öncesi dönemde girerek yapıyı güçlendirdiği ve diş çürüklerini azaltmadaki asıl etkisini bu şekilde gösterdiği düşünüldüğü için uygulamalar sistemik yapılmıştır. Ancak sulara florid ilavesinin yapılmadığı bazı Avrupa ülkelerinde sadece floridli diş macunları kullanılarak aynı sonuçlar elde edilebilmiş ve floridin topikal etkisi üzerinde durulmaya başlanmıştır. Günümüzde floridin çürük önleyici etkisinin, dişlerin gelişimi ve mineralizasyonu

esnasında sistemik olarak uygulanan floridenden ziyade sürme sonrası dönemde topikal olarak uygulanan floridle ilişkili olduğu kabul edilmiştir (68–70).

Minerin kristal yapısı içerisindeki flor iyonu çok stabil bir yapıdadır ve pH düşüşlerinde yapıdan ayrılmadığı için faydalı olamamaktadır. Ağız sıvılarında ve biyofilmde serbest halde bulunan florid, yapı içerisindeki floridenden daha ciddi bir öneme sahiptir. Asit atakları esnasında remineralizasyon sürecini asıl etkileyen faktör ortamdaki Ca^{+2} ile birlikte serbest halde bulunan flor iyonlarıdır. Ağız sıvılarında belirli miktarlarda bulunun floridin demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki dengeyi tamir lehine çevirdiği ve başlangıç evresindeki çürük lezyonlarının iyileştirilmesinde klinik etkinliğe sahip olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar floridin ağız sıvılarında düşük konsantrasyonda fakat sürekli bulunmasının, çürük önleyici etkisini en iyi şekilde ortaya çıkardığını gösterir (71).

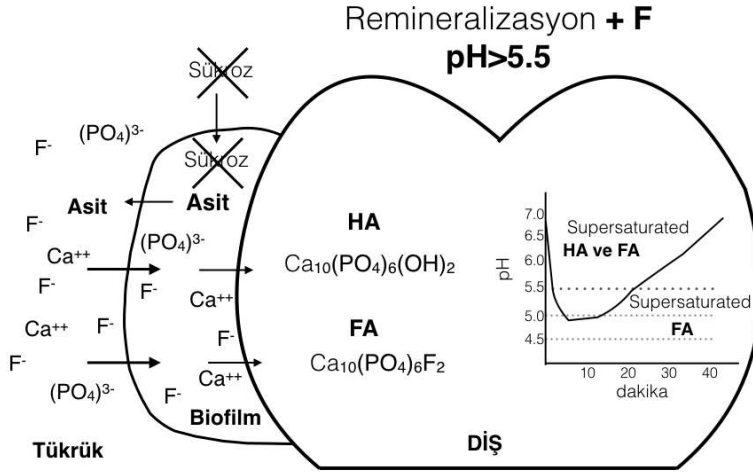
Topikal floridlerin dişler üzerindeki çürük önleyici etkisi iki farklı mekanizma ile açıklanmaktadır (51);

1. Demineralizasyonun engellenmesi (Şekil 2-7)(72);



Şekil 0-7: Dental biyofilmde F varlığında mine demineralizasyonu

2. Başlangıç mine lezyonlarının remineralizasyonunun hızlandırılması (Şekil 2-8) (72);



Şekil 0-8: Dental biyofilmde F varlığında mine remineralizasyonu

Topikal floridler demineralizasyonu engelleme ve remineralizasyonu hızlandırma etkilerini aşağıdaki mekanizmalar ile gösterirler (54);

- Hidrojen florid formunda bakterilerin içerisine girerek onların metabolik yollarını inhibe eder, böylece antimikrobiyal bir etki gösterirler.
- Bakterilerin HAP yapıya tutunmalarını engeller ve bu sayede bakteriyel adezyonda azalma sağlarlar.
- İndirekt olarak plak pH'sını yükseltirler ve *S. mutans*ların ve *Laktobasiller*in aktivitesini sınırlandırır.
- Yeni sürmüş dişlerde ve kök yüzeylerinde sürme sonrası maturasyona dahil olarak çürük yatıklılığını azaltırlar.
- Mine ve kök yüzeylerinde HAP kristallerinin demineralizasyonunu inhibe ederler.
- Mineral faz oluşumu ve dönüşümü reaksiyonunda bir katalizör gibi davranarak remineralizasyon sürecini hızlandırır.
- Fluor iyonları HAP yapı içerisindeki OH⁻ iyonları ile yer değiştirerek FHAP yapıyı oluşturur ve böylece mineral çözünmesi için gerekli kritik pH'nın daha düşük olmasını sağlarlar.

Her şeker tüketimi sonrasında asit üretimine bağlı olarak dental plak pH'sı 5.5'in altına düştüğünde, HAP yapıda çözünme meydana gelir ve mineraller mineden biyofilm sıvısı içerisine hareket eder. Bu evrede biyofilm sıvısı içerisinde F iyonu mevcutsa ve pH 4.5'den düşük değilse, HAP kristalleri çözünürken aynı anda fluoroapatit (FAP) ve fluorohidroksiapatit (FHAP) kristalleri oluşur. HAP yapıdan ayrılan Ca⁺² ve PO₄⁻³

iyonlarının bir kısmının yine minenin yapısı içerisindeki FHAP'nin yapısına katılması ile sonuç mine çözünmesi beklenenden az olur. Yeni oluşan FHAP kristallerinin çapı HAP kristallerinin çapından daha büyüktür. Kristal çapındaki artış yapının çözünürlüğünü azaltır. Buda dişleri çürüklerden korumaktadır. Oluşan yeni yapının Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonlarına doygunluğu daha fazladır. Ayrıca HAP derin bölgelerden çözünürken, FAP ve FHAP minenin yüzeyel tabakasına depolanmaktadır. Bu şekilde demineralizasyonda azalma görülür (53).

Sistemik florid uygulamaları; içme suları ve okul sularının floridlenmesi, tuza ve süte florid ilavesi, tablet, pastil, damla, mineral-florid kombinasyonları şeklindedir. Sistemik florid uygulamaları ile alınan florid dolaşıma katılarak diş, kemik gibi kalsifiye dokularda CaF_2 tuzları şeklinde depolanmaktadır. Topikal florid uygulamaları ise hekim tarafından uygulanan profesyonel uygulamalar (jeller, solüsyonlar, patlar, vernikler, restoratif materyaller ve yavaş florid salınımı yapan apareyler) ve hastalar tarafından kullanılan florid içerikli ürünler (diş macunları, gargaralar, diş ipleri ve florid içerikli sakızlar) olarak ikiye ayrılabilir.

Topikal floridler; uygulanma şeklinde, dozaj kontrolünde ve en önemlisi çürük aktivitesine ve riskine göre bireyselleştirilmiş florid rejimlerinin belirlenmesi konusunda çok yönlülük sağlamaktadır. Düşük dozda florid içeren preparatlar (diş macunları, ağız suları, vernikler vb.), dental fluorozisten korunabilmek amacı ile ağız içerisinde sürekli uygun dozda florid sağladıkları için, florid uygulamalarının en etkili şekli olarak kabul edilmektedir. Tüm topikal uygulamalar arasında floridli diş macunları ile birlikte suların floridlenmesi tercih edilen uygulama biçimleri olarak kabul edilmektedir. Yüksek dozda florid içeren ajanlar genellikle yüksek çürük risk grubundaki bireylerde ve rampant çürüklü hastalarda hastalığın kontrolü açısından faydalıdır. Bu hastalarda restorasyon gerekliliğinde, florid salan restoratif materyaller tercih edilebilir (54).

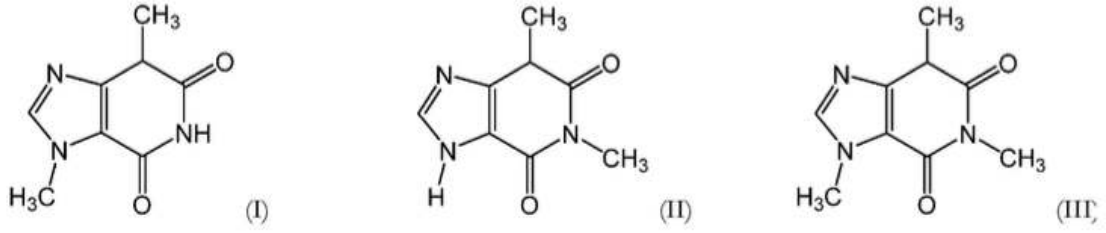
Florid içerikli diş macunları çürüklerden korunmada yıllardır ciddi bir kabul görmektedir ve ilk florid içerikli macun 1955 yılında üretilmiştir. 20.yy'nin başlarında Koloradolu hekim Dr. McKay'in, dişlerde florid sebebiyle oluşan renklenmeleri ve bu dişlerde daha az çürük görüldüğünü görmesi ile florid şu ana kadar en yaygın kullanılan çürük önleyici ajan olmuştur. Bununla birlikte floridin yan etkileri ile ilgili

geçmişte ve günümüzde birçok durum rapor edilmiştir. Bu nedenle floride alternatif olabilecek çürük önleyici ajanlar bulunması yönünde çalışmalar önem kazanmıştır.

1.2.2 Teobromin

3,7-dimetilksantin olarak bilinen, beyaz ya da renksiz kristal bir toz halindeki teobromin metilksantin ailesine ait bir alkaloiddir. Kakao çekirdeğinin temel alkaloididir ve acı tadının sorumlusudur. 1720 yılında Carl Linnaeus tarafından tanrıların yiyeceği olarak adlandırılmıştır (theo=tanrı, brom=yiyecek). Teobromin biyokimyasal olarak pürin sınıfındadır. Bir pirimidin ve bir imidazol halkası içeren heterosiklik aromatik bir organik bileşiktir. Teobrominin rijid yapıda bir pürin olması ve DNA'sındaki dört baz çiftinden ikisinin insan DNA'sına olan benzerliği daha yakından incelenmesine neden olmuştur (73). Teobrominin kakao çekirdeği yapısındaki oranı %1.5-3'tür. Ticari kakaodaki teobrominin ortalama yüzdesi ise %1.89'dur. Bitter çikolata teobromin içeriği en yüksek olan çikolata türüdür ve sütlü çikolataya göre 12 kat daha fazla teobromin içerir (11,73-76).

Kafein ve teofilin, teobromin gibi azot içeren metilksantin türevleridir ve alkaloidler olarak adlandırılırlar (Şekil 2-9). Bu üç bileşik kimyasal olarak çok benzer yapıdadır. Teobromin yalnızca bir metil grubundaki farklılık ile kafeinden farklılaşır. Ancak bu küçük farklar moleküllerin özellikle dış sağlığı üzerindeki fayda derecesini değiştirmektedir. Çok benzer yapıda olmalarına rağmen teobrominin metabolizma üzerindeki etkileri kafeinden farklıdır. Kafeinin bireyler üzerindeki etkisi uyanıklığın artmasıdır ve etkisi çok hızlı bir şekilde ortaya çıkar. Teobrominin etkisi kafeinden daha hafiftir ancak daha uzun süreli bir ruh hali yükselişi oluşmasına neden olur. Kan dolaşımında teobrominin plazma yarılanma ömrü tüketimden sonraki 6 saatte %50 iken kafein ilk 2 saatte %50'dir. Teobromin fizyolojik olarak bağımlılık yapmaz ve yoksunluk belirtileri oluşturmaz. Ancak kafein fizyolojik olarak bağımlılık yapmaktadır (73).



Şekil 0-9: A. Teobromin B. Teofilin C. Kafein Kimyasal Yapıları

Diş sağlığı ve çikolata ile ilgili ilk çalışma Gustafsson tarafından 1950’li yıllarda İsveç Vipeholm Akıl Hastanesindeki hastalar üzerinde yapılmıştır. Çalışmada çikolatanın çürük oluşturuvcu etkisi araştırılmış ve hastalara yemek aralarında sütlü çikolata, karamel ve toffee verilmiştir. Çikolata grubunda kontrol grubuna göre daha fazla çürük oluşurken, diğer gruplara göre daha az çürük oluşmuştur. Çikolatanın yüksek şükroz içeriğine rağmen hastalarda beklenenden daha az çürük oluşturmaları içeriğinde çürük önleyici maddelerin olabileceği hipotezinin ortaya atılmasına neden olmuştur (77).

Daha sonra Stralfors, Gustafsson’ın çalışmasından yola çıkarak, kakao tozunun diş çürükleri ile ilişkisini inceleyen hayvan çalışmaları yapmıştır. İlk çalışmada ratların diyetine kakao ilave edilmiştir ve diyetle alınan kakao miktarı %20, %10, %5 ve %2 olduğunda, diş çürükleri %84, %75, %60 ve %42 oranında azalmıştır. Diyetle %15 oranında kakao yağı ilavesi yapıldığında ise diş çürüklerinde önemli ölçüde artış görülmüştür (78). Bu başlangıç çalışmasına göre Stralfors kakao içerisindeki çürük önleyici maddenin yağsız kısımda yer aldığı sonucuna varmıştır. Takip eden çalışmada kakao tozunun yağ içermeyen kısmında iki çeşit çürük önleyici maddenin bulunduğunu, bunlardan birinin normal sıcaklıkta su içerisinde çözünemeyen bir bileşen, diğerinin ise suda çözünabilir bir bileşen olduğunu iddia etmiştir (79). Sonrasında kakao içerisindeki tannin maddesinin çürük önleyici bir bileşen olabileceğini ve bunun dışında da çürük önleyici maddeler olabileceğini iddia etmiştir (80). Stralfors daha sonra purin türevleri (teobromin, ksantin, kafein, fenolik aldehit, vanilin vb.) üzerinde çalışma yapmıştır. Diyetle ilave edilen bu maddelerin bazıları, konsantrasyona bağlı olarak çürük önleyici etki meydana getirmiştir (81). Stralfors konu ile ilgili en son çalışmasında hamsterlerin bir grubuna sütlü çikolata verirken diğer gruba bitter çikolata vermiştir. Sonuç olarak sütlü çikolatada çürüklerde düşüş %35 olurken, bitter çikolatada bu oran %73 olmuştur (82). Stralfors yaptığı tüm çalışmalarda kakao tozunun ya da çikolatanın diyetle ilavesi sonucunda diş çürüklerinin azaldığını gözlemlemiştir. Ancak kakao içerisindeki hangi maddenin çürük önleyici etki gösterdiğini bulamamış ve bunu hangi yolla yaptığı

konusunda bir açıklama yapamamıştır. Yapılan bu çalışmalarla çikolatanın diş çürüklerini engellediği yönündeki iddialar güçlenmiştir. Ancak hangi kimyasal madde ya da maddelerin diş çürüklerinden korunmada kritik bir role sahip olduğu bulunamamıştır (74).

Çürüklerden korunmada çikolata ve kakao içerisindeki hangi maddenin etkili olduğu bilgisine başka araştırmacılar tarafından tesadüfi olarak ulaşılmıştır. Nakamoto ve ark. kafein içerikli beslenme şeklinin gelişmekte olan diş yüzeylerinde nasıl bir etki oluşturduğunu araştırmak amacıyla bir çalışma planlamıştır. Hem insanlarda hem de ratlarda kafein anne sütüne kolaylıkla geçebilmektedir. Araştırmacılar kafein ile ilgili yaptıkları seri çalışmalar sonucunda önce kafein tüketen annelerin yavrularında dişlerde Ca, P salınımında bir artış olduğunu gözlemlemişler ve bunun sebebinin araştırdıkları çalışmalarında kafeinin minenin mineralizasyonu bozduğunu ve normalden daha küçük kristaller oluşmasına sebep olduğu bilgisine ulaşmışlardır. Sonuç olarak postnatal ve prenatal kafein tüketiminin dişlerde mineralizasyonu bozup daha küçük HAP kristallerinin oluşmasına sebep olduklarını ve buna bağlı olarak asit atakları karşısında dişlerin daha dirençsiz bir hale gelmesine neden olduğu bulunmuştur (83).

Nakamoto ve ark.'nın kafein ile ilgili çalışmaları devam ederken, araştırmacılar diğer ksantin bileşiklerinin HAP kristallerinin oluşumuna etkilerini değerlendirmek amacı ile basit bir in vitro çalışma planlanmıştır. Çalışmaya kafein, teobromin, ürik asit, teofilin, 1-metilksantin, 3-metil ksantin ve 7-metil ksantin dahil edilmiştir. CaCl_2 ve Na_3PO_4 kullanılarak hazırlanan çözeltiler içerisine her bir ksantin türevinden 50 mg/l ve 200 mg/l konsantrasyonlarda olacak şekilde ilave edilmiştir. Karışımlar 20 gün boyunca kristalize olmaya bırakılmıştır ve sürenin sonunda yapılan ölçümlerde kafein ve ürik asit dışında metillenmiş tüm ksantinlerin kristalleşmeyi doza bağlı olarak arttırdığı ve teobromin ve 3-metilksantin en fazla kristalleşmeye neden olduğu görülmüştür. Ksantin konsantrasyonlarının artışı ile kristalleşmede de artış olmuştur. 200 mg/l teobromin ilavesi olan grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kristal boyutlarında 4 kat artış izlenmiştir. Bu sürpriz sonuçlar teobrominin üzerine odaklanılmasına neden olmuştur (84,85). Kafein ve teobromin kimyasal olarak çok benzer yapıda olmalarına rağmen, diş üzerindeki etkileri tamamen zıttır. Kafein küçük kristaller oluşumuna neden olurken, teobromin kristallerin ciddi bir şekilde büyümesine neden olmaktadır (75).

Bu çalışmayı takiben araştırmacılar kafein için uyguladıkları hayvan deneylerini teobromin için planlamışlardır. Teobrominin prenatal ve postnatal etkisini inceledikleri

çalışmalarında teobromin grubunda dişlerde Ca, P ve Mg salınımında belirgin bir azalma olduğu bulunmuştur. Bu sonuç ilk in vitro deneydeki teobrominin HAP kristallerinin çaplarını arttırmalarına bağlanmıştır. Büyük HAP kristalleri asit atakları karşısında daha dayanıklıdır. Aynı araştırmacılar kristallerde tam olarak nasıl bir değişiklik olduğunu anlamak amacı ile ratlardan çekilen dişlerde elektron microprobe analizi yapmışlardır. Teobromin ve kontrol grubundaki dişlerdeki Ca ve P miktarlarını ölçüp karşılaştırmışlardır. İki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Araştırmacılar asit atakları karşısında teobromin grubunda daha az çözünme meydana gelmesini kimyasal yapıdaki farklılıkla değilde kristallerin boyutlarındaki artışla ilişkili olduğunu açıklamışlardır (84,85).

Yapılan insan, hayvan çalışmaları ve in vitro çalışmalar teobrominin diş çürüklerinden korunmadaki olası rolünü işaret etmektedir (77–82). Teobromin ve remineralizasyon ilişkisine dayalı olarak yapılmış çalışmalar çok kısa süre öncesinde başlamış olması nedeniyle oldukça yeni bir çalışma alanıdır. Teobrominin çürüklerden korunmadaki rolü hakkında çok merkezli laboratuvar ve randomize klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

1.3 Yapay çürük modelleri

Ağız boşluğunun karmaşık yapısı ve in vivo çalışmalardaki etik problemler ağız şartlarını taklit eden laboratuvar modellerinin gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Diş hekimliğinde kullanılan materyaller, bunların yetenekleri ve etki şekilleri (fluorid salınımı, remineralizasyon yeteneği vb.) ile ilgili bilgi edinebilmek amacıyla birçok yapay çürük modeli geliştirilmiştir. Bazı sınırlamalar olmasına rağmen, kontrol edilebilir koşullar altında deneyler yapılabilmesi ve deney prosedürünün kolayca modifiye edilebilmesi in vitro çalışmalarda ciddi bir avantajdır. Bu gibi deneyler in vivo olarak yürütülmesi çok zor olan mekanik çalışmaların yapılabilmesine imkan sağlar (86).

1.3.1 Biyolojik Model

Bu modelde çalışma yapılacak diş yüzeyinden hazırlanan örnekler bakteri içeren ortamlara koyulur ve demineralizasyon için gerekli olan asit bu bakteriler tarafından sağlanır. Diş çürüklerinin başlamasından ve gelişiminden sorumlu uygun bakteri suşlarının seçimi bu modeldeki en önemli unsurdur. *S. mutanslar* en sık kullanılan suşlardır. Bu modelin diğer bir önemli unsuru ise tükürüktür. Temizlenmiş pürüzsüz bir mine yüzeyine bakterilerin adezyonu zordur. Tükürük glikoproteinleri bakterilerin diş

yüzeyine adezyonunu kolaylaştırmaktadır. İn vitro çalışmalarda kullanılacak olan tükürük insanlardaki ile yaklaşık olarak aynı bileşenleri içermelidir. Ortamda aynı zamanda bakterilerin büyümesi için gerekli olan karbonhidratlar olmalıdır. *S. mutanslar* en iyi sükroz varlığında gelişir. Ortamdaki bakteriler karbonhidratları fermente ederek asit oluştururlar ve bu asitin etkisi ile demineralizasyon meydana gelir (87).

Ortamdaki Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F^- iyon seviyelerinin kontrol altında tutulmaması ve pH değerinin kontrolsüz şekilde düşüşü bu yöntemin dezavantajlarıdır (88).

1.3.2 Asit Tamponlarının Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon Modeli

Bu model Ca^{+2} ve PO_4^{-3} ilave edilen, pH seviyesi dikkatlice ayarlanmış asitler, asit tamponlar, silika jeller ya da solüsyonlar kullanılarak çürük lezyonları oluşturulan en basit çürük modelidir. 1985 yılından beri in vitro araştırmalarda kullanılan bu teknikle histolojik olarak doğal lezyonlara çok benzeyen yapay lezyonlar oluşturulabilmektedir. Diş minesi ya da kökü üzerinde hazırlanan pencereler esas olarak asetik asit içeren asit tamponlar içerisinde günlerce hatta aylarca bekletilmektedir. Tampon solüsyonlarında laktik asit, asetik asit veya her ikisi birden kullanılabilir (87).

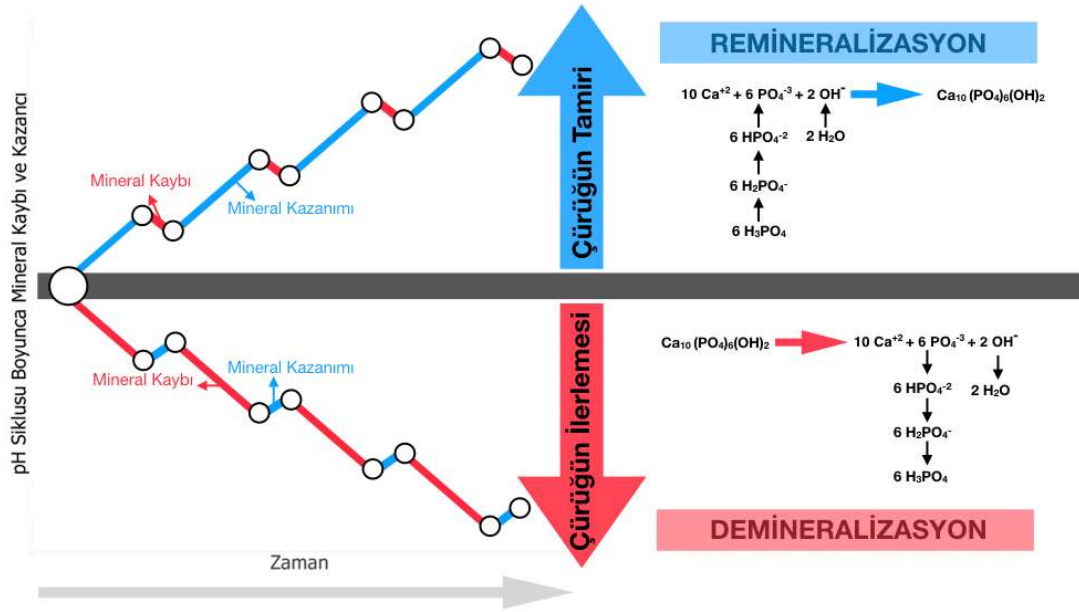
Ana bileşen olan asetik asit içerisine metilhidroksidifosfat (MHDP) eklenebilmektedir. MHDP minenin yüzey tabakasının çözünmesini engelleyen bir etki gösterirken diğer taraftan kristaller arasında boşlukların genişlemesine neden olur. Yüzey altı tabakada bazı HAP yapılar kısmi olarak çözünür ve bu tabakayı etkileyen başlangıç çürük lezyonu oluşturur (87).

Bu solüsyonlarda önemli olan, içerdikleri Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F^- yoğunluklarının bilinmesi ve pH derecesinin dikkatli bir şekilde ayarlanmasıdır. Tampon pH'sının 4.5-5.0 arasında olması gerekir. İşlemin sıcaklığı 37°C olmalıdır (88).

1.3.3 pH Siklus Modelinin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon/Remineralizasyon Modeli

Modern pH siklus modelleri, çürük sürecinin iyi bir taklidini sağladığı için in vitro koşullarda çürükle ilgili çalışmalar yapan araştırmacılar için tercih edilen bir yöntem olmuştur. İlk olarak Koulourides (1980) tarafından ortaya atılan bu teknik daha sonra ten Cate ve Dujisters (1982) tarafından geliştirilmiştir (87). pH siklus modelinde, takip eden asit atakları karşısında mineral alım ve kaybının ölçüldüğü çok sayıda

remineralizasyon demineralizasyon uygulaması bulunmaktadır. Günümüzde artık pH siklus modelleri daha komplekstir ve uygulanan protokoller daha detaylıdır (86).



Şekil 0-10: Mineral akışına göre in vitro pH siklus modellerinin sınıflandırılması

pH siklus modelleri genel olarak minerallerin diş yüzeyinden çözünmesi ya da çökmesine bağlı olarak demineralizasyon ve remineralizasyon modeller olmak üzere ikiye ayrılır (Şekil 2-10). Demineralizasyon modellerinde başlangıç olarak sağlam yüzeyler kullanılır. Kullanılacak macun, solüsyon veya ajanın demineralizasyonu azaltma yetenekleri analiz edilir. Remineralizasyon modellerinde yapay çürük lezyonu oluşturulmuş dişler kullanılır ve test edilen ajanın tedavi potansiyeline bağlı olarak lezyon alanındaki mineral kazanımının analizi ve ölçümü yapılır (86,89).

Ancak bu modelin bazı dezavantajları vardır (90);

- İn vitro modellerde çürük gelişimine katkıda bulunan, karmaşık ve çeşitlilik gösteren ağız içi koşullarının (bakteriyel biyofilm, tükürük vb.) yeterli ölçüde taklit edebilmesi zordur.
- Ağız içerisinde gerçekleşen remineralizasyon şartlarının ve diş yüzey alanının taklidi zordur.

- Substrat seçimi ve demineralizasyon-remineralizasyon periyodları gibi deney şartlarının ayarlanması zordur.

Tüm bu sınırlamalara rağmen iyi dizayn edilmiş pH siklus deneyleri, mekanizma bazlı çürük önleyici araştırmaların temelini oluşturur. İn vitro modeller çevre üzerinde kontrolün sağlanmasına ve sonuçların tekrarlanabilirliğine izin verir. Bu modelde deneyin gerçekleştiği ortamın pH'sını kontrol etmek ve araştırma için kararlı koşulları sağlamak daha kolaydır. Bu sistemler antibakteriyel ajanları değerlendirmek amacı ile kullanılamaz (87).

1.4 Demineralizasyon ve Remineralizasyonu Değerlendirme Yöntemleri

1.4.1 Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımlı X Işını Spektroskopisi (SEM-EDX)

Katı cisimlerin karakteristik mikro yapılarının incelenmesinde ve analizinde sıklıkla kullanılan Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) çizgisel tarama modeliyle çalışan, yüksek enerjili elektronlarla örnek yüzeyini tarayarak görüntüler alan bir elektron mikroskobu çeşididir (91). Enerji dağılımlı X ışını spektroskopisi (EDX, EDS, EDAX), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile birlikte örneklerin kimyasal karakterlerinin ve elemental analizlerinin yapılması amacı ile kullanılan bir mikroanaliz tekniğidir. Bu teknik örnek X ışını uyarımı arasındaki etkileşimin incelenmesi esasına dayanır. Bu yüzden diş hekimliğinde genellikle diş sert dokularındaki minerallerin miktar ve dağılımlarını incelemek amacıyla kullanılır (91,92).

SEM-EDX analizi ile diş sert dokularının kristal yapısı içerisinde bulunan Ca, P, O, F ve H gibi temel elementlerin dışında Al, Na, Mg, Si ve C gibi eser miktardaki minerallerinde tespiti yapılmaktadır. HAP yapının temel bileşeni olan Ca ve P elementlerinin seviyeleri ve Ca/P oranı dişlerin mineralizasyon derecesinin bir göstergesidir. Ca, P miktarındaki ve Ca/P oranındaki azalma mekanik özelliklerde, yapının kristalleşmesinde, sertliğindeki azalmayı değerlendirmemize yardımcı olmaktadır. Özellikle remineralizasyon ajanı uygulaması sonrasında Ca, P ve Ca/P oranındaki değişikliklerin analizi malzemelerin başarısının değerlendirmesine imkan tanımaktadır (93).

Çalışma mekanizması, materyalin atomlarına dış kaynaklardan gelen elektronların çarpması ile x-ışını fotonlarından enerji yayılması prensibine dayanır. Bu şekilde elementin x-ışını karakteristiğini oluşturur. Cihaz içerisindeki X ışını dedektörü yayılan X ışınlarının

enerjilerini ölçer. X ışını enerjisi, iki yörünge arasındaki enerji farklılığıyla ve yayıldıkları elementin atomik yapısıyla karakterizedir. Tespit edilen X ışınlarının rölatif sayısı nitel değerlendirilir. Elementlerin kantitatif tayini bilgisayar bazlı bir program kullanılarak yapılır. Böylece örneklerin elemental kompozisyonunu ölçülebilmektedir (91).

1.4.2 Mikrosertlik ölçümü

Sertlik, bir materyalin lokal deformasyona karşı koyabilme yeteneğidir. Dişler için yüzey mikrosertlik değeri, mine ve dentinin ortalama sertliğini göstermektedir ve dokuların mineral içeriği ile ilgili bir değerlendirme şeklidir. Mikrosertlik analizi minede ve dentinde meydana gelen erken değişiklikleri tespit etmek amacı ile kullanılan, maliyeti düşük basit bir yoldur ve diş hekimliğinde sık kullanılmaktadır (94–96). Demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında mikrosertlik ölçümü ilk olarak Koluorides'in in situ çalışmasıyla kullanılmaya başlanılmıştır (97).

Demineralizasyon ve remineralizasyon siklusu uygulaması sonrası yapılan mikrosertlik ölçümleriyle, indirekt mineral kaybı veya kazanımı değerlendirilir. İz uzunluğu artarsa doku mineral kaybetmiş, azalırsa doku mineral kazanmış demektir. Diğer bir deyişle, materyalin sertliği ile izin büyüklüğü ters orantılıdır. Mikrosertlik tespitinde uçların oluşturdukları izdeki değerler ile mineral içeriği arasında kalitatif bir ilişki vardır (94,95).

Sertlik ölçümü için kullanılan farklı metodlar vardır. Diş hekimliği alanında yüzey sertliği çalışmalarında Brinell, Rockwell, Vickers ve Knoop testleri kullanılmaktadır (Tablo 2-1). Brinell ve Rockwell testleri makrosertlik testleri olarak adlandırılırlar ve kırılğan yüzeylerde kullanımları uygun değildir. Demineralizasyon-remineralizasyon çalışmalarında sıklıkla Knoop veya Vickers metodları tercih edilmektedir. Bunun sebebi iki test tekniğinin de küçük alanlarda ve sert, kırılğan, gevrek yüzeylerde iz oluşturmaya uygun uçlara sahip olmasıdır. Bu yöntemler mikrosertlik testleri olarak ifade edilmektedir. İki metod arasındaki farklılık uç şekillerinin farklılığından kaynaklanmaktadır (95,98).

Tablo 0-1: Sertlik ölçüm Testleri

TEST	UÇ	İZ ŞEKİLLERİ	ÖLÇÜM	SONUÇ BİRİMİ
Brinell	Küresel çelik uç		İz alanı	BHN
Knoop	Elmas uç		İz alanı	KHN
Rockwell	Küresel çelik uç		İz derinliği	Rockwell
Vickers	Elmas uç		İz alanı	VHN

Mikrosertlik ölçümünde, elmas bir uç kullanılarak incelenecek dış ya da materyal yüzeyine belirli bir süre belirli ağırlıkta yük uygulanır. Uygulanan yük sonrasında yüzeyde oluşan izlerin derinliği ışık mikroskobu yardımı ile incelenir. Kuvvet uygulanan yüzeyin sertliği, oluşan izin derinliğine veya alanına göre oransal olarak hesaplanır. Knoop yüzey sertlik testinin birimi KHN (Knoop Hardness Number), Vickers yüzey sertlik testinin birimi VHN (Vickers Hardness Number) olarak ifade edilir. KHN ve VHN deney yükünün (kg), iz alanına (mm²) bölünmesi ile elde edilir ve formülleri aşağıdaki şekildedir (99):

$$KHN = \frac{F}{D^2} \times 1.451 \quad VHN = \frac{F}{D^2} \times 1.854$$

(F: Uygulanan kuvvet, D: İz alanı)

Mikrosertlik ölçümlerinde minedeki sertlik derecesinin doğru değerlendirilebilmesi için düzleştirilmiş cilalı yüzeylere ihtiyaç vardır ve sertlik ölçülecek yüzey indenterin uzun eksenine dik yerleştirilmelidir. Bu şartlar doğal olarak pürüzlü ve kıvrımlı dış yüzeylerinde sertlik ölçümünün yapılabilirliğini sınırlandırır. Doğru ölçüm yapabilmek için cihaz titreşimden uzak bir yere koyulmalı, iz düz bir yüzey üzerinden alınmalı, yüzeye uygulanacak yük çatlak oluşturmayacak ağırlıkta olmalıdır. Ayrıca elde edilen bilgiler sadece kalitatifdir. Lezyon derinliği ile girinti uzunluğu arasındaki doğrusal ilişki sınırlı aralıktaki lezyon derinliği değerlerinde geçerlidir. Lezyon şekli, mineral dağılımı gibi faktörler girinti uzunluğu değerlerini etkileyebilmektedir (100).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırmada; güncel bir çürük önleyici ajan olan teobrominin 200 mg/l ve 500 mg/l iki farklı konsantrasyonunun, remineralizasyon tedavilerinde altın standart olarak kabul edilen floridin 500 ppm ve 1450 ppm dozları ile in vitro koşullarda oluşturulmuş yapay çürük lezyonlarının mikrosertlik ve mineral kazanımına olan etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

1.5 Etik Kurul Onayı

Çalışmamızın etik kurul onayı Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan "2016/8" sayılı karar no ile 06.06.2016 tarihinde alındı (Ek-1).

1.6 Örnek Sayısının Belirlenmesi:

Örnek sayısının belirlenmesi amacıyla çalışmaya başlamadan önce "güç analizi" yapıldı. 0.05 anlamlılık düzeyi ve 0.35 duyarlılıkta grup başına düşen örnek sayısı 10 olarak belirlendi. Çalışma mikrosertlik analizi kısmında 5 grup ve SEM-EDX analizi kısmında 5 grup olacak şekilde planlandı. Çalışmanın tamamında 100 mine örneği kullanıldı.

1.7 Dişlerin Toplanması ve Saklanması

Çalışmamızın deneysel bölümleri Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda uygulandı. Çalışmamızda; çürüksüz, minesinde çatlak veya kırık hattı bulunmayan 2-3 yaş arası tüketim için sakrifiye edilen sığırlardan elde edilmiş 50 adet keser diş kullanıldı. Sığır keser dişleri kullanılarak yapılan bu çalışmada, dişlerin mine yüzeyleri değerlendirilerek çürük, hipokalsifikasyon ve çekime bağlı defektlerin bulunmamasına dikkat edildi. Dişlerin üzerindeki doku artıkları periodontal küret, polisaj lastiği ve florid içermeyen pat kullanılarak uzaklaştırıldı. Dişler çalışma süresi bir ayı geçmemek şartıyla, 37°C 'de %0,1'lik timol içeren distile su içerisinde bekletildi.

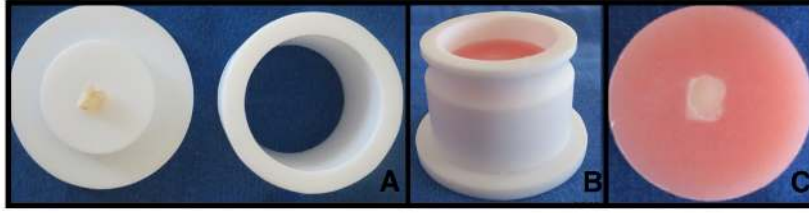
1.8 Deney Sürecinde Kullanılacak Mine Örneklerinin Hazırlanması

1.8.1 Mikrosertlik Çalışması İçin Gerekli Örneklerin Hazırlanması

Çalışmanın mikrosertlik analiz kısmında 25 adet sığır diş kullanıldı. Dişlerin kökleri su soğutması altında sonsuz elmas separe (Sunshine/Sarı bantlı/Almanya) ve mikromotor

(L-MOTOR 181DBN Intramatik, Avusturya) kullanılarak kuron kısımlarından ayrıldı. Daha sonra kuron kısmından yine su soğutması altında sonsuz elmas separe ile insizogingival yönde kesilerek iki adet mine örneği oluşturuldu. Böylece mikrosertlik testlerinde kullanılacak 50 adet mine örneği elde edildi. Mine örnekleri kalıplama işlemine kadar distile su içerisinde bekletildi.

Mikrosertlik ölçümleri sırasında uygulanan kuvvetin doğru açı ile gelebilmesi ve gerçek sonuçların elde edilebilmesi için örnek tabanına paralel düz ve pürüzsüz yüzeyler elde edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla mine örnekleri 3 cm çapında prefabrike teflon kalıplar kullanılarak akrilik içerisine gömüldü. Örnekler öncelikli olarak iki parça halindeki kalıbın alt parçasına mine yüzeyi altta kalacak şekilde sabitlendi. Daha sonra kalıbın üst parçası takıldı. Normalden daha sıvı kıvamda hazırlanan akrilik, titreşim uygulanarak kalıp içerisine döküldü. Akriliğin sertleşmesini takiben kalıbın parçaları birbirinden ayrılarak örnekler kalıplardan çıkarıldı (Resim 3-1).



Resim 0-1: A. Teflon kalıbın tabanına yerleştirilmiş mine örneği B. Teflon kalıp içerisine akrilik uygulaması C. Teflon kalıp içerisinden çıkarılmış mine örneği

Kalıplama işleminden sonra örneklerin zımparalanması ve cilalanması işlemine geçildi. Örnekler cilalama aygıtı (Struers LaboPol-5/Danimarka) kullanılarak sırasıyla 2400 ve 4000 gritlik alüminyum oksitli (Al_2O_3) abraziv kağıt diskler kullanılarak, mine dokusu sınırları içinde kalacak şekilde zımparalandı. Elde edilen mine yüzeyleri mikroskop altında incelendi ve istenilen pürüzsüz yüzeyin elde edilemediği durumlarda zımparalama işlemi tekrarlandı. Cilalama işlemi ise 1 mikronluk alümina süspansiyonu ve keçe kullanılarak yapıldı (Resim 3-2).

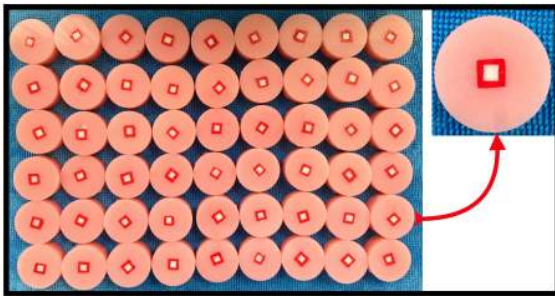


Resim 0-2: A. Struers LaboPol-5 cilalama cihazı **B.** Örneklerin 3'lü gruplar halinde cihaza yerleştirilmesi

Zımparalama ve cilalama işlemi sonrasında dişler distile su ile yıkandı ve kurutma kağıtları yardımıyla kurulandı (Resim 3-3).



Resim 0-3: Zımparalama ve cilalama işlemi sonrası örnekler



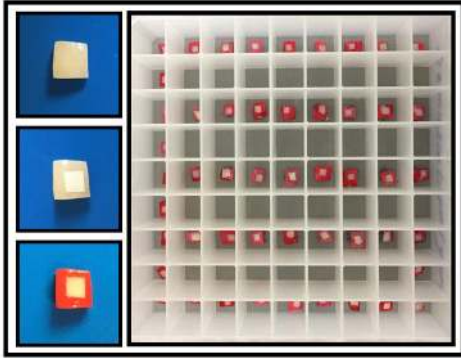
Resim 0-4: Çalışma alanları oluşturulmuş mine örnekleri

Dişlerin mine yüzeyinin orta kısmında $4 \times 4 \text{ mm}^2$ 'lik pencereler hazırlamak amacıyla aynı ölçüde etiketler yapıştırıldı ve etiket dışında kalan diş yüzeyleri aside dirençli vernik (Golden Rose-Fransa) ile boyandı (Resim 3-4). Dişler deney süresine kadar distile su içerisinde saklandı.

1.8.2 SEM-EDX Ölçümü Yapılacak Örneklerin Hazırlanması

Çalışmanın mineral analizi kısmında 25 adet sığır dişi kullanıldı. Dişlerin kökleri su soğutması altında sonsuz elmas separe (Sunshine Sarı Bantlı/ Almanya) ve mikromotor (L-MOTOR 181DBN Intramatik/Avusturya) kullanılarak kuron kısımlarından ayrıldı. Daha sonra kuron kısmından yine su soğutması altında sonsuz elmas separe ile insizogingival yönde kesilerek iki adet mine örneği oluşturuldu. Böylece SEM-EDX testlerinde kullanılacak 50 adet mine örneği elde edildi. Mine örnekleri test sürecine kadar distile su içerisinde bekletildi.

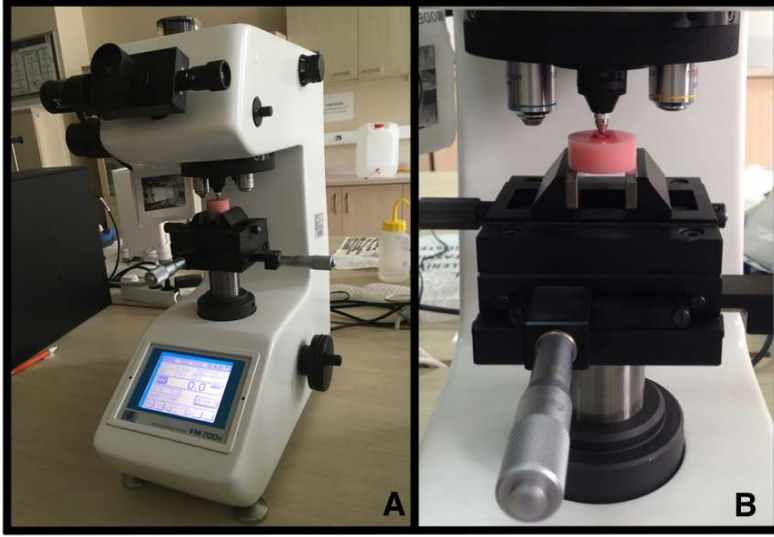
Dişlerin mine yüzeyinin orta kısmında 3x3 mm²'lik pencereler hazırlamak amacıyla aynı ölçülerde etiketler yapıştırıldı ve etiket dışında kalan diş yüzeyleri aside dirençli vernik ile boyandı (Resim 3-5). Dişler deney süresine kadar distile su içerisinde saklandı.



Resim 0-5: SEM-EDX ölçümleri için hazırlanan mine örnekleri

1.9 Başlangıç Mikrosertlik Ölçümleri (1. Ölçüm)

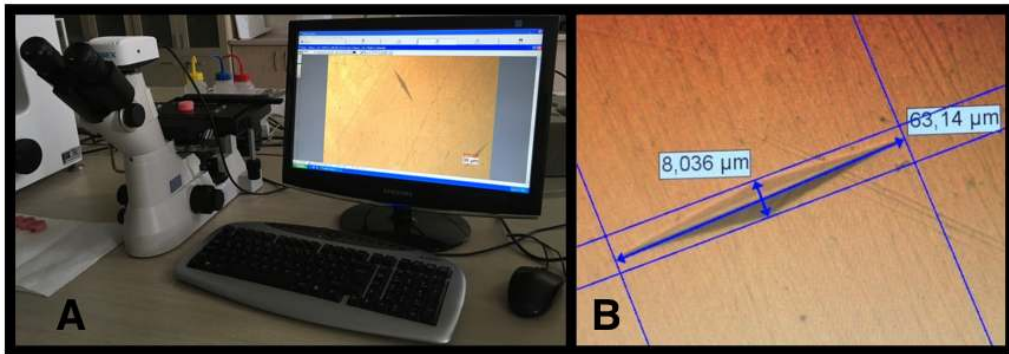
Çalışmamızın mikrosertlik ölçümleri Mustafa Kemal Üniversitesi Fizik Bölümü'nde gerçekleştirildi. Mikrosertlik analizi amacı ile akriliğe gömülen 50 örneğin başlangıç mikrosertlik ölçümleri mikrosertlik cihazı (Future-Tech FM 700e/Japonya) kullanılarak yapıldı (Resim 3-6).



Resim 0-6: A. Mikrosertlik Cihazı (Future-Tech FM 700e, Japonya) **B.** Mikrosertlik cihazına yerleştirilmiş mine örneği

Hazırlanan örneklerin hepsinde cihazın Knoop ucu kullanılarak çalışma alanı içinde 3 ayrı noktada çentik oluşturuldu. İzlerin her biri 50g kuvvet 10 saniye uygulanarak oluşturuldu.

Mikrosertlik cihazı üzerinde yapılacak ölçümler bireysel göz hassasiyetine bağlı olduğu için inverted mikroskop (Nikon ECLIPSE MA100/Japonya) kullanılarak daha net ölçümler yapıldı. Örnekler üzerinde çentikler oluşturulduktan sonra inverted mikroskoba alındı. Bu mikroskopta uygun büyütme ile görüntünün fotoğrafı alınıp bilgisayara aktarıldı. Görüntülerin net ölçümleri bilgisayar üzerindeki program yardımı ile yapıldı ve elde edilen verilerin aritmetik ortalamaları alınarak her örneğin başlangıç mikrosertlik değeri bulundu (Resim 3-7).

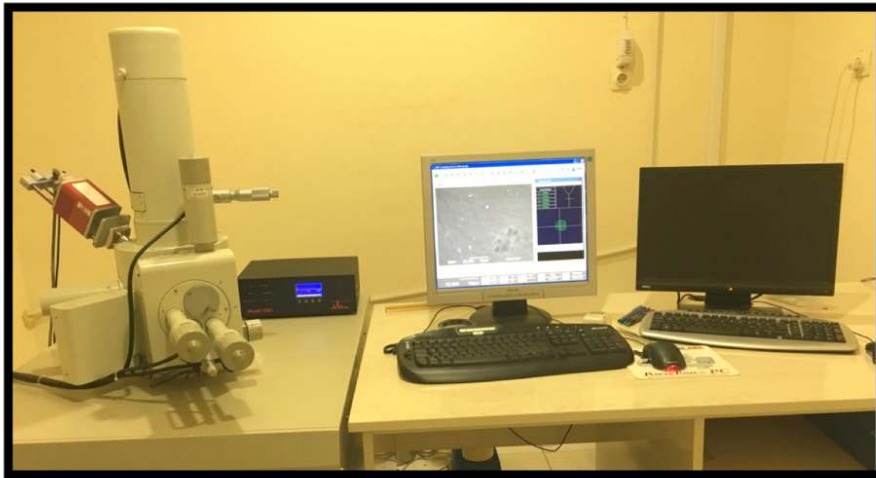


Resim 0-7: A. Inverted mikroskop (Nikon ECLIPSE MA100/Japonya) **B.** Elde edilen verilerin bilgisayar üzerinde yapılan ölçümleri

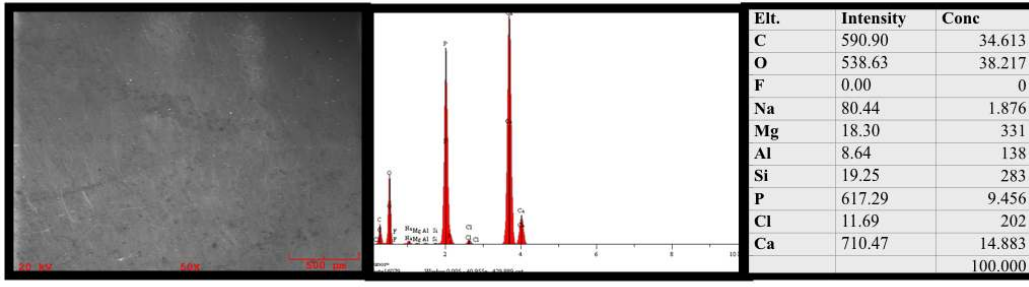
Çalışmanın her aşamasında örnekler kurumayı önlemek amacıyla kapaklı kaplarda distile su içerisinde saklandı. Örnekler sadece ölçümler için kurutuldu ve sonrasında tekrar distile su bulunan kapaklı kaplara konuldu

1.10 Başlangıç SEM-EDX Ölçümleri (1. Ölçüm)

Çalışmamızda SEM-EDX mineral analizi ve SEM görüntü analizi Gaziantep Üniversitesi Fizik Mühendisliği Bölümü'nde yapılmıştır. SEM-EDX analizi amacı ile hazırlanan 50 örnekte ise 3x3mm'lik pencere alanının tamamının başlangıç mineral analizi yapıldı. SEM-EDX analizinde SEM (JEOL JSM-639OLV Taramalı Elektron Mikroskobu/ABD) ile EDX cihazı (IXRF Systems Model 550i) kullanıldı (Şekil 3-8). Elemental analizler düşük basınç (100 Pa) koşullarında, X50 büyütme altında, yüzeyler iletken herhangi bir malzeme ile kaplanmadan yapıldı. Minenin mineral analizini yapmak için, çalışma koşulları, 20 kV ivmelendirici gerilim, 8 nA demet akımı, 45 sn ölçme zamanı, 10 mm odak mesafesi olarak belirlendi. Her bir örneğin Ca, P, F, C, O, Na, Mg, Al, Si ve Cl içerikleri bilgisayar üzerindeki program aracılığı ile elde edildi (Resim 3-8).



Resim 0-8: SEM (JEOL JSM-639OLV Taramalı Elektron Mikroskobu) ile EDX cihazı (IXRF Systems Model 550i)



Resim 0-9: Mine örneklerinin mineral analizi

Çalışmanın her aşamasında örnekler kurumayı önlemek amacıyla kapaklı kaplarda distile su içerisinde saklandı. Örnekler sadece ölçümler için kurutuldu ve sonrasında tekrar kapaklı kaplara konuldu.

1.11 Çalışma Gruplarının Oluşturulması

1.11.1 Mikrosertlik Analizi Yapılacak Örneklerin Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Benzer başlangıç mikrosertlik değerlerine sahip 50 adet mine örneğinden, rastgele örnekleme yöntemi ile deney grupları ve kontrol grubu oluşturuldu. Her grupta 10 örnek olacak şekilde toplam 5 deney grubu oluşturuldu:

Grup T1: 200 mg/l teobromin uygulanan grup,

Grup T2: 500 mg/l teobromin uygulanan grup,

Grup F1: 500 mg/l (ppm) florid uygulanan grup,

Grup F2: 1450 mg/l (ppm) florid uygulanan grup,

Grup K: Hiçbir tedavi uygulanmayan grup

1.11.2 SEM-EDX Analizi Yapılacak Örneklerin Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Başlangıç SEM-EDX analizi yapılan 50 adet mine örneğinden rastgele örnekleme yöntemi ile deney grupları ve kontrol grubu oluşturuldu. Her grupta 10 örnek olacak şekilde toplam 5 deney grubu oluşturuldu:

Grup T1: 200 mg/l teobromin uygulanan grup,

Grup T2: 500 mg/l teobromin uygulanan grup,

Grup F1: 500 mg/l (ppm) florid uygulanan grup,

Grup F2: 1450 mg/l (ppm) florid uygulanan grup,

Grup K: Hiçbir tedavi uygulanmayan grup

1.12 Yapay Çürük Lezyonu Oluşturulması

Çalışmamızda, deney materyallerinin başlangıç mine çürükleri üzerindeki etkinliklerinin değerlendirilmesi amaçlandığından, başlangıç mikrosertlik ve SEM-EDX değerlerinin belirlenmesi sonrasında, toplam 100 adet örneğin yüzeyinde yapay çürük lezyonu oluşturuldu. Kimyasal solüsyonlar Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda hazırlandı.

Bu amaçla pH 5.5 olan ve 1.28 mmol/L Ca, 0.74 mmol/L Pi (inorganik fosfat) ve 0.03 µg F/mL içeren 0,05 mol/L asetat tamponu hazırlandı.

Bu karışım (Resim 3-10);

- Asetik asit (Sigma-Aldrich, ABD)
- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Kalsiyum Nitrat Tetrahidrat) (Merck, Almanya)
- KH_2PO_4 (Potasyum Dihidrojen Fosfat) (Merck, Almanya)
- NaF (Sodyum Florid) (Merck, Almanya) tuzları kullanılarak hazırlandı(101).



Resim 0-10: Deney solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılan kimyasallar

Demineralizasyon solüsyonundan çıkarılan örnekler distile su ile yıkandı, kurulandı. Hazırlanan solüsyon pH siklusunda da demineralizasyon solüsyonu olarak kullanıldı.

1.13 Demineralizasyon Sonrası Mikrosertlik ve SEM-EDX Ölçümleri (2. Ölçüm)

Başlangıç çürük lezyonları oluşturulan örneklerin pH döngüsü öncesindeki mineral ve sertlik analizleri başlangıç ölçümlerindeki aynı metotlar kullanılarak yeniden yapıldı.

1.14 Çalışmada Kullanılacak Solüsyonların Hazırlanması

1.14.1 Remineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması

pH siklusunda kullanılacak olan remineralizasyon solüsyonu yine Queiroz ve ark.'nın kullandıkları solüsyon referans alınarak hazırlanmıştır. pH'sı 7 olan 0.1 mol/L Tris tamponu içerisinde 1.5 mmol/L Ca, 0.9 mmol/L P , 150 mmol/L KCl ve 0.05 µg F/ mL olacak şekilde solüsyon hazırlanmıştır(101).

Bu solüsyonun hazırlanmasında (Resim 3-10);

- Tris tamponu (Merck, Almanya)
- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Kalsiyum Nitrat Tetrahidrat) (Merck, Almanya)
- KH_2PO_4 (Potasyum Dihidrojen Fosfat) (Merck, Almanya)
- NaF (Sodyum Fluorid) (Merck, Almanya)
- KCl (Potasyum Klorid) (Merck, Almanya) tuzları kullanılmıştır(101).

1.14.2 Teobromin İçeren Solüsyonların Hazırlanması

Teobromin güncel bir çürük önleyici ajan olduğu için hangi konsantrasyonda daha başarılı olacağı konusu halen araştırılmakta olan bir konudur. Teobrominin remineralizasyonda etkili olup olmadığını ve hangi konsantrasyonda daha iyi olduğunu test edebilmek amacı ile iki farklı teobromin solüsyonu hazırlandı. Solüsyonlar, Kargül ve ark.'ın çalışmasına benzer şekilde, 200 mg ve 500 mg teobromin (Sigma-Aldrich, ABD) 1 lt. distile su içerisinde çözülerek hazırlandı(74).

1.14.3 Fluorid İçeren Solüsyonların Hazırlanması

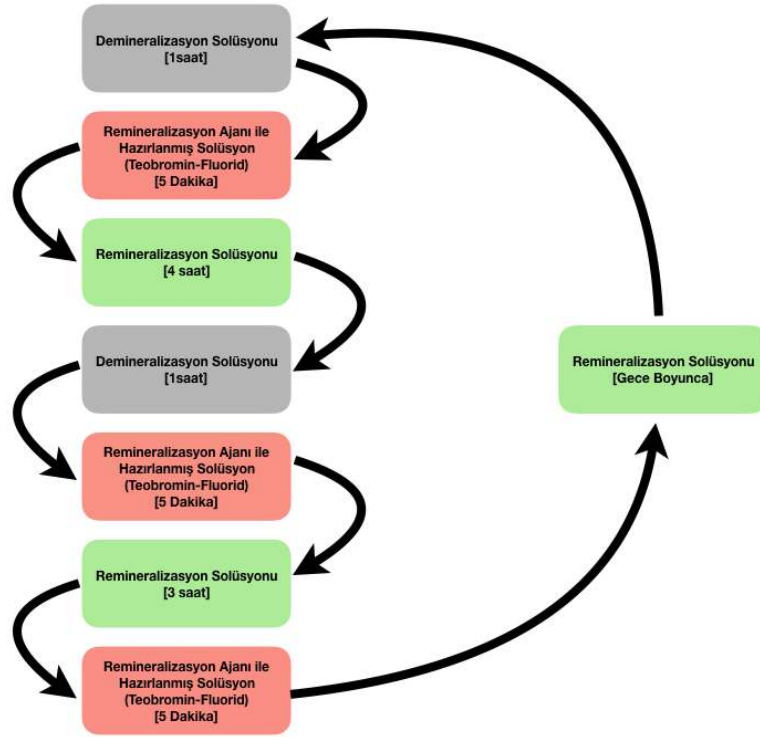
Çalışmamızda iki farklı florid konsantrasyonu remineralizasyon etkinliği açısından teobromin ile karşılaştırmalı olarak test edildi. Diş macunlarına çocuk dozu olarak ilave edilen 500 ppm florid ve yetişkin macunlarında yüksek dozda bulunan 1450 ppm

fluorid içeren solüsyonlar hazırlandı. Sodium fluorid çözeltileri hazırlanırken pH'sı 7.0 olan deiyonize su ve %99 saflıktaki NaF (Merck, Almanya) kullanıldı. Solüsyonlar, Austin ve ark.'ın çalışmasına benzer şekilde, 500 ppm fluorid solüsyonu 0.552 g NaF 500 g deiyonize su içerisinde çözülerek ve 1450 ppm fluorid solüsyonu 1.602 g NaF 500 g deiyonize su içerisinde çözülerek hazırlandı(102) .

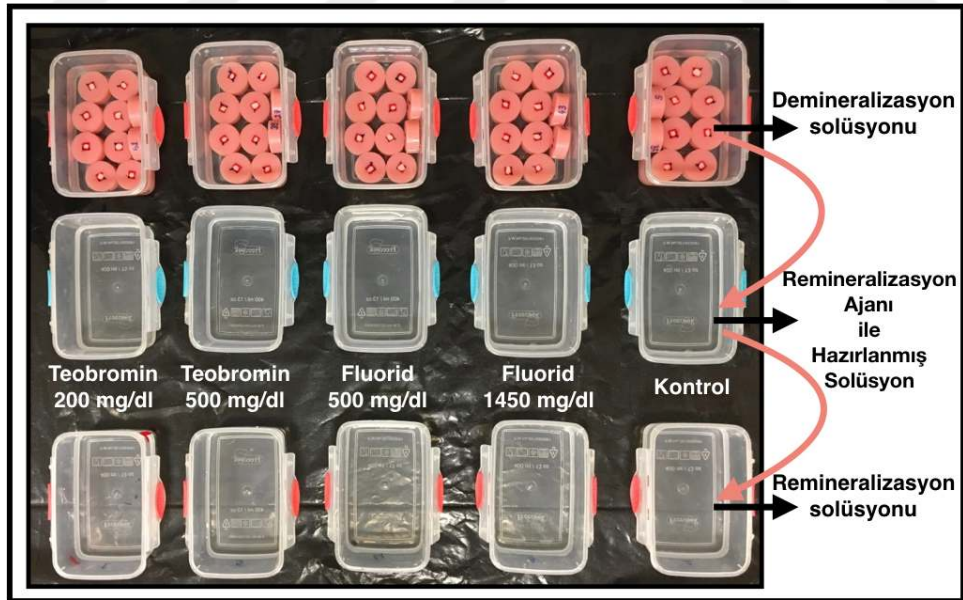
1.15 Mine Örneklerine Ağız Ortamını Taklit Eden pH Döngüsünün Uygulanması

Hazırlanan örnekler ağızdaki süreçleri taklit etmek amacı ile pH döngüsüne tabi tutuldu. *Grup T1* 200 mg/l teobromin içerikli solüsyon, *Grup T2* 500 mg/l teobromin içerikli solüsyon, *Grup F1* 500 ppm fluorid içerikli solüsyon, *Grup F2* 1450 ppm fluorid içerikli solüsyon kullanılarak sıklusa tabi tutulurken, *Grup K* içerisindeki örneklerle remineralizasyon ajanı uygulaması yapılmadı.

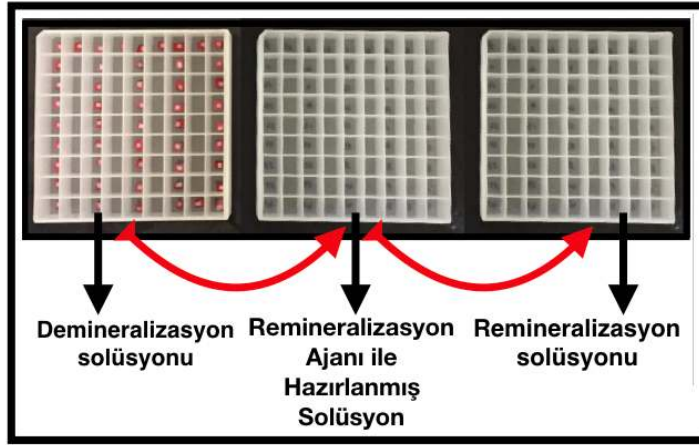
- Her gün siklusun başlangıcında her bir örnek örnek başına 10 ml demineralizasyon solüsyonu içinde 1 saat bekletildi.
- Solüsyondan çıkarılan örnekler distile su ile yıkanıp kurutma kâğıdı yardımıyla kurutulduktan sonra 5 dakika boyunca örnek başına 10 ml teobromin yada fluorid içeren remineralizasyon solüsyonları içerisinde bekletildi.
- Tedavi solüsyonlarından çıkarılan örnekler tekrar distile su ile yıkanıp kurutma kâğıdı yardımıyla kurutulduktan sonra 4 saat örnek başına 10 ml remineralizasyon solüsyonu içinde bekletildi.
- 4 saat sonunda tekrar yıkanıp kurutulan örnekler 1 saat demineralizasyon solüsyonu içinde bekletildi.
- 1 saatin sonunda örnekler yeniden distile su ile yıkanıp kurulanıp 5 dakika boyunca remineralizasyon ajanı ile hazırlanmış solüsyon içinde (örnek başına 10 ml) bekletildi.
- Ardından 3 saat boyunca remineralizasyon solüsyonunda (örnek başına 10 ml) bekletildi.
- Son kez 5 dakikalık remineralizasyon ajanı ile hazırlanmış solüsyon içinde (örnek başına 10 ml) bekletildi.
- Sonrasında gece boyunca remineralizasyon solüsyonu içinde bekletildi (Resim 3-11) (Resim 3-12). Uygulanan pH siklusu şekilde özetlenmiştir (Şekil 3-1).



Şekil 0-1: pH döngüsü akışı



Resim 0-11: Mikrosertlik örneklerine uygulanan pH döngüsü düzeneği



Resim 0-12: SEM-EDX örneklerine uygulanan pH döngüsü düzeneği

Siklus 8 gün boyunca devam ettirildi ve solüsyonlar 2 günde bir tazelenildi. Örnekler 37°C oda sıcaklığında demineralizasyon solüsyonu içinde 2 saat diğer solüsyonlar içinde 22 saat tutuldu. 8. döngüden sonra örnekler analizlere kadar 24 saat remineralizasyon solüsyonu içerisinde bekletildi (101).

1.16 Tedavi sonrası SEM-EDX ve Mikrosertlik Ölçümleri (3. Ölçüm)

Tedavi sonrası SEM-EDX ve mikrosertlik ölçümleri başlangıç ve demineralizasyon sonrası ölçümleri ile aynı şekilde yapıldı.

1.17 İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızdan elde edilen verilerin analizi için SPSS for Mac version 22.0 paket programı kullanıldı ve $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma sahip olup olmadığı Kolmogorov Smirnov testi kullanılarak kontrol edildi. Değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA testi, hangi gruplar arasında ne düzeyde farklılık olduğunun tespiti amacı ile Tukey testi kullanıldı. Ayrıca demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası grup içi verilerin kıyaslanmasında Paired T-Test uygulandı. Tanımlayıcı istatistik olarak ise ortalama±standart. sapma değerleri verildi.

BULGULAR

1.18 Mikrosertlik Testi

Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve tedavi sonrası mikrosertlik verilerinin grup içi karşılaştırması Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

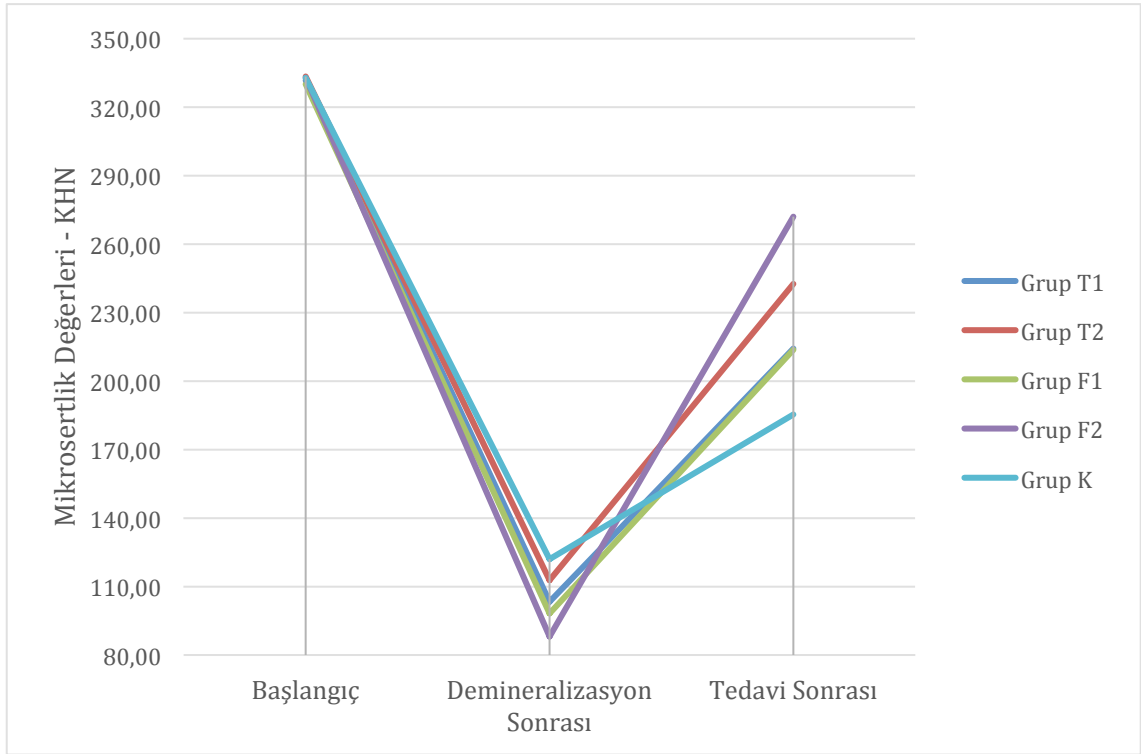
Tablo 0-1: Başlangıç, Demineralizasyon ve Tedavi Sonrası Mikrosertlik (KHN) değerleri

	<i>Grup T1</i> (n:10)	<i>Grup T2</i> (n:10)	<i>Grup F1</i> (n:10)	<i>Grup F2</i> (n:10)	<i>Grup K</i> (n:10)
<i>Başlangıç</i>	331.91±15.33 Aa	333.61±19.73 Aa	330.2±14.11 Aa	333.05±13.61 Aa	332.96±16.62 Aa
<i>Demineralizasyon Sonrası</i>	103.34±10.34 Ba	112.77±27.33 Ba	98.21±12.69 Ba	88.09±8.9 Ba	121.95±26.38 Ba
<i>Değişim</i>	-228.57±61.52	-220.84±97.87	-231.98±62.20	-244.96±53.96	-211.00±94.05
<i>Tedavi Sonrası</i>	214.38±3.19 Ca	242.61±6.33 Cb	213.66±4.56 Ca	272.14±8.99 Cc	185.43±8.97 Bd
<i>Değişim</i>	111.04±39.47	129.84±91.10	115.45±40.66	184.05±35.20	63.47±86.85

Aynı sütun içerisinde farklı büyük harf istatistiksel anlamlılığı, aynı satır içerisinde farklı küçük harf istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

Grupların kendi içinde değerlendirmesinde Paired-T Sample Test kullanılmıştır. Bu teste göre;

- Tüm gruplarda başlangıç ile demineralizasyon sonrası kıyaslandığında, başlangıç değerlerine göre yüzey mikrosertlik değerleri istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermiştir ($p<0,05$).
- Yine tüm gruplarda tedavi sonrası mikrosertlik değerleri demineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri ile kıyaslandığında, tedavi sonrası değerleri kontrol grubu hariç tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$).



Şekil 0-1: Mikrosertlik (KHN) değerleri grafiği

Gruplar arası kıyaslamada; başlangıç, demineralizasyon sonrası ve tedavi sonrası fark olup olmadığını karşılaştırmak için ‘One Way ANOVA’ testi uygulanmıştır. Bu teste göre;

- Başlangıç ve demineralizasyon sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$).
- Tedavi sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$).

Hangi gruplar arasında farklılık olduğunu ve ne düzeyde anlamlı olduklarını tespit edebilmek amacıyla “One Way ANOVA” testine ek olarak “Tukey” testi uygulanmıştır. Tedavi sonrası örneklerdeki mikrosertlik değişiminin gruplar arası değerlendirilmesinde;

- Tedavi sonrası T1, T2, F1 ve F2 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış mikrosertlik değerleri bulunmuştur ($p<0,05$).
- Tedavi sonrası F2 ve T2 gruplarının mikrosertlik değerleri, T1 ve F1 gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

- F2 ve T2 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, F2 grubunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek yüzey mikrosertliğine sahip olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).
- F1 ve T1 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında tedavi sonrasında mikrosertlik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Ancak T1 grubu, ortalama değeri baz alındığında, F1 grubundan daha yüksek yüzey sertliğine sahiptir.

1.19 SEM-EDX Analizi

1.19.1 Tedavi gruplarının ortalama atomik %Ca değerlerinin karşılaştırılması

Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve tedavi sonrası atomik %Ca değerlerinin grup içi kıyaslanması tablo 4-2’de gösterilmiştir.

Tablo 0-2:Başlangıç, Demineralizasyon ve Tedavi Sonrası SEM-EDX Atomik Ca Değerleri Tablosu

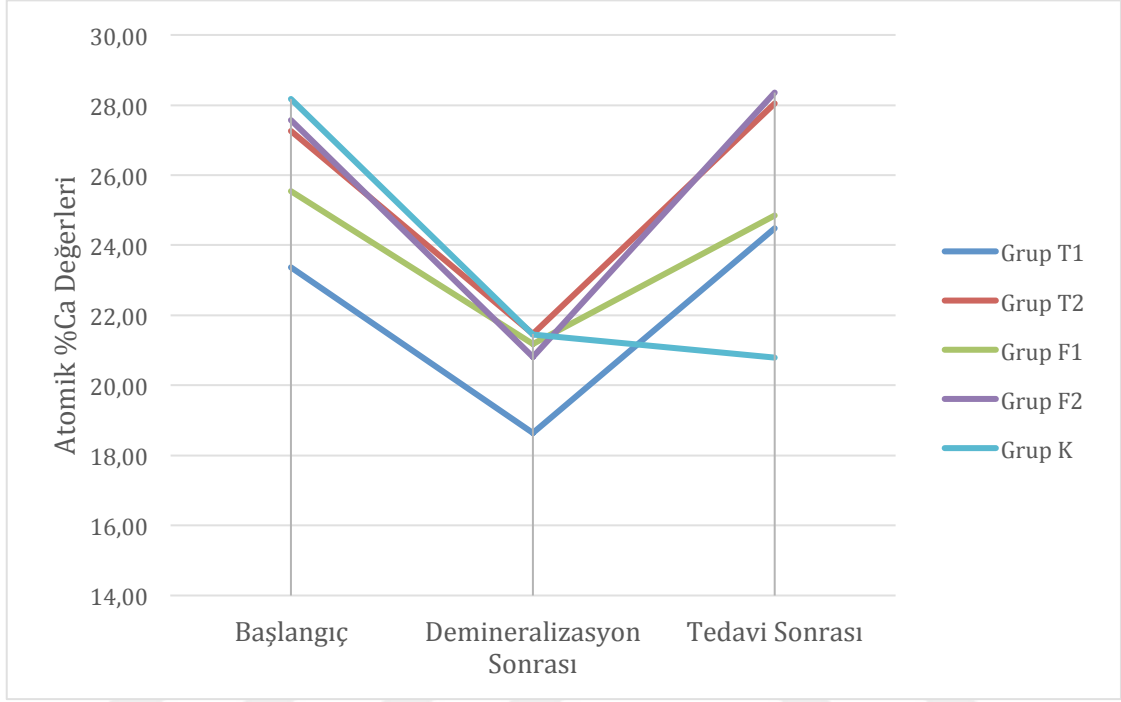
	<i>Grup T1</i> (n:10)	<i>Grup T2</i> (n:10)	<i>Grup F1</i> (n:10)	<i>Grup F2</i> (n:10)	<i>Grup K</i> (n:10)
<i>Başlangıç</i>	23.37±4.4 Aa	27.26±4.68 Aa	25.55±4.81 Aa	27.58±2.89 Aa	28.17±2.56 Aa
<i>Demineralizasyon Sonrası</i>	18.64±4.94 Ba	21.46±4.66 Ba	21.18±3.56 Ba	20.81±3.18 Ba	21.45±4.48 Ba
<i>Değişim</i>	-4.73±2.29	-5.80±3.08	-4.36±2.48	-6.76±3.78	-6.71±2.94
<i>Tedavi Sonrası</i>	24.49±3.08 Cab	28.05±2.65 Cb	24.84±3.68 Cab	28.36±3.99 Cb	20.79±3.26 Ba
<i>Değişim</i>	5.85±4.61	6.59±3.56	3.65±3.46	7.54±4.16	-0.66±3.06

Aynı sütun içerisinde farklı büyük harf istatistiksel anlamlılığı, aynı satır içerisinde farklı küçük harf istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

Grupların kendi içinde değerlendirmesinde Paired-T Sample Test kullanılmıştır. Bu teste göre;

- Tüm gruplarda başlangıç ve demineralizasyon sonrası atomik %Ca değerleri kıyaslandığında; başlangıç değerlerine göre atomik %Ca değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0,05$).

- Tüm gruplarda tedavi sonrası atomik %Ca değerleri demineralizasyon sonrası atomik %Ca değerleri ile kıyaslandığında, tedavi sonrası değerleri kontrol grubu hariç tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$).



Şekil 0-2: Atomik %Ca değerleri grafiği

Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası atomik %Ca değerlerinin gruplar arası kıyaslanması tablo 4-2’de gösterilmiştir. Gruplar arası kıyaslamada; gruplar arasında fark olup olmadığını karşılaştırmak amacıyla ‘One Way ANOVA’ testi uygulanmıştır. Bu teste göre;

- Başlangıç ve demineralizasyon sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Tedavi sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$).

Hangi gruplar arasında farklılık olduğu ve ne düzeyde anlamlı olduklarını tespit edebilmek amacıyla “One Way ANOVA” testine ek olarak “Tukey” testi uygulanmıştır. Tedavi sonrası örneklerdeki atomik %Ca değişiminin gruplar arası değerlendirmesinde;

- Tedavi sonrası T2 ve F2 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış atomik %Ca değerleri bulunmuştur ($p<0,05$).
- Tedavi sonrası T1 ve F1 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında ortalama %Ca değerleri daha fazla bulunmuştur ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Tedavi sonrası T1, T2, F1 ve F2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamazken ($p>0,05$), değerlere göre karşılaştırılma yapıldığında sıralama $F2> T2> F1> T1$ şeklindedir.

1.19.2 Tedavi gruplarının ortalama atomik %P değerlerinin karşılaştırılması

Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve tedavi sonrası atomik %P değerlerinin grup içi kıyaslanması tablo 4-3’de gösterilmiştir.

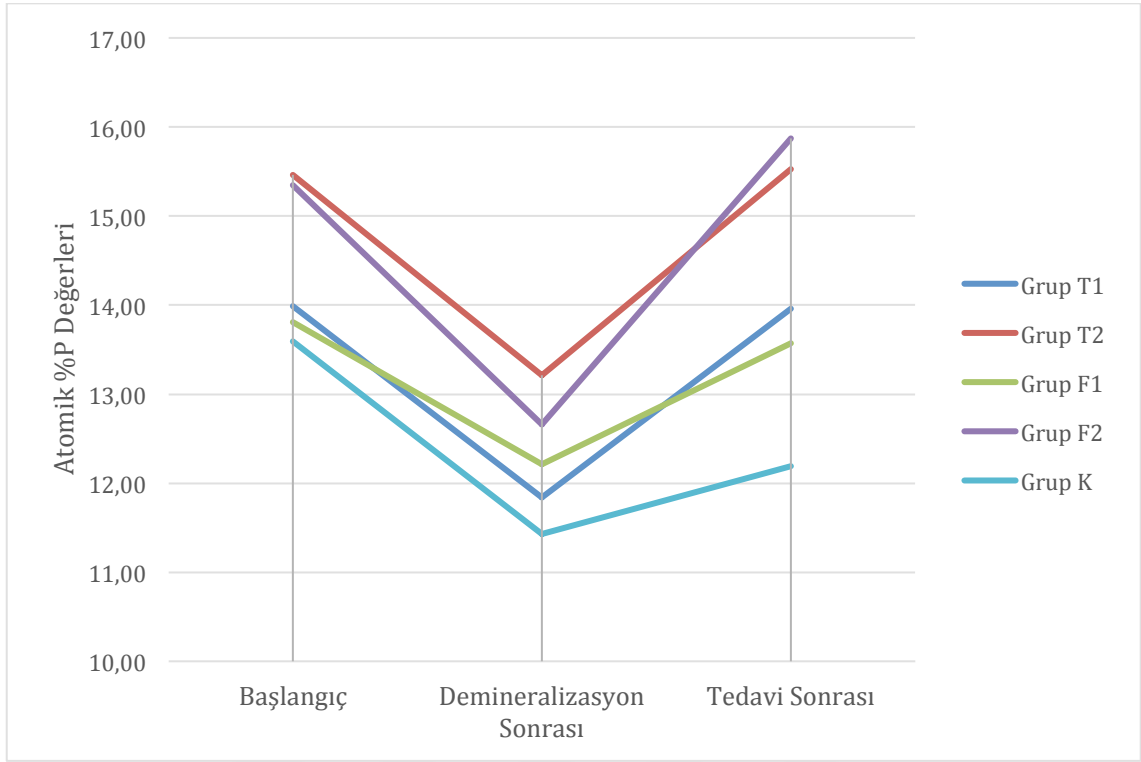
Tablo 0-3: Başlangıç, Demineralizasyon ve Tedavi Sonrası SEM-EDX Atomik P Değerleri Tablosu

	<i>Grup T1</i> (n:10)	<i>Grup T2</i> (n:10)	<i>Grup F1</i> (n:10)	<i>Grup F2</i> (n:10)	<i>Grup K</i> (n:10)
<i>Başlangıç</i>	13.99±2.42 Aa	15.46±2.3 Aa	13.81±2.33 Aa	15.35±2.01 Aa	13.59±2.4 Aa
<i>Demineralizasyon Sonrası</i>	11.84±2.5 Ba	13.21±1.89 Ba	12.21±1.68 Ba	12.66±1.26 Ba	11.43±2.21 Ba
<i>Değişim</i>	-2.15±0.48	-2.25±1.02	-1.59±1.2	-2.69±1.27	-2.16±0.62
<i>Tedavi Sonrası</i>	13.96±2.47 Cab	15.53±1.51 Cb	13.57±1.59 Cab	15.87±1.14 Cb	12.19±2.48 Ba
<i>Değişim</i>	2.12±0.74	2.32±0.86	1.36±0.56	3.2±1.07	0.75±0.85

Aynı sütun içerisinde farklı büyük harf istatistiksel anlamlılığı, aynı satır içerisinde farklı küçük harf istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

Grupların kendi içinde değerlendirmesinde Paired-T Sample Test kullanılmıştır. Bu teste göre;

- Tüm gruplarda başlangıç ve demineralizasyon sonrası atomik %P değerleri kıyaslandığında; başlangıç değerlerine göre değerler istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,05$).
- Tüm gruplarda tedavi sonrası atomik %P değerleri demineralizasyon sonrası atomik %P değerleri ile kıyaslandığında, tedavi sonrası değerleri kontrol grubu hariç tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$).



Şekil 0-3: Atomik P değerleri grafiği

Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası atomik %P değerlerinin gruplar arası kıyaslanması tablo 4-3’de gösterilmiştir. Gruplar arası kıyaslamada; fark olup olmadığını karşılaştırmak amacıyla ‘One Way ANOVA’ testi uygulanmıştır. Bu teste göre;

- Başlangıç ve demineralizasyon sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Tedavi sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$).

Hangi gruplar arasında farklılık olduğu ve ne düzeyde anlamlı olduklarını tespit edebilmek amacıyla “One Way ANOVA” testine ek olarak “Tukey” testi uygulanmıştır. Tedavi sonrası örneklerdeki atomik %P değişiminin gruplar arası değerlendirmesinde;

- Tedavi sonrası T2 ve F2 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış atomik %P değerleri bulunmuştur ($p<0,05$).

- Tedavi sonrası F1 ve T1 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında ortalama %P değerleri daha fazla bulunmuştur ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Tedavi sonrası T1, T2, F1 ve F2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamazken ($p>0,05$), değerlere göre karşılaştırılma yapıldığında sıralama $F2>T2>T1>F1$ şeklindedir.

1.19.3 Tedavi gruplarının ortalama atomik %Ca/P oranlarının karşılaştırılması

Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve tedavi sonrası atomik %Ca/P değerlerinin grup içi ve gruplar arası kıyaslanması Tablo 4-4’de gösterilmiştir.

Tablo 0-4: Başlangıç, Demineralizasyon ve Tedavi Sonrası SEM-EDX Atomik Ca/P Değerleri Tablosu

	<i>Grup T1</i> (n:10)	<i>Grup T2</i> (n:10)	<i>Grup F1</i> (n:10)	<i>Grup F2</i> (n:10)	<i>Grup K</i> (n:10)
<i>Başlangıç</i>	1.7±0.35 Aa	1.79±0.37 Aa	1.86±0.28 Aa	1.83±0.34 Aa	2.1±0.25 Aa
<i>Demineralizasyon Sonrası</i>	1.62±0.47 Aa	1.65±0.4 Aa	1.73±0.19 Aa	1.66±0.32 Aa	1.87±0.14 Aa
<i>Değişim</i>	-0.07±0.2	-0.14±0.26	-0.12±0.23	-0.16±0.31	-0.23±0.31
<i>Tedavi Sonrası</i>	1.8±0.41 Aa	1.81±0.17 Ba	1.84±0.29 Aa	1.79±0.26 Aa	1.73±0.2 Ba
<i>Değişim</i>	0.17±0.39	0.16±0.27	0.1±0.28	0.13±0.32	0.13±0.27

Aynı sütun içerisinde farklı büyük harf istatistiksel anlamlılığı, aynı satır içerisinde farklı küçük harf istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

Grupların kendi içinde değerlendirmesinde Paired-T Sample Test kullanılmıştır. Bu teste göre;

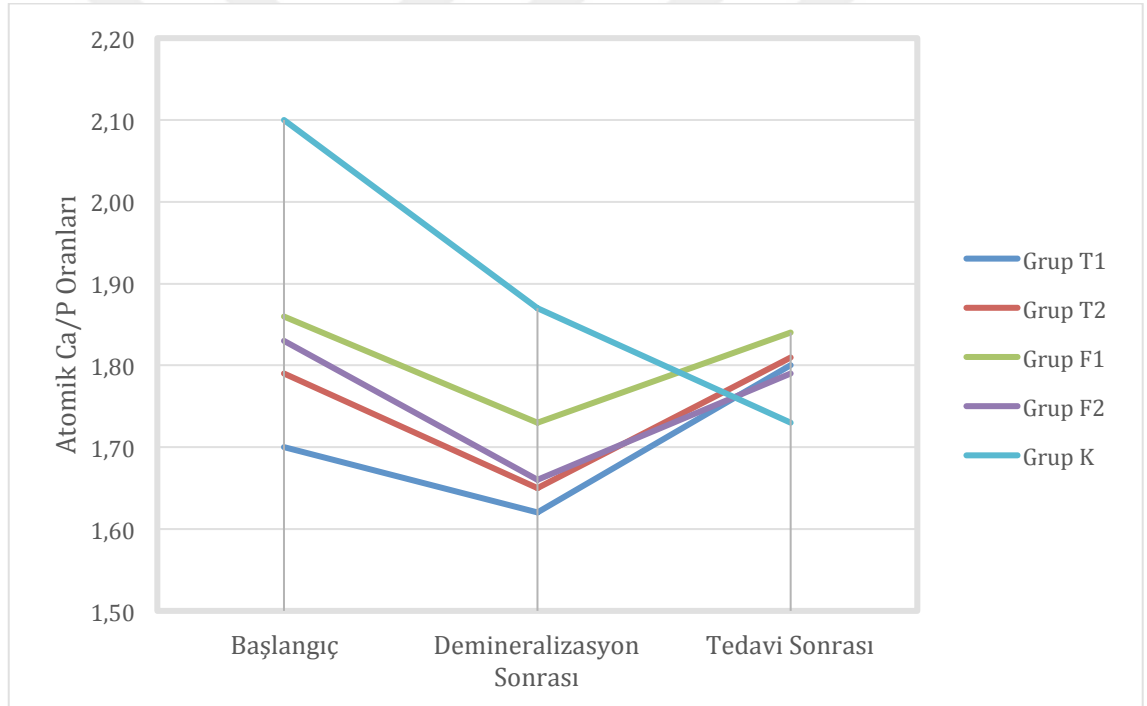
- K, F1, T1 ve F2 gruplarının başlangıç, demineralizasyon sonrası ve tedavi sonrası atomik %Ca/P değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermemiştir ($p>0,05$).
- T2 grubunda tedavi sonrası %Ca/P değerleri, demineralizasyon sonrası değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermiştir ($p<0,05$).

Gruplar arası kıyaslamada; fark olup olmadığını karşılaştırmak amacıyla ‘One Way ANOVA’ testi uygulanmıştır. Bu teste göre;

- Başlangıç ve demineralizasyon sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Tedavi sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$).

Hangi gruplar arasında farklılık olduğu ve ne düzeyde anlamlı olduklarını tespit edebilmek amacıyla “One Way ANOVA” testine ek olarak “Tukey” testi uygulanmıştır.

- Tedavi sonrası T1, T2, F1 ve F2 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış %Ca/P değerleri tespit edilmiştir ($p<0,05$).
- Tedavi sonrası T1, T2, F1 ve F2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).



Şekil 0-4: Atomik %Ca/P grafiği

TARTIŞMA

Ağız sağlığı genel sağlığın önemli bir bölümünü oluşturmaktadır ve diş çürüğü dünya üzerinde özellikle çocuklarda en yaygın görülen polimikrobiyal ağız hastalığı olarak kabul edilmektedir (103). Diş çürüğünün tanımı “bakteriyel metabolizmalar sonucu açığa çıkan asitlerin, diş sert dokularında mineral çözünmesine neden olduğu bulaşıcı bir hastalık” şeklinde yapılmaktadır (47,104). Hastalık başlangıçta geri dönüşü olmayan ve diş sert dokularında yıkımla karakterize ilerleyici bir demineralizasyon olarak kabul edilirken, güncel kabul hastalığın, tek yönlü bir süreç olmadığı ve birbirini takip eden döngü şeklindeki demineralizasyon-remineralizasyon olaylarını içerdiği şeklindedir. Başlangıç mine lezyonunun ilerlemesi ya da tamir olması koruyucu ve patolojik faktörler arasındaki dengeye yani çürük balansına bağlıdır. Son 10 yılda hastalık ile doğrudan ilişkili mikrobiyoloji, tükürük, dişin yapısı ve mineral kompozisyonu, difüzyon süreçleri, demineralizasyon-remineralizasyon kinetiği, sürecin tersine çevrilmesine yardımcı faktörlerin daha iyi anlaşılması ile çürük süreci çok daha iyi tanımlanmıştır. Bu da hastalığa yaklaşımda daha yapıcı kararlar verilmesine ve tedavi yaklaşımlarının gözden geçirilmesine neden olmuştur (1,47,104).

Başlangıç mine çürükleri; beyaz nokta lezyonu, başlangıç çürüğü, kaviteleşmemiş çürük lezyonu şeklinde de ifade edilebilmektedir (105,106). Çürük çok hızlı gelişen bir oluşum değildir ve kavitasyon oluşabilmesi için genellikle 3-4 yıllık bir süre gerekmektedir (57). Minede lezyonun başlamasından dentin dokusuna ulaşmasına kadar geçen süre, genellikle koruyucu ve onarıcı tedavileri kullanarak süreci kesintiye uğratabilecek kadar uzundur. Modern tespit yöntemleri ve erken tanı; çürüğün klinik aşamalarının takip edilebilmesine ve eğer oral ekosistemindeki parametreler olumlu yönde değiştirilirse koruyucu uygulamalarla lezyonda iyileşme sağlanabilmesine imkan tanımaktadır. Koruyucu uygulamalar çürük sürecini etkin bir şekilde durdurabilir ve hatta tamamen tersine çevirebilir (107,108). Bunu başarabilmek için diş çürüğü bütüncül bir şekilde ele alınmalı, koruyucu yöntemlerin ve hastanın aktif katılımının gerekliliği vurgulanmalıdır (20,109).

Koruyucu yaklaşımlarda birinci hedef sağlıklı diş dokusunda yeni çürük lezyonlarının oluşumunu önlemektir. İkinci hedef ise mevcut başlangıç lezyonlarını durdurmak ve kontrol altına almaktır (64,110). Koruyucu tedavilerin çürük sürecindeki öneminin daha

iyi anlaşılabilmesi ve operatif-restoratif tedavilerle eşit hatta daha ciddi öneme sahip olduğunun vurgulanabilmesi amacı ile koruyucu tedaviler artık non-operatif tedaviler olarak adlandırılmaktadır (56,60). Kaviteasyon oluşmamış lezyonlarda girişimsel olmayan yaklaşımlar, özellikle çocuk hastalarda, korku ve tedirginlik oluşturan lokal anestezi, çürük doku ile birlikte sağlam dokunun uzaklaştırılması, sedasyon/genel anestezi gerekliliği gibi bazı uygulamaları ortadan kaldırır ve oluşabilecek çürük/hastalık riskini azaltır (111).

Diş çürüklerine güncel yaklaşımda aşağıdaki basamaklar takip edilmelidir (20,112);

- Çürüklerin saptanması ve çürüğün boyutsal değerlendirilmesi (çürük tipi, çürükle ilişkili histopatolojik değişiklikler).
- Lezyonun tanımlanması; remineralizasyon mu restorasyon mu yapılacağına belirlenmesi.
- Bireysel çürük riskinin belirlenmesi.
- Diagnostik/prognostik/tedavi parametrelerinin değerlendirilmesi; tedavinin koruyucu ya da restoratif diş hekimliği kapsamında yapılması
- Periyodik takip ve hastanın izlenmesi

20. yy'nin başlarında Dr. McKay'in, dişlerde florid sebebiyle oluşan renklenmeleri ve bu dişlerde daha az çürük görüldüğünü tesadüfi olarak farketmesi ile florid şu ana kadar en yaygın kullanılan remineralizasyon ajanı olmuştur. Diyet konusunda gerekli düzenlemeler yapıldıktan sonra florid, HAP kristalinin minerallerini stabilize eder, bakterisidal özelliklere sahiptir, daha güçlü mineral yapıları ile remineralizasyon sağlar ve gelecekte meydana gelebilecek yıkımlara karşı diş önemli ölçüde dayanıklı hale getirir (66). Özellikle sürme sonrası süreçte, demineralizasyon-remineralizasyon olayları gün boyunca devam ederken, plakta ve oral sıvılarda sürekli florid varlığı, çürük oluşumunun azaltılmasında en büyük etkiye sahiptir (71,113–115). Ancak floridin sadece yüzeysel mine tabakasında remineralizasyon sağladığını ve çürük prevelansını azalttığı halde çürüğü tam olarak önlemediğini gösteren in vitro ve in vivo çalışmalar da mevcuttur (116,117).

Florid içerikli diş macunları çürüklerden korunmada yıllardır ciddi bir kabul görmektedir ve ilk florid içerikli macun 1955 yılında üretilmiştir (118). Florid ağız bakımında altın standart olarak kabul edilse de, florid içerikli tüm diş macunlarında “6 yaşından küçük çocukların ulaşamayacağı yerlerde saklayınız. Eğer fırçalama esnasında

yanlışlıkla yutulursa tıbbi bir yardım alınız ya da zehir kontrol merkezine başvurunuz” şeklinde bir uyarı mevcuttur. Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliği (AAPCC) Ulusal Zehir Verileri tarafından 2011 yılında yayınlanan bir raporda, florid içerikli diş macunlarının yutulması ile ilgili 21513 başvuru olduğu bildirilmiştir (119,120).

AAPD, 2 yaşından itibaren bezelye büyüklüğünde macun ile diş fırçalamayı tavsiye etmektedir. Ancak 1-3 yaş arası çocuklar macunun %30-75’ini yutmaktadır. Çocuklar için üretilen macunların meyvelerle aromalandırılmış olması, diş macunlarının tavsiye edilenden daha fazla miktarlarda kullanımına ve çocukların aşırı florid almasına neden olur. 2 yaşındaki bir çocuğun macunu tükürmesini sağlamak, tadının güzel olması nedeni ile çok zordur (121). Aşırı miktarda florid alımı gelişmekte olan dişlerde kalıcı renklenmelere (fluorozis) yol açar (122). Çocuklarda fazla florid alımı ile IQ düşüklüğü (123,124), artmış kemik fluorozis riski (125), erkek çocuklarda osteosarkom (126), uyku paternlerinde ve sirkadyen ritimde bozulmalar (127) ve potansiyel tiroid hastalıkları (128) ile ilgili çalışmalar mevcuttur.

Bildirilmiş olası yan etkiler, çocukların özellikle gelişim dönemlerinde çok miktarda floride maruz kalmalarının onların gelecek sağlıklarını nasıl etkileyeceği sorusunu akıllara getirmektedir. Diş çürükleri ile mücadelede floridin etkili bir ajan olduğu kanıtlanmış olsa da, yan etkileri ile ilgili geçmişte ve günümüzde birçok durumun rapor edilmiş olması, florid kullanımı ile ilgili bazı şüphelerin ortaya çıkmasına neden olmuştur (129). Bu durum son yıllarda alternatif tedavi yaklaşımlarını gündeme getirmiştir. Başlangıç mine çürüklerinin tedavisi ile ilgili yapılan güncel çalışmalarda, topikal floridlere alternatif olabilecek değişik formülasyonlardaki ajanların remineralizasyon etkinlikleri de araştırılmaktadır (130).

Son yıllarda başlangıç çürük lezyonlarının tedavisinde potansiyel iyileştirici etkisi olabilecek doğal biyolojik aktif bileşiklere artan bir ilgi duyulmaktadır (131,132). Araştırmacılar farklı yiyecek ve içecekleri (çay, kahve, üzüm, propolis, shitake mantarları, kakao çekirdeği, geleneksel otlar vb.) olası faydalarını bulabilmek amacı ile incelemişlerdir (133–135). Yapılan çalışmalar doğal ürünleri demineralizasyon/remineralizasyon dengesini değiştirme kabiliyetleri ve antibakteriyel etkileri yönünden değerlendirmektedir (10).

Floridin yan etkileri göz önünde bulundurularak yeni remineralizasyon ajanı arayışının yoğunlaştığı son yıllarda, kafeinin gelişmekte olan dişler üzerindeki etkileri

araştırılırken tesadüfi olarak keşfedilen ve kakaonun temel alkaloidi olan teobromin ciddi ilgi görmeye başlamıştır. Nakamoto ve ark.'ın in vitro kristalizasyon çalışmalarına kadar çikolata ile ilgili yapılmış tüm çalışmalar çikolatanın diş çürüklerini önleyebilecek bazı bileşenlere sahip olduğunu iddia etmiştir. Ancak yapılan çalışmaların hiçbirinde hangi kimyasal maddenin kesin olarak etkili olduğu bulunamamıştır. Nakamoto ve ark.'ın yaptıkları kristalizasyon çalışması tesadüfi olarak teobrominin HAP kristallerini büyüttüğünü bularak çikolata ve kakao içerisindeki etkili kimyasalın bulunmasını da sağlamıştır. Bu çalışma teobrominin diş hekimliği alanına girişindeki temel çalışmadır (84,85).

Nakamoto ve ark.; teobrominin floridenden çok daha güvenli ve yan etkisi olmayan bir madde olduğunu, nasıl florid 20. yy'de diş çürüklerinin önlenmesinde esas kabul edilmişse, teobrominin de 21. yy'de benzer bir rol oynayacağını iddia etmektedir (75). Ancak teobrominin etkinliğinin kesinleşebilmesi ve kanıtlanabilmesi için daha fazla in vitro ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bu bilgiler ışığında; in vitro tez çalışmamız deneysel pH siklus modeli kullanılarak oluşturulan demineralizasyon-remineralizasyon süreçleri boyunca uygulanan teobromin ve floridin mine başlangıç çürük lezyonları üzerindeki remineralize edici etkisini değerlendirmek amacıyla planlanmış ve uygulanmıştır. Test edilen hipotez; başlangıç çürük lezyonu olan dişlerde güncel bir çürük önleyici ajan olan teobrominin, florid ile benzer ya da daha üstün remineralizasyon etkisi gösterebileceğidir.

Başlangıç çürük lezyonlarına uygulanan tedavilerin etkinliklerinin değerlendirilmesinde sıklıkla üç çeşit çalışma modeli kullanılmaktadır; in vivo (136–138) , in vitro (139,140) ve in situ (141,142). Doğal bir deney ortamı sunan in vivo çalışmalar, etik problemlerle birlikte hasta kooperasyonu, tükürük kompozisyonu ve diyet içeriği gibi konularda standardizasyon sağlanamaması ve deney sonrasında kullanılacak ölçüm-değerlendirme tekniklerinin demineralizasyon-remineralizasyonu incelemede yetersiz kalması gibi dezavantajlara sahiptir (143,144).

İn vivo çalışmaların dezavantajları in situ ve in vitro çalışma modellerinin geliştirilmesine sebep olmuştur (144). İn situ modeller, hazırlanan aparey içerisine çalışma yüzeyleri yerleştirilerek ve ağız ortamı kullanılarak çürük sürecini taklit eden çalışma modelleridir. Ancak in situ çalışmalar da deneklerin uyumuna bağlıdır ve deneklerin çalışma protokolünü aksatması, sonuçları ciddi şekilde etkilemektedir ve

bireysel değişkenlerin kontrol altına alınabilmesi çok zordur (89).

İn vitro modellerde ağız ortamındaki şartlar taklit edilebilir. Kullanılan testler uygulanması kolay ve ucuzdur. Uygun şartlar hazırlandıktan sonra in vitro testlerde tek bir değişkenin etkisi değerlendirilebilir (145). İn vitro çalışmalarda tedavi ajanlarının klinik performansını yansıtabilecek önemli veriler elde edilmektedir. Bu sebeple ajanların klinik kullanıma girebilmesi için in vitro şartlarda yapılan çalışmaların önemi büyüktür (146). Literatürde özellikle başlangıç çürük lezyonlarının demineralizasyon-remineralizasyonlarının incelendiği çalışmalarda in vitro modellerin sıklıkla tercih edildiği görölmüştür (116,147–151). Bu sebeplerle çalışmamızda, ajanların başlangıç çürük lezyonları üzerindeki etkileri in vitro çalışma modeli kullanılarak değerlendirilmiştir.

Remineralizasyon ajanlarının etkinliklerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda kullanılacak yüzey, çalışmanın sonuçlarının güvenilirliği açısından önemlidir. İn vitro çalışmalarda insan dişleri (gömülü daimi dişler, düşme zamanı gelmiş süt dişleri, ortodontik amaçlı çekilmiş süt ve daimi dişler) kullanılabildiği gibi histolojik ve morfolojik olarak insan dişlerine benzerliği kanıtlanmış at, koyun, sığır ve domuz dişleri de kullanılabilmektedir (152). Gömülü daimi dişlerin mineralizasyonları tamamlanmadığı için demineralizasyona dayanıksız olmaları ve düşme zamanı gelmiş süt dişlerinin de mine tabakasında fazlasıyla deformasyon olması, bu dişlerin özellikle başlangıç mine çürüğü ve erozyon deneylerinde kullanımlarını kısıtlamaktadır. Ayrıca bireysel olarak değişen ağız bakım alışkanlıkları ve kullanılan ürünlerin farklılığı, genetik faktörler ve yaş dişlerin mineral yapısında farklılıklar olmasına ve böylece deneyin standardizasyonunun bozulmasına neden olmaktadır (153).

Kolay ulaşılabilirliği, homojen kompozisyonu ve deney prosedürlerine insan dişi gibi uyum sağlaması sığır dişlerinin in vitro çalışmalarda sıklıkla tercih edilmesine neden olmuştur (154,155). Sığır dişlerinden elde edilen mine örnekleri insan dişleri ile benzer kristal dizilimi ve kalsiyum dağılımı (kalsiyum yüzeyden mine dentin sınırına doğru azalır) gösterir. Aynı amino asitlerden oluşan mine matriks proteinlerine sahiptir (156). Sığır ve insan dişleri kullanılarak yapılan bir mikrosertlik çalışmasında işlem öncesi ve sonrası mikrosertlik değerleri aynı bulunmuştur (157). İnsan dişlerine göre daha büyük kristallere sahip olmaları ve demineralizasyonun 3 kat hızlı ilerlemesi yüzeyde meydana gelen değişikliklerin daha kolay gözlemlenebilmesine imkan tanımaktadır (158). Sığır

dişlerinde oluşturulan yapay çürük lezyonları insan dişindeki ile benzer mineral dağılımı göstermektedir. Büyük boyutları sayesinde aynı diştten birden fazla örnek elde edilebilmesine imkan tanımaktadır (159,160). Çalışmamızda bu avantajları nedeni ile sığır dişleri tercih edilmiştir. SEM-EDX ve mikrosertlik analizi için kullanılacak örnekler aynı sığır dişinden hazırlanmış ve böylece daha sağlıklı sonuçlar elde edilebilmiştir. Örneklerin elde edildiği dişler mineralizasyon yönünden standardizasyon sağlayabilmek amacı ile aynı bölgede yetişmiş 2-3 yaş arasında hayvanlardan seçilmiştir.

Çalışmalardan geçerli sonuçlar elde edebilmesi için planlama aşamasında yeterli büyüklükte örneklem genişliği tahmini gerekir. Bunun amacı; proje kaynaklarının ve emeklerinin boşa harcanmasını, gereğinden küçük örnekle çalışarak düşük güce sahip sonuçlu bir çalışma yapmayı ve gereğinden büyük örnekle çalışarak klinik olarak anlamlı olmayan uygulamaların anlamlı çıkmasını engellemektir (161). Çalışmamızda güç analizi Gaziantep üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda istatistik uzmanı tarafından yapılmıştır. Analize göre %5 yanılma ve %80 güç ile sığır dişlerinde her bir gruptan en az 10 denek alınması gerektiği hesaplanmış ve çalışma grupları buna göre oluşturulmuştur.

İn vitro çalışmalarda kullanılacak olan dişlerin deney sürecine kadar uygun bir ortam içerisinde saklanması gerekmektedir. Saklama ortamı olarak formaldehit, sodyum hipoklorit, gluteraldehit, timol ve distile su gibi solüsyonlar kullanılabilir (162,163). Timol solüsyonları, saklanan dişlerin yapısında ve sertliğinde bir değişime neden olmamaları ve antiseptik etki göstermeleri nedeni ile sıklıkla tercih edilmektedir (164). Bu özellikleri nedeni ile çalışmamızda %0.1'lik timol solüsyonu kullanılmıştır.

Çalışmamızda standardizasyonu sağlamak amacı ile her bir sığır dişinden, mikromotor ve elmas separe kullanılarak, iki mine örneği elde edilmiştir. Örneklerden biri mikrosertlik çalışması için kullanılırken diğeri SEM-EDX çalışması için kullanılmıştır. Mikrosertlik çalışmasında kullanılacak örnekler özel olarak hazırlanmış teflon kalıplar kullanılarak akrilik içerisine gömülmüştür. SEM-EDX çalışmasında kullanılacak örnekler ise cihaza yerleştirme güçlüğü nedeni ile herhangi bir kalıplama işlemi yapılmamıştır.

Mikrosertlik ölçümleri sırasında uygulanan kuvvetin doğru bir açı ile gelebilmesi ve gerçek sonuçlar elde edilebilmesi için örnek tabanına paralel düz ve pürüzsüz yüzeyler

elde edilmesi gerekmektedir (100). Anatomik mine yüzeylerinde yapay çürük lezyonu oluşturmanın zor olduğunu bildiren bazı araştırmacılar çalışmalarında düz yüzeyleri tercih etmiştir. Yüzeyin düzleştirilmesi işlemi esnasında mine dokusu içerisinde kalacak şekilde 150 nm aşındırma yapılmasının yeterli olduğu savunulmuştur (165). Sığır dişlerinin yüzeyi insan dişlerine göre daha pürüzlü ve engebeli bir yapıda olduğu için kullanılan dişlerin bukkal yüzeyleri Lippert ve ark.'ın çalışmaları ile benzer şekilde cilalama cihazı ve sırası ile 2400-4000 gritlik alüminyum oksitli abraziv kağıt diskler kullanılarak, mine sınırları içinde kalacak şekilde, zımparalanmıştır (166). Sonrasında örneklerin yüzeyleri mikroskop altında incelenmiş ve istenilen pürüzsüz düz yüzeyler elde edilememişse zımparalama işlemi tekrarlanmıştır. Cilalama işlemi keçe ve alümina süspansiyonu kullanılarak yapılmıştır.

Zımparalama, cilalama ve kalıplama işlemi sonrasında mikrosertlik örneklerinin yüzeyinde 4x4mm²'lik pencereler (166), SEM-EDX örneklerinin mine yüzeylerinde 3x3mm²'lik pencereler (167) oluşturulmuştur. Dişin suyunu kaybederek kurumasını ve elde edilecek sonuçlardaki sapmaları önlemek amacıyla örnekler hazırlandıktan sonra çalışmanın bitimine kadar sürekli distile su içerisinde bekletilmiştir (168) ve siklus boyunca tüm yıkama işlemleri deiyonize su kullanılarak yapılmıştır. Deiyonize su ile yıkamalarda çalışılan diş dokusunda herhangi bir iyon geçişi ve değişimi olmadığı bildirilmektedir (169).

Çalışmamızda remineralizasyon etkinlikleri araştırılan teobromin ve floridin hazır preparatları kullanılmamış olup, test edilecek ajanın etkisini direk olarak değerlendirebilmek amacı ile solüsyonlar laboratuvar şartlarında hazırlanmıştır. Farklı çalışmalarda teobromin ve floridin çalışmamızda kullanılan dozları test edilmiş olsa da, araştırmamızda aynı çalışma protokolü içerisinde sık kullanılan dozlarının karşılaştırılmalı olarak test edilmesi amaçlanmıştır.

Fluorid içerikli diş macunlarının çürük önleme potansiyelleri macunların özellikle florid konsantrasyonundan etkilenmektedir. Diş macunlarındaki florid konsantrasyonu 500-1500 ppm arasında değişmektedir. Süt ve daimi dişlerde diş çürüklerinin kontrol altına alınabilmesi için florid konsantrasyonunun en az 1000 ppm olması gerektiği yönünde kanıtlar olsa da bu konsantrasyon özellikle küçük yaş grubundaki çocuklarda fluorozis riski yönünden endişe uyandırmaktadır. Yutma ve fluorozis riski nedeni ile birçok ülkede düşük florid konsantrasyonuna sahip diş macunları (<1000 ppm) fluorozis riskini azaltmak amacıyla alternatif olarak satışa sunulmuştur ve özellikle okul

öncesi çocuklara tavsiye edilmektedir (170–172). Çalışmamızda çocuklarda sıklıkla tercih edilen macunlardaki 500 ppm florid konsantrasyonu ile dünya üzerinde özellikle yetişkin kullanımında en sık tercih edilen 1450 ppm florid konsantrasyonu oluşturacak şekilde laboratuvar şartlarında hazırlanmış iki ayrı solüsyon kullanılmıştır.

Teobromin güncel bir çürük önleyici ajan olduğundan ve etkin dozaj bilinmediğinden mevcut çalışmalarda farklı dozlar üzerinde çalışılmıştır. Sadeghpour ve ark. tarafından yapılan çalışmada geniş bir doz aralığı üzerinde (1 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 200 mg/L ve 500 mg/L) teobrominin etkinliği incelenmiştir (12). Amaechi ve ark. tarafından yapılan çalışmada 200 mg/L teobromin konsantrasyonunun kristalit boyutunda arzu edilen artışı sağlayabilen etkili bir konsantrasyon olduğu bulunmuştur (11). Kargül ve ark. tarafından yapılan çalışmada 100 mg/L ve 200 mg/L teobrominin mikrosertlik üzerindeki etkileri karşılaştırılmış ve 200 mg/L teobromin daha etkili olduğu bulunmuştur (74). En yüksek teobromin dozu (500 mg/L) ticari kakao tozu içinde bulunan ortalama teobromin seviyesine tekabül eder ve teobrominin su içerisindeki üst çözünürlük limitini temsil eder. Bu nedenle çalışmamızda 200 mg/L ve 500 mg/L teobromin içerikli solüsyonlar hazırlanmıştır ve etkinlikleri açısından karşılaştırılmıştır.

Yapay çürük lezyonları; diş sert dokularında özel hazırlanmış solüsyonlar kullanılarak oluşturulan ve doğal çürüklerin histolojik özelliklerini gösterebilen lezyonlardır. İn vitro remineralizasyon çalışmalarında yapay olarak oluşturulmuş mine ve dentin lezyonları sıklıkla kullanılmaktadır ve bu amaçla kullanılan çok sayıda yapay çürük modeli vardır (116,150,173–180). Uygulamalar arasındaki temel farklılık solüsyonun kimyasal kompozisyonu ve doygunluk derecesidir (181). Çalışmamızda deney materyallerinin başlangıç mine çürükleri üzerindeki etkinliklerinin değerlendirilmesi amaçlandığından, başlangıç mikrosertlik ve SEM-EDX değerlerinin belirlenmesi sonrasında, toplam 100 adet örneğin yüzeyinde yapay çürük lezyonu oluşturulmuştur.

Laboratuvar ortamında hazırlanan solüsyon ya da jellerin örnek yüzeylerine uygulanma süreleri 16 saat-6 hafta arasında değişir ve uygulama süresi farklı yapılarda lezyonlar oluşmasını sağlar (182–187). Queiroz ve ark. sığır dişlerinde düşük dozda floridin etkinliğini araştırmayı amaçladıkları çalışmalarında yaptıkları bir ön çalışmada hazırladıkları örnekleri demineralizasyon solüsyonunda 8-64 saat arasında bekletmişlerdir. Saat aralarında yaptıkları mikroskop incelemeleri sonucunda 32 saatin mine örneklerinde yüzey erozyonuna neden olmadan çürük benzeri yüzey altı lezyonları

oluşturulması amacı ile uygun süre olduğuna karar vermişlerdir (101). Bu araştırmacıların yaptıkları çalışma referans alınarak örnekler 32 saat aynı demineralizasyon solüsyonu içerisinde bekletilmiştir.

İn vitro araştırmalarda çürük sürecini simule etmek ve remineralizasyon ajanlarının çürük önleyici özelliklerini değerlendirmek amacı ile kullanılan iki ana model vardır. Birinci model biyolojik bir modeldir ve dental plak oluşturan mikroorganizmaları kullanır. İkinci model kimyasaldır ve asitleri kullanır (87). Kimyasal modelde asit tamponlar ya da pH siklusu sistemleri kullanılmaktadır. Modern pH siklus modelleri Ten Cate ve Duijsters tarafından geliştirilmiştir (165) ve çürük sürecinin iyi bir taklidini sağladığı için, in vitro koşullarda çürükle ilgili çalışmalar yapan araştırmacılar için tercih edilen bir yöntem olmuştur (166,188,189). Günümüzde artık pH siklus modelleri çok çeşitlilik kazanmıştır. Literatürde örneklerin demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarında bekletilme süreleri farklılık göstermektedir. Çalışmamızda Queiroz ve ark.'ın araştırmasındaki gibi örnekler günde iki kez bir saat olacak şekilde demineralizasyon çözeltisinde bekletilmiştir (101). Sonuç olarak örnekler 8 gün boyunca günde 2 saat demineralizasyon solüsyonunda, 22 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir.

pH siklus modelleri genel olarak minerallerin diş yüzeyinden uzaklaşması ya da çökmesine bağlı olarak ilerleyici (demineralizasyon) ve gerileyici (remineralizasyon) modeller olmak üzere ikiye ayrılır (86). Demineralizasyon modellerinde başlangıç olarak sağlam yüzeyler kullanılır. Remineralizasyon modellerinde yapay çürük lezyonu oluşturulmuş dişler kullanılır ve test edilen ajanın tedavi potansiyeline bağlı olarak lezyon alanındaki mineral kazanımının analizi ve ölçümü yapılır (89). Çalışmamızda yapay çürük lezyonları oluşturularak yapılan remineralizasyon modeli kullanılmıştır.

Remineralizasyon ajanlarının etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda örneklerin analizinde farklı yöntemler kullanılabilir. Bazı teknikler araştırmacılara çalışmanın sonucunu kantitatif olarak verirken bazıları kalitatif değerlendirmeye imkan tanımaktadır (95). Dişlerle ağız ortamı arasındaki etkileşimlerin etkisi ilk olarak yüzeyel mine tabakasında izlenir. Demineralizasyonda çözünen minerallerin etkisi ile yüzey sertliğinde azalma olurken, remineralizasyonda çökelen minerallere bağlı olarak bunun tam tersi gözlenir (190). Remineralizasyon ajanlarının in vitro şartlarda başlangıç çürük lezyonları üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde minenin yüzeyel tabakasının

mikrosertlik değişimleri değerlendirilir (175,176,191–193). Mikrosertlik testleri ile elde edilen veriler minenin mineral içeriği ile ilgili kalitatif sonuçlar elde edilmesine imkan tanır. Yöntemin avantajları deney sürecinde tekrarlanabilir ölçümlere imkan sağlaması, ucuz, hızlı ve kolay uygulanabilir bir yöntem olmasıdır. Çalışmamızda remineralizasyon ajanlarının yüzey sertliğine etkisi değerlendirmek amacı ile Knoop mikrosertlik testi kullanılmıştır. Minedeki kalsiyum kaybı ile Knoop mikrosertlik ölçümlerinin ilişkisini değerlendiren çalışmalarda özellikle derin olmayan başlangıç çürük lezyonlarında yüzeydeki Knoop girinti uzunlukları ile lezyon derinliği arasında güçlü doğrusal korelasyonlar bulunmuştur (194–196). Deneyleri takiben yapılan mikrosertlik ölçümlerinde bölgesel farklılıkların ortadan kaldırılabilmesi amacı ile 3 ayrı noktada iz oluşturulmuş ve bu izlerin ölçümlerinin ortalamaları alınmıştır.

Diş hekimliğinde genellikle diş sert dokularındaki minerallerin miktar ve dağılımlarını incelemek amacıyla enerji dağılımlı X ışını spektroskopisi (EDS, EDX veya XEDS) analizleri yapılmaktadır. EDX örneklerin mineral analizi ve kimyasal karakterizasyonunun tespiti için SEM ile birlikte kullanılan bir tekniktir (97). Başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonlarının incelendiği çalışmalarda sıklıkla SEM-EDX yöntemi kullanılmaktadır (197–199). Çalışmamızda uygulanan tedavi ajanlarının mine örneklerinin mineral düzeyinde oluşturduğu değişiklikler mikroanalitik bir teknik olan Enerji Dağılımlı X- Işını Spektroskopisi (EDX) kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda teobromin ve floridin remineralize edici etkilerinin değerlendirilmesi amacı ile mikrosertlik testi ve SEM-EDX analizi kullanılmıştır. Knoop yüzey mikrosertlik testi dişlerin fiziksel parametrelerindeki değişimi kalitatif olarak değerlendirmeye yardımcı olurken; SEM-EDX tekniği remineralizasyon ajanlarının uygulanmasını takiben minede meydana gelen kimyasal değişiklikleri ölçmeye yardımcı olmaktadır (200).

Teobromin çalışmalarının tarihçesi her ne kadar 1999 yılına (85) kadar uzansa da, literatürde teobrominin yüzey sertliğine ve Ca, P ve Ca/P değerlerine etkisini birlikte değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda çalışmamız ilk olma özelliği taşımaktadır.

Yüzeyel mine tabakasındaki mineral değişiklikleri doğrudan mikrosertlik değişimi ile ilgilidir. Remineralizasyon ile mine yüzeyinde artan mineraller yüzeyin mikrosertliğinin de artışına neden olmaktadır. Kargül ve ark.'ın 2012 yılında yaptıkları bir pilot

çalışmada teobrominin farklı konsantrasyonlarının mikrosertlik ve yüzey topografisi üzerindeki etkileri insan dişlerinden elde edilmiş mine örnekleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Üç gün boyunca asidik hidroksietilselülöz içerisinde bekletilerek yapay çürük lezyonu oluşturulan örnekler, 1 lt. distile su içerisinde çözölmüş 100 mg/l ve 200 mg/l teobromin solösyonları içerisinde 5 dakika boyunca bekletilmiştir. Sonrasında yapılan mikrosertlik ölçömlerinde 200 mg/l teobrominin 100 mg/l teobromine göre yüzey sertliğini daha fazla arttırdığı sonucuna varılmıştır. Teobromin gruplarının her ikisinde de yüzey topografisinde bir iyileşme olduğı izlenmiştir. Araştırmacılar çalışmalarının sonucunda teobrominin tüm dünyada yaygın olarak kullanılan fluoride alternatif olabilecek toksik olmayan bir bileşik olduğunu iddia etmişlerdir (74). Bizim çalışmamızın sonuçları Kargöl ve ark.'ın çalışması ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda doz artışına bağılı olarak teobrominin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüzey sertliğini arttırdığı bulunmuştur.

Nakamoto 1999-2001 yılları arasında yaptıkları çalışmalarla tesadöfi olarak buldukları teobromin ile ilgili daha ileri çalışmalar planlamış ve 2011 yılında Sadeghpour ile birlikte insan dişleri üzerinde ayrıntılı mikrosertlik testleri yaparak teobrominin etkinliği değerlendirilmişlerdir. Bu çalışmaları ile ABD patent dairesine teobrominin kabulü amacıyla başvurmuşlardır. Bu geniş kapsamlı çalışmada mine örnekleri yapay tükörük ile hazırlanmış farklı dozlardaki NaF ve teobromin solösyonları içerisinde günlük 30 dakika bekletilmiştir. Çalışmanın amacı bir diş macunu için gerekli optimum teobromin dozunun belirlenebilmesi olduğundan ve etkili konsantrasyonu bilinmediğinden teobrominin 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200 ve 500 mg/l konsantrasyonlarının etkinlikleri incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre fluorid miktarı ile karşılaştırıldığında daha sert mine yüzeyleri elde edebilmek için daha az teobromine ihtiyaç duyulmaktadır. İn vitro çalışmalarda mikrosertlik değeri yüksek olan dişler asit solösyonlarına maruz bırakıldığında dişlerin çözünmeye daha dirençli olduğı görölmüştür. Bu şekilde yüzey sertliği artan dişler diş çürüklerine karşı daha dirençli bir hale gelir. Elde edilen sonuçlar teobrominin fluorid içerikli diş macunlarına güvenli bir alternatif olabileceğini işaret etmektedir (12). Bizim çalışmamızda tedavi sonrası mikrosertlik değeri açısından tüm gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış mikrosertlik değeri bulunmuştur. Bu sonuç Sadeghpour ve Nakamoto'un çalışması ile uyum göstermektedir (12). Ayrıca teobrominin her iki konsantrasyonunda da fluoride yakın düzeyde mikrosertlik artışı gözlenmiştir. Ancak çalışmamızda F2

grubunun mikrosertlik artışı T2 grubu da dahil olmak üzere tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu durum Sadeghpour ve ark.'ın çalışması ile uyum göstermemektedir. Elde edilen sonuçların farklı olması iki çalışma arasındaki pH siklusu ve remineralizasyon ajanlarına maruz kalma sürelerinin farklı olması ile ilişkili olabilir.

Amaechi ve ark. 2013 yılında yaptıkları çalışmalarında teobromin ve standart NaF içerikli bir diş macununun remineralizasyon potansiyelini karşılaştırmışlardır. Çalışmada; yapay tükürük (kontrol grubu), yapay tükürük ile karıştırılmış teobromin (0,0011 mol/l) ve NaF (0,0789 mol/l F) grupları oluşturulmuştur. 28 günlük in vitro pH siklusu kullanılarak yapılan çalışmada, uygulamalar sonrasında örnekler SEM-EDX, yüzey mikrosertliği ve transvers mikroradyografi kullanılarak analiz edilmiştir. Yüzey mikrosertlik analizi sonuçlarına göre her iki grupta da başlangıç değerlerine göre yüzey sertliğinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Uygulanan analiz yöntemlerinde iki grup arasında farklılık bulunamaması teobromin ve florid içeren yapay tükürük solüsyonlarının benzer remineralizasyon potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmasına neden olmuştur. Amaechi ve ark. teobrominin HAP kristallerinin boyutlarında artış sağlama özellikleri sayesinde florid ile kıyaslanabilir seviyede remineralizasyonu artırıcı bir etkiye sahip olduğunu bildirmiştir (11). Bizim çalışmamızda Amaechi ve ark.'ın çalışmasındaki gibi pH döngüsü sonrasında mikrosertlik değerlerinde tüm gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış mikrosertlik değerleri bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmadan farklı olarak Grup F2'de mikrosertlik artışı tüm gruplardan fazla bulunmuştur. Bu farklılık iki çalışma arasında uygulanan pH döngüsünün farklı olması, solüsyonların hazırlanması sırasındaki farklılıklar ve karşılaştırılan ajanların konsantrasyonlarının farklı olması ile ilişkili olabilir. Ancak sonuç olarak her iki çalışmada da teobrominin remineralizasyonu artırıcı etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

2017 yılında Lippert ve ark. tarafından yapılan çalışmada florid, teobromin, stronsiyum ve kombine hallerinin mine örnekleri üzerinde oluşturulmuş yapay çürük lezyonları üzerindeki iyileştirici etkileri karşılaştırılmıştır. pH döngüsü kullanılarak yapılan bu in vitro çalışmada stronsiyumun yapay çürük lezyonlarını yalnızca florid ile kombine kullanımında remineralize edebildiği, teobrominin bu çalışmada seçilen koşullar altında tek başına remineralizasyon sağlamadığı ve stronsiyum ile teobromin arasında sinerjistik bir etkinin bulunmadığı sonuçlarına ulaşılmıştır (201). Çalışmamız

Lippert ve ark.'ın çalışması ile uyum göstermemektedir. Bizim çalışmamızda her iki teobromin grubunda remineralizasyon gerçekleştiği ve ayrıca teobrominin floride çok yakın düzeyde iyileştirici etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu farklılığın; çalışmalar arasındaki pH döngüsü başta olmak üzere deney düzeneğindeki farklılıktan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Remineralizasyon süreci diş sert dokularındaki mineral değişikliklerine bağlıdır. Saf hidroksiapatit yapıdaki Ca/P oranına en yakın değer insan diş minesinde ve sonra sıgır dişi minesindedir (202). Minedeki Ca, P elementlerinin seviyeleri ve Ca/P oranı dişlerin mineralizasyon derecesinin bir göstergesi olarak düşünülmektedir. HAP kristallerinin yapısındaki Ca, P ve Ca/P oranındaki azalma mekanik özelliklerde, yapının kristalleşmesinde, sertliğinde ve young modülünde azalma ile karşımıza çıkmaktadır. Çalışmamızda demineralize minede remineralizasyon ajanları tarafından oluşturulan değişiklikler SEM-EDX kullanılarak değerlendirilmiştir (93,203). Remineralizasyon ajanlarının etkinliklerinin değerlendirildiği çalışmalarda sıklıkla Ca, P ve Ca/P oranındaki artış ve azalmalar değerlendirilmektedir (204,205).

Amaechi ve ark.'ın 2013 yılında teobromin ve floridin remineralizasyon etkinliklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında lezyon yüzeyinde tedavi sonrasında Ca birikimi SEM-EDX kullanılarak değerlendirilmiştir. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamamasına rağmen teobromin ve NaF grubunda daha fazla mineral birikimi olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda Amaechi ve ark.'ın çalışmasına benzer şekilde tüm tedavi gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Ca birikiminde artış tespit edilmiştir ancak tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre teobrominin floride benzer şekilde Ca birikimini arttırdığı söylenebilir.

Yapılan literatür taramasında, çalışmamızda remineralizasyon etkinliği değerlendirilen teobrominin mine yüzeylerinde Ca/P oranına ve P değerlerine olan etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmadığı için teobrominin bu etkinliği başka çalışmalarla kıyaslanamamıştır. Bu çalışmada pH döngüsü ve remineralizasyon ajanları uygulaması sonrasında mine yüzeyinde Ca, P değerleri ve Ca/P oranlarında demineralize edilmiş haline oranla artış görülmüştür.

Çalışmamızda mikrosertlik ve SEM-EDX ölçümü ile elde edilen veriler birbirini desteklemektedir ve bu sonuçlar kullanılan ajanların remineralizasyon potansiyelleri olduğunu ifade etmektedir.



SONUÇ ve ÖNERİLER

Güncel bir çürük önleyici ajan olan teobrominin ve diş hekimliğinde koruyucu uygulamalarda altın standart olarak kabul gören floridin başlangıç çürük lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkinliklerinin karşılıklı olarak değerlendirildiği in vitro çalışmamızın sonuçlarına göre;

- Tüm gruplarda tedavi sonrası mikrosertlik değerleri demineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri ile kıyaslandığında, tedavi sonrası değerleri kontrol grubu hariç tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$).
- Tedavi sonrası T1, T2, F1 ve F2 grupları; K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış mikrosertlik değerleri bulunmuştur ($p<0,05$). Tedavi sonrası F2 ve T2 gruplarının mikrosertlik değerleri, T1 ve F1 gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). F2 ve T2 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, F2 grubunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek yüzey mikrosertliğine sahip olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). F1 ve T1 grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında tedavi sonrasında mikrosertlik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).
- Tüm gruplarda tedavi sonrası atomik %Ca değerleri demineralizasyon sonrası atomik %Ca değerleri ile kıyaslandığında, tedavi sonrası değerleri kontrol grubu hariç tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$).
- Tedavi sonrası T2 ve F2 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış atomik %Ca değerleri bulunmuştur ($p<0,05$). Tedavi sonrası T1 ve F1 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$). Tedavi sonrası T1, T2, F1 ve F2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).
- Tüm gruplarda, grup içi tedavi sonrası atomik %P değerleri demineralizasyon sonrası atomik %P değerleri ile kıyaslandığında, tedavi sonrası değerleri

kontrol grubu hariç tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$).

- Tedavi sonrası T2 ve F2 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış atomik %P değerleri bulunmuştur ($p<0,05$). Tedavi sonrası F1 ve T1 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında ortalama %P değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir ($p>0,05$). Ayrıca tedavi sonrası T1, T2, F1 ve F2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).
- K, F1, T1 ve F2 gruplarının başlangıç, demineralizasyon sonrası ve tedavi sonrası atomik %Ca/P değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermemiştir ($p>0,05$). T2 grubunda tedavi sonrası %Ca/P değerleri, demineralizasyon sonrası değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermiştir ($p<0,05$).
- Tedavi sonrası T1, T2, F1 ve F2 grupları K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış %Ca/P değerleri tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tüm bu bilgiler ışığında;

- Fluoridin araştırma protokolündeki her iki dozunda da remineralizasyonu pozitif yönde etkilediği,
- Teobrominin, mine başlangıç çürük lezyonlarında fluoride yakın düzeyde remineralizasyon gerçekleştirebildiği,
- Teobrominin artan dozlarında, remineralizasyon potansiyelinin de doğru orantılı olarak artabildiği,
- Teobrominin piyasadaki ticari macunlar içerisinde yer alan fluoride güvenli bir alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. J Am Dent Assoc. 2000;131(7):887–99.
2. Kidd E. Caries management. Dent Clin North Am. 1999;43(4):743–64.
3. World Health Organization. The World Health Organization Quality of Life (WHOQOL)-BREF. World Heal Organ. 2004;
4. Powell L V. Caries prediction: a review of the literature. Community Dent Oral Epidemiol. 1998;26(6):361–71.
5. Tinanoff N, Douglass JM. Clinical decision-making for caries management in primary teeth. J Dent Educ . 2001;65(10):1133–42.
6. Sheiham A. Impact of dental treatment on the incidence of dental caries in children and adults. Community Dent Oral Epidemiol . 1997;25(1):104–12.
7. American Academy of Pediatric Dentistry A. Guideline on Caries-risk Assessment and Management for Infants, Children, and Adolescents. Clin Guidel Ref Man 2015-2016. 2015;37(6):132–9.
8. Rao A, Malhotra N. The role of remineralizing agents in dentistry: a review. Compend Contin Educ Dent . 2011;32(6):26–33.
9. Cochrane NJJ, Cai F, Huq NLL, Burrow MFF, Reynolds ECC. New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel. J Dent Res . 2010;89(11):1187–97.
10. Cheng L, Li J, He L, Zhou X. Natural products and caries prevention. In: Caries Research. 2015. p. 38–45.
11. 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.
12. Sadeghpour A, Nakamoto T. Methods and compositions to improve mechanical resistance of teeth.
13. Ooshima T, Osaka Y, Sasaki H, Osawa K, Yasuda H, Matsumura M, et al. Caries inhibitory activity of cacao bean husk extract in in-vitro and animal experiments. Arch Oral Biol. 2000;45(8):639–45.
14. Ismail A.I, Hasson H, Sohn W. Dental caries in the second millennium. J Dent Educ. 2001;65(10):953–9.
15. Usha C, R S. Dental caries - A complete changeover (Part I). J Conserv Dent. 2009;12(2):46–54.
16. Keyes PHH. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. Arch Oral Biol . 1960;1(1):304–IN4.
17. Tanzer JM. Dental Caries is a Transmissible Infectious Disease: The Keyes and Fitzgerald Revolution. J Dent Res . SAGE PublicationsSage CA: Los Angeles, CA; 1995 Sep 8 ;74(9):1536–42.
18. Aas J a., Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. J

- Clin Microbiol. 2008;46(4):1407–17.
19. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* . 2007;369(9555):51–9.
 20. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: Consequences for oral health care. *Caries Res*. 2004;38(3):182–91.
 21. Zero DT. Dental caries process. *Dent Clin North Am*. 1999;43(4):635–64.
 22. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *J Clin Pediatr Dent* . 2004;28(1):47–52.
 23. Robinson C, Brookes SJ, Shore RC, Kirkham J. The developing enamel matrix: nature and function. *Eur J Oral Sci*. 1998;106 Suppl:282–91.
 24. 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.
 25. Simmer JP, Hu JC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ* . 2001;65(9):896–905.
 26. Yılmaz T. Ağız ve Diş Biyokimyası. 1st ed. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 2012. 100 p.
 27. Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(4):481–95.
 28. Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP. The structural biology of the developing dental enamel matrix. *J Struct Biol*. 1999;126(3):270–99.
 29. Lukacs JR, Largaespada LL. Explaining Sex Differences in Dental Caries Prevalence: Saliva, Hormones, and “Life-History” Etiologies. *Am J Hum Biol*. 2006;18:540–55.
 30. Stookey GK. The effect of saliva on dental caries. *J Am Dent Assoc* . 2008;139 Suppl(May):11S–17S.
 31. Dowd F. Saliva and dental caries. *Dent Clin North Am* . 1999
 32. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res*. 2000;14:40–7.
 33. Marsh P, Nyvad B. The oral microflora and biofilms on teeth. *Dent Caries* . 2008.
 34. Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res*. 2004;38(3):204–11.
 35. Loesche W. Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. *J Dent Res* . 1979
 36. Marsh P. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* . 1994
 37. Høiby N, Ciofu O, Johansen HK, Song Z, Moser C, Jensen PØ, et al. The clinical impact of bacterial biofilms. *Int J Oral Sci*. 2011;3(2):55–65.
 38. Marsh PD. Contemporary perspective on plaque control. *Bdj*. 2012;212(12):601–6.
 39. Ten Cate JM. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque.

- Odontology. 2006;94:1–9.
40. Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1997;25:5–12.
 41. Stephan RM. Intra-oral hydrogen ion concentration associated with dental caries activity. *J Dent Res.* 1944;23(4):257–67.
 42. Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation--new insight. *J Dent Res.* 2006;85(10):878–87.
 43. Harris R. Biology of the Children of Hopewood House, Bowral, Australia. 4. Observations on Dental-Caries Experience Extending over Five Years (1957-61). *J Dent Res.* 1963 Nov 9;42(6):1387–99.
 44. Krasse B. The Vipeholm Dental Caries Study: Recollections and Reflections 50 Years Later. *J Dent Res.* 2001 Sep 8;80(9):1785–8.
 45. Rugg-Gunn A. Dental caries: strategies to control this preventable disease. *Acta Med Acad.* 2013
 46. Hara AT, Zero DT. The caries environment: Saliva, pellicle, diet, and hard tissue ultrastructure. *Dent Clin North Am.* 2010;54(3):455–67.
 47. Featherstone JDB. Dental caries: A dynamic disease process. In: *Australian Dental Journal.* 2008. p. 286–91.
 48. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc.* 2003;69(11):722–4.
 49. García-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface. *J Am Dent Assoc.* 2008;139(May):25S–34S.
 50. Cate J Ten, Larsen MJ, ten Cate JM, Larsen MJ, Pearce E, Fejerskov O, et al. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. *Dent Caries.* 2003;9–69.
 51. Lussi A, Hellwig E, Klimek J. Fluorides - mode of action and recommendations for use. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2012;122(11):1030–42.
 52. Carounanidy U, Sathyanarayanan R. Dental caries: A complete changeover (Part II)-Changeover in the diagnosis and prognosis. *J Conserv Dent.* 2009;12(3):87–100.
 53. Cury JA, Tenuta LMA, Maria L, Tenuta A. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res.* 2009;23 Suppl 1(1):23–30.
 54. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). *J Clin Pediatr Dent.* 2004;28(3):203–14.
 55. ÇELİK E. BAŞLANGIÇ ÇÜRÜK LEZYONLARININ TEDAVİSİ. Atatürk Üniversitesi Diş . 2011
 56. Kudiyirickal MG, Ivancaková R. Early enamel lesion part II. Histomorphology and prevention. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2008;51(3):151–6.
 57. Roopa KKB, Pathak S, Poornima P, Neena IE. White spot lesions: A literature

- review. *J Pediatr*. 2015;3(1):1–7.
58. Fejerskov O, Kidd E, Nyvad B, Baelum V. Dental Caries: The Disease and its Clinical Management. *Dental Caries: The Disease and its Clinical Management*. 2008. 466 p.
 59. Kidd E a M, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*. 2004;83 Spec No:C35–8.
 60. Carounanidy U, Sathyanarayanan R. Dental caries: A complete changeover, PART III: Changeover in the treatment decisions and treatments. *J Conserv Dent*. 2010;13(4):209–17.
 61. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Prim* . Nature Publishing Group; 2017 May 25;3:17030.
 62. Wong A, Subar PE, Young DA. Dental Caries: An Update on Dental Trends and Therapy. *Advances in Pediatrics*. 2017. p. 307–30.
 63. Chandna P, Srivastava N, Ali S. Remineralizing Agents: The Next Frontier. *Curr Clin Pharmacol*. 2016;11(3):211–20.
 64. Muntean A, Mesaros AS, Festila D, Mesaros M. Modern management of dental decay in children and adolescents - a review. *Clujul Med* . 2015;88(2):137–9.
 65. Robinson C, Connell S, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC, Smith AM. The effect of fluoride on the developing tooth. In: *Caries Research*. 2004. p. 268–76.
 66. Ten Cate JM. Fluorides in caries prevention and control: Empiricism or science. In: *Caries Research*. 2004. p. 254–7.
 67. Šket T, Kuček A, Kosem R, Artnik B. The history of public health use of fluorides in caries prevention. *Slov J Public Heal* . 2017 Jan 1 ;56(2):140–6.
 68. Rošin-Grget K. The cariostatic mechanisms of fluoride. *Acta Med Acad* . 2013;42(2):179–88.
 69. Oh HJ, Oh HW, Lee DW, Kim CH, Ahn JY, Kim Y, et al. Chronologic Trends in Studies on Fluoride Mechanisms of Action. *J Dent Res* . 2017 Nov 28 ;96(12):1353–60.
 70. Buzalaf MAR, Pessan JP, Honório HM, ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. In: *Fluoride and the Oral Environment*. 2011. p. 97–114.
 71. Hellwig E, Lennon A'M. Systemic versus topical fluoride. In: *Caries Research*. 2004. p. 258–62.
 72. Cury JA, Tenuta LMA. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res*. 2008;20(1):13–6.
 73. SADEGHPOUR A. Chocolate and Dental Health. In: Wilson Philip K. HWJ, editor. *Chocolate and Health: Chemistry, Nutrition and Therapy* . 2015.
 74. Kargul B, Özcan M, Peker S, Nakamoto T, Simmons WB, Falster AU. Evaluation of human enamel surfaces treated with theobromine: a pilot study. *Oral Health Prev Dent* . 2012;10(3):275–82.
 75. Nakamoto T, Falster AU, Simmons WB. Theobromine: A Safe and Effective

- Alternative for Fluoride in Dentifrices. *J Caffeine Res* . 2016;jcr.2015.0023.
76. Matissek R. Evaluation of xanthine derivatives in chocolate–nutritional and chemical aspects. *Zeitschrift für Leb und-* . 1997
 77. Gustafsson B, Quensel C, Lanke L. The effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. *Acta Odontol* . 1953
 78. Strålfors A. Inhibition of hamster caries by cocoa: the effect of whole and defatted cocoa, and the absence of activity in cocoa fat. *Arch Oral Biol* . 1966
 79. Strålfors A. Inhibition of hamster caries by cocoa caries inhibition of water and alcohol extracts of cocoa. *Arch Oral Biol* . 1966
 80. Strålfors A. Effect on hamster caries by dialysed, detanned or carbon-treated water-extract of cocoa. *Arch Oral Biol* . 1966
 81. Strålfors A. Effect on hamster caries by purine derivatives vanillin and some tannin-containing materials caries in relation to food consumption and animal growth. *Arch Oral Biol* . 1967
 82. Strålfors A. Inhibition of hamster caries by substances in chocolate. *Arch Oral Biol* . 1967
 83. Nakamoto T, Shaye R, Mallek H. Effects of maternal caffeine intake on the growth of rat tooth germs in protein-energy malnourished neonates. *Arch Oral Biol* . 1985
 84. Nakamoto T, Jr WS, Falster A. Apatite-forming-systems: methods and products. US Pat 6,183,711. 2001.
 85. Nakamoto T, Jr WS, Falster A. Products of apatite-forming-systems . US Patent 5,919,426. 1999.
 86. White DJ. The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Adv Dent Res*. 1995;9(3):175–7.
 87. Skucha-Nowak M, Gibas M. Natural and Controlled Demineralization for Study Purposes in Minimally Invasive Dentistry. *Adv Clin* . 2014
 88. Featherstone JD. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater* . 1996;12(3):194–7.
 89. Buzalaf MAR, Hannas ARA, Magalhães ACA, Rios D, Honório HM, Delbem ACB. pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. *J Appl Oral Sci* . 2010;18(4):316–34.
 90. White DJ. The comparative sensitivity of intra-oral, in vitro, and animal models in the “profile” evaluation of topical fluorides. *J Dent Res*. 1992;71 Spec No:884–94.
 91. Goldstein J, Newbury D, Echlin P. Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis: a text for biologists, materials scientists, and geologists. 2012
 92. Sakoolnamarka R, Burrow MF, Swain M, Tyas MJ. Microhardness and Ca:P ratio of carious and Carisolv??? treated caries-affected dentine using an ultra-micro-indentation system and energy dispersive analysis of x-rays - A pilot study. *Aust Dent J*. 2005;50(4):246–50.
 93. Xu C, Reed R, Gorski JP, Wang Y, Walker MP. The distribution of carbonate

- in enamel and its correlation with structure and mechanical properties. *J Mater Sci* . 2012 Dec 3;47(23):8035–43.
94. Lippert F, Lynch RJM. Comparison of Knoop and Vickers surface microhardness and transverse microradiography for the study of early caries lesion formation in human and bovine enamel. *Arch Oral Biol* . 2014;59(7):704–10.
 95. White DJ, Faller R V, Bowman WD. Demineralization and remineralization evaluation techniques--added considerations. *J Dent Res*. 1992;71 Spec No(924):929–33.
 96. Barbour ME, Rees JS. The laboratory assessment of enamel erosion: A review. *Journal of Dentistry*. 2004. p. 591–602.
 97. Arends J, Bosch J Ten. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* . 1992
 98. Featherstone JDB. Consensus Conference on Intra-oral Models: Evaluation Techniques. *J Dent Res* . 1992;71:955–6.
 99. Zhou Y, Yang L HY. *Micro-and Macromechanical Properties of Materials*. CRC Press. 2013.
 100. Zero DT, Rahbek I, Fu J, Proskin HM, Featherstone J. 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.
 101. Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA. pH-Cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel De- and remineralization. *Braz Dent J*. 2008;19(1):21–7.
 102. Austin RS, Rodriguez JM, Dunne S, Moazzez R, Bartlett DW. The effect of increasing sodium fluoride concentrations on erosion and attrition of enamel and dentine in vitro. *J Dent*. 2010;38(10):782–7.
 103. Okunseri C, Gonzalez C, Hodgson B. Children's Oral Health Assessment, Prevention, and Treatment. *Pediatr Clin North Am* . 2015 ;62(5):1215–26.
 104. Featherstone JD. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1999;27(1):31–40.
 105. Lopatiene K, Borisovaite M, Lapenaite E. Prevention and Treatment of White Spot Lesions During and After Treatment with Fixed Orthodontic Appliances: a Systematic Literature Review. *J Oral Maxillofac Res* . 2016;7(2):e1.
 106. Bishara SE, Ostby AW. White Spot Lesions: Formation, Prevention, and Treatment. *Semin Orthod*. 2008;14(3):174–82.
 107. Peters MC. Strategies for noninvasive demineralized tissue repair. *Dental Clinics of North America*. 2010. p. 507–25.
 108. Machiulskiene V, Nyvad B, Baelum V. A Comparison of Clinical and Radiographic Caries Diagnoses in Posterior Teeth of 12-Year-Old Lithuanian Children. *Caries Research*. 1999. p. 340–8.
 109. Committee O, Council R. Guideline on pediatric restorative dentistry. *Pediatr Dent* . 2012;34(6):173–80.
 110. Longbottom C, Ekstrand K, Zero D. Traditional preventive treatment options. *Monogr Oral Sci*. 2009;21:149–55.

111. Crall JJ. Improving oral health for individuals with special health care needs. *Pediatr Dent*. 2007;29(2):98–104.
112. Sarmadi R, Gabre P, Gahnberg L. Strategies for caries risk assessment in children and adolescents at public dental clinics in a Swedish county. *Int J Paediatr Dent*. 2009;19(2):135–40.
113. American Academy on Pediatric Dentistry Liaison with Other Groups Committee, American Academy on Pediatric Dentistry Council on Clinical Affairs. Guideline on fluoride therapy. *Pediatr Dent* . 2013;30(7 Suppl):121–4.
114. Pucca GA, Costa JFR, Chagas LDD, Sivestre RM. Oral health policies. *Pediatr Dent* . 2009;23 Suppl 1(7 Suppl):16–61.
115. Okunseri C, Gonzalez C, Hodgson B. Children's oral health assessment, prevention, and treatment. *Pediatr Clin North Am* . 2015
116. 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.
117. Bhat SS, Hegde SK, Habibullah MA, Bernhardt V. Incipient enamel lesions remineralization using casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate cream with and without fluoride: a laser fluorescence study. *J Clin Pediatr Dent* . 2012;36(4):353–5.
118. Fagin D. Second Thoughts about Fluoride. *Sci Am* . 2008;January:74–81.
119. Shulman JD, Wells LM. Acute fluoride toxicity from ingesting home-use dental products in children, birth to 6 years of age. *J Public Health Dent* . 1997;57(3):150–8.
120. ten Cate JM. Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *Br Dent J* . 2013;214(4):161–7.
121. on ADAC. Fluoride toothpaste use for young children. *Dent Assoc* . 2014
122. Levy SM. Review of fluoride exposures and ingestion. *Community Dent Oral Epidemiol* . 1994;22(3):173–80.
123. Xiang Q, Liang Y, Chen L, Wang C, Chen B, Chen X, et al. Effect of fluoride in drinking water on children's intelligence. *Fluoride*. 2003;36(2):84–94.
124. Broadbent JM, Thomson WM, Ramrakha S, Moffitt TE, Zeng J, Page LAF, et al. Community water fluoridation and intelligence: Prospective study in New Zealand. *Am J Public Health*. 2015;105(1):72–6.
125. Heifetz SB, Horowitz HS. Amounts of fluoride in self-administered dental products: Safety considerations for children. *Pediatrics* . 1986;77(6):876–82.
126. Bassin EB, Wypij D, Davis RB, Mittleman MA. Age-specific fluoride exposure in drinking water and osteosarcoma (United States). *Cancer Causes Control*. 2006;17(4):421–8.
127. Kunz D, Bes F, Schlattmann P, Herrmann WM. On pineal calcification and its relation to subjective sleep perception: A hypothesis-driven pilot study. *Psychiatry Res - Neuroimaging*. 1998;82(3):187–91.
128. Susheela AK, Bhatnagar M, Vig K, Mondal NK. Excess fluoride ingestion and thyroid hormone derangements in children living in Delhi, India. *Fluoride*. 2005;38(2):98–108.

129. T. N, A.U. F. Theobromine: A Safe and Effective Alternative for Fluoride in Dentifrices . *Journal of Caffeine Research*. 2016. p. 1–9.
130. Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: Scientific evidence? *Aust Dent J*. 2008;53(3):268–73.
131. Groppo FC, De Cássia Bergamaschi C, Cogo K, Franz-Montan M, Motta RHL, De Andrade ED. Use of phytotherapy in dentistry. *Phytotherapy Research*. 2008. p. 993–8.
132. Newman DJ. Natural products as leads to potential drugs: An old process or the new hope for drug discovery? *Journal of Medicinal Chemistry*. 2008. p. 2589–99.
133. Spratt DA, Daglia M, Papetti A, Stauder M, O'Donnell D, Ciric L, et al. Evaluation of plant and fungal extracts for their potential antigingivitis and anticaries activity. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012.
134. Campus G, Cagetti MG, Cocco F, Sale S, Sacco G, Strohmenger L, et al. Effect of a sugar-free chewing gum containing magnolia bark extract on different variables related to caries and gingivitis: A randomized controlled intervention trial. *Caries Res*. 2011;45(4):393–9.
135. Gupta D, Bhaskar DJ, Gupta RK, Karim B, Gupta V, Punia H, et al. Effect of Terminalia chebula extract and chlorhexidine on salivary pH and periodontal health: 2 weeks randomized control trial. *Phyther Res*. 2014;28(7):992–8.
136. Bailey DL, Adams GG, Tsao CE, Hyslop A, Escobar K, Manton DJ, et al. Regression of post-orthodontic lesions by a remineralizing cream. *J Dent Res* . 2009;88(12):1148–53.
137. Ferreira JMS, Aragão AKR, Rosa ADB, Sampaio FC, Menezes VA De. Therapeutic effect of two fluoride varnishes on white spot lesions: a randomized clinical trial. *Braz Oral Res*. 2009;23(4):446–51.
138. Paris S, Dörfer CE, Meyer-Lueckel H. Surface conditioning of natural enamel caries lesions in deciduous teeth in preparation for resin infiltration. *J Dent*. 2010;38(1):65–71.
139. Kumar VLN, Itthagarun A, King NM. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: An in vitro study. *Aust Dent J*. 2008;53(1):34–40.
140. Trairatvorakul C, Kangvansurakit N, Pathomburi J. In vitro Comparison of Self versus Professionally Applied Remineralizing Materials. *J Clin Pediatr Dent*. 2010;34(4):323–8.
141. Al-Mulla A, Karlsson L, Kharsa S, Kjellberg H, Birkhed D. Combination of high-fluoride toothpaste and no post-brushing water rinsing on enamel demineralization using an in-situ caries model with orthodontic bands. *Acta Odontol Scand* . 2010;68(6):323–8.
142. Laheij AMGAGA, Van Strijp AJPP, Van Loveren C. In situ remineralisation of enamel and dentin after the use of an amine fluoride mouthrinse in addition to twice daily brushings with amine fluoride toothpaste. *Caries Res*. 2010;44(3):260–6.
143. Huysmans MCDNJM, Chew HP, Ellwood RP. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res* . 2011;45 Suppl 1(Suppl. 1):60–8.

144. West NX, Davies M, Amaechi BT. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. *Caries Res.* 2011;45(SUPPL. 1):43–52.
145. 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.
146. Hatibović-Kofman Š, El-Kassem M. Evidence based effectiveness of pit and fissure sealants applied by students and paediatric dentists after five years. *Acta Stomatol* . 2008
147. 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.
148. S.J. C. Effect of 0.02% NaF solution on enamel demineralization and fluoride uptake by deciduous teeth in vitro . *Pesquisa odontologica brasileira = Brazilian oral research.* 2004. p. 18–22.
149. Ten Cate JM, Exterkate RAM, Buijs MJ. The relative efficacy of fluoride toothpastes assessed with pH cycling. *Caries Res.* 2006;40(2):136–41.
150. Yang Y, Lv XP, Shi W, Li JY, Li DX, Zhou XD, et al. 8DSS-Promoted Remineralization of Initial Enamel Caries In Vitro. *J Dent Res.* 2014;93(5):520–4.
151. Nasution A, Zawil C. The comparison of enamel hardness between fluoride and theobromine application. *Int J Contemp Dent* . 2015
152. Lopes MB, Consani S, Gonini-Júnior A, Moura SK, McCabe JF. Comparison of microleakage in human and bovine substrates using confocal microscopy. *Bull Tokyo Dent Coll* . 2009;50(3):111–6.
153. Reitznerová E, Amarasiriwardena D, Kopčáková M, Barnes RM. Determination of Some Trace Elements in Human Tooth Enamel. *Fresenius J Anal Chem* . 2000;367(8):748–54.
154. Abuabara A, Santos AJS dos, Aguiar FHB, Lovadino JR. Evaluation of microleakage in human, bovine and swine enamels. *Braz Oral Res.* 2004;18(4):312–6.
155. Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res.* 1992;71 Spec No:913–9.
156. Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res.* 1981;15:109–14.
157. Turssi CP, Messias DF, Corona SM, Serra MC. Viability of using enamel and dentin from bovine origin as a substitute for human counterparts in an intraoral erosion model. *Braz Dent J.* 2010;21(4):332–6.
158. Attin T, Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A. The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel: Erosion-abrasion experiments. *J Dent.* 2007;35(10):773–7.
159. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors affecting the development of carious lesions in bovine teeth in vitro. *Arch Oral Biol.* 1998;43(8):619–28.
160. Edmunds DH, Whittaker DK, Verde RM. Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. *Caries Res.* 1988;22:327–36.

161. Kul S. Klinik Araştırmalarda Örnek Genişliği Belirleme. 2011
162. DeWald JP. The use of extracted teeth for in vitro bonding studies: A review of infection control considerations. *Dent Mater.* 1997;13(2):74–81.
163. Ziskind D, Gleitman J, Rotstein I, Friedman M. Evaluation of cetylpyridinium chloride for infection control in storage solution. *J Oral Rehabil.* 2003;30(5):477–81.
164. Shellis RP, Ganess C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: Discussion and conclusions. *Caries Res.* 2011;45(SUPPL. 1):69–77.
165. Cate J Ten, Duijsters P. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res.* 1982
166. 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.
167. 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.
168. Grobler SR, Du Toit IJ, Basson NJ. The effect of honey on human tooth enamel in vitro observed by electron microscopy and microhardness measurements. *Arch Oral Biol.* 1994;39(2):147–53.
169. Bevilacqua FM, Zezell DM, Magnani R, Da Ana PA, De Paula Eduardo C. Fluoride uptake and acid resistance of enamel irradiated with Er:YAG laser. *Lasers Med Sci.* 2008;23(2):141–7.
170. Marinho VC, Higgins JP, Sheiham a, Logan S. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(1):CD002278.
171. Walsh T, Worthington H V, Glenny A-M, Appelbe P, Marinho VC, Shi X. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(1):CD007868.
172. Twetman S, Axelsson S, Dahlgren H, Holm A, Källestål C, Lagerlöf F, et al. Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: a systematic review. *Acta Odontol Scand.* 2003;61(6):347–55.
173. Burwell A, Litkowski LJ, Greenspan DC. Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin): remineralization potential. *Adv Dent Res.* 2009;21(1):35–9.
174. Faller R V., Eversole SL, Janet Y. Anticaries potential of a stabilized stannous-containing sodium fluoride dentifrice. *Am J Dent.* 2010;23(Special Issue B).
175. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: An in vitro study. *Caries Res.* 2011;45(5):460–8.
176. 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.
177. da Camara DM, Pessan JP, Francati TM, Souza JAS, Danelon M, Delbem ACB. Fluoride toothpaste supplemented with sodium hexametaphosphate

- reduces enamel demineralization in vitro. *Clin Oral Investig*. 2016;20(8):1981–5.
178. Majithia U, Venkataraghavan K, Choudhary P. Comparative evaluation of application of different fluoride varnishes on artificial early enamel lesion: An in vitro study. *Indian J Dent*. 2016
 179. Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent RL, Moreno EC. Kinetics of enamel demineralization in vitro. *J Dent Res*. 1999;78(7):1326–35.
 180. Ten Cate JM. In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res* . 1990;69 Spec No:614–6.
 181. Lynch RJM, Ten Cate JM. The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de- and remineralisation behaviour. *Caries Res*. 2006;40(6):530–5.
 182. Issa A, Preston K, Preston A, Toumba K. A study investigating the formation of artificial sub-surface enamel caries-like lesions in deciduous and permanent teeth in the presence and absence of fluoride. *Arch oral* . 2003
 183. Yaman SD, Er O, Yetmez M, Karabay GA. In vitro inhibition of caries-like lesions with fluoride-releasing materials. *J Oral Sci*. 2004;46(1):45–50.
 184. Ferrazzano GF, Cantile T, Quarto M, Ingenito A, Chianese L, Addeo F. Protective effect of yogurt extract on dental enamel demineralization in vitro. *Aust Dent J*. 2008;53(4):314–9.
 185. Pai D, Bhat S, Taranath A, Sargod S, Pai V. Use of laser fluorescence and scanning electron microscope to evaluate remineralization of incipient enamel lesions remineralized by topical application of casein. *J Clin Pediatr* . 2008
 186. 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).
 187. 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.
 188. Lippert F, Parker D, Jandt K. In vitro demineralization/remineralization cycles at human tooth enamel surfaces investigated by AFM and nanoindentation. *J Colloid Interface Sci* . 2004
 189. Malekafzali B, Ekrami M, Mirfasihi A, Abdolazimi Z. Remineralizing Effect of Child Formula Dentifrices on Artificial Enamel Caries Using a pH Cycling Model. *J Dent (Tehran)*. 2015;12(1):11–7.
 190. E. C, T. B, C.M. M, S.L. E, Casals E, Boukpepsi T, et al. Anticaries potential of commercial dentifrices as determined by fluoridation and remineralization efficiency. *J Contemp Dent Pract* . 2007;8(7):1–10.
 191. Ebadifar A, Nomani M, Fatemi S. Effect of nano-hydroxyapatite toothpaste on microhardness of artificial carious lesions created on extracted teeth. *J Dent Res* . 2017
 192. Lv X, Yang Y, Han S, Li D, Tu H, Li W, et al. Potential of an amelogenin based peptide in promoting remineralization of initial enamel caries. *Arch Oral Biol*. 2015;60(10):1482–7.

193. Mehta AB, Kumari V, Jose R, Izadikhah V. Remineralization potential of bioactive glass and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on initial carious lesion: An in-vitro pH-cycling study. *J Conserv Dent*. 2014;17(1):3–7.
194. Abdullah AZ, Strafford SM, Brookes SJ, Duggal MS. The effect of copper on demineralization of dental enamel. *J Dent Res* . 2006;85(11):1011–5.
195. Churchley D, Lynch RJM, Lippert F, Eder JSO, Alton J, Gonzalez-Cabezas C. Terahertz pulsed imaging study to assess remineralization of artificial caries lesions. *J Biomed Opt* . 2011;16(2):26001.
196. Lippert F, Lynch RJM. Comparison of Knoop and Vickers surface microhardness and transverse microradiography for the study of early caries lesion formation in human and bovine enamel. *Arch Oral Biol*. 2014;59(7):704–10.
197. Shaik Z, Rambabu T, Sajjan G, Varma M. Quantitative Analysis of Remineralization of Artificial Carious Lesions with Commercially Available Newer Remineralizing Agents Using SEM-EDX-In Vitro. *J Clin* . 2017
198. Eggerath J, Kremniczky T, Gaengler P, Arnold WH. EDX-Element Analysis of the In Vitro Effect of Fluoride Oral Hygiene Tablets on Artificial Caries Lesion Formation and Remineralization in Human Enamel. *Open Dent J*. 2011;5:84–9.
199. Ozalp S, Tulunoglu O. SEM–EDX analysis of brushing abrasion of chitosan and propolis based toothpastes on sound and artificial carious primary enamel surfaces. *Int J Paediatr* . 2014
200. Tranaeus S, Al-Khateeb S, Björkman S, Twetman S, Angmar-Månsson B. Application of quantitative light-induced fluorescence to monitor incipient lesions in caries-active children. A comparative study of remineralisation by fluoride varnish and professional cleaning. *Eur J Oral Sci*. 2001 Apr;109(2):71–5.
201. Lippert F. The effects of fluoride, strontium, theobromine and their combinations on caries lesion rehardening and fluoridation. *Arch Oral Biol*. 2017;80:217–21.
202. De Dios Teruel J, Alcolea A, Hernandez A, Ruiz AJO. Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Archives of Oral Biology*. 2015. p. 768–75.
203. Viana PS, Orlandi MO, Pavarina AC, Machado AL, Vergani CE. Chemical composition and morphology study of bovine enamel submitted to different sterilization methods. *Clinical Oral Investigations*. 2017;1–12.
204. Savas S, Kucukyilmaz E, Celik EU. Effects of Remineralization Agents on Artificial Carious Lesions. *Pediatr Dent*. 2016;38(7):511–8.
205. Cheng L, Li J, Hao Y, Zhou X. Effect of compounds of *Galla chinensis* on remineralization of enamel surface in vitro. *Arch Oral Biol*. 2010;55(6):435–40.

EKLER

EK-1

T.C. GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ UNIVERSITY OF GAZİANTEP HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI LOCAL ETHICS COMMITTEE OF ANIMAL EXPERIMENTS ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI RESEARCH APPLICATION CONSENT				
TOPLANTI TARİHİ (Meeting Date)	TOPLANTI SAYISI (Meeting No)	TOPLANTI YERİ (Meeting Place)		
05.06.2016	4	Temel Tıp Bilimleri		
BAŞVURU BİLGİLERİ Application Information	Araştırmanın Başlığı Research Title	Teobrominin başlangıç mine çürükleri üzerindeki etkisinin <i>in vitro</i> olarak değerlendirilmesi		
	Başvuru Tarihi Application Date	23.05.2016		
	Protokol no Protocol no	8		
KARAR BİLGİLERİ Decision	Karar No: 2016/8 ☐ Kabul (Accepted) ☐ Red (Not Accepted)	Decision No: 2016/8 ☐ Kabul (Accepted) ☐ Red (Not Accepted)		
Yrd. Doç. Dr. Gül KESKİN'in yürütücüsü olduğu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve ilgili yönetmelik gereği ölü hayvan veya dokusu ile mezbaha materyallerinde yapılacak çalışmalarda HADYEK iznine gerek olmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.				
Yürütücü Coordinator	Yrd. Doç. Dr. Gül KESKİN Gaziantep Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı			
ETİK KURUL BİLGİLERİ				
ÇALIŞMA ESASI	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ			
Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Davut Sinan Kaplan (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Behçet Al (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Acil Tıp AD.	H	E	
Doç. Dr. İbrahim Halil Kılıç (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Biyoloji	H	H	
Doç. Dr. Mehmet Kahraman (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Kimya	H	H	
Yrd. Doç. Dr. Ebru Deniz Karslı (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği F. Çene Cerrahisi AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Berna Kaya Uğur (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD	H	E	
Öğr. Gör. Ahmet Sarper Bozkurt (Üye)	GAÜN Teknik Bilimler MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim	H	H	
Veteriner Hekim Celal Özsöyler (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	E	
Tekniker Ahmet Özkul (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	E	

E: Evet, H: Hayır

EK-2: ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı:Zübeyde UÇAR GÜNDOĞAR

Doğum Tarihi:10 Kasım 1986

Doğum Yeri: Sinop

Görev Yeri: Gaziantep

Yabancı Dili: İngilizce (ÜDS 83,75)

E-Posta Adresi: zubeydeucargundogar@hotmail.com

Öğrenim Durumu:

DERECE	BÖLÜM/PROGRAM	ÜNİVERSİTE	YIL
Lisans	Diş Hekimliği	Ankara Üniversitesi	2004-2009
Doktora	Pedodonti	Gaziantep Üniversitesi	2011-

Görevler:

GÖREV ÜNVANI	GÖREV YERİ	YIL
Diş Hekimi	T.C. Sağlık Bakanlığı	2010-2012
Diş Hekimi	Gaziantep Üniversitesi	2012-

ESERLER

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler :

1. E. Yıldız, **Z. Gündoğar**, M. Şimşek. An epidemiological study in orofacially traumatised children in Gaziantep-Turkey. 18. International Association of Dental Traumatology (IADT) Kongresi Haziran 2014, İstanbul, Türkiye.

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. **Z.U. Gündoğar**, E. Yıldız. Diş Hekimliğinde Fluoridler. *Türkiye Klinikleri Journal of Pediatric Dentistry-Special Topics (E-Journal)*, 2015, 1(1), 111-117.
2. Yıldız, E., Şimşek, M., **Gündoğar, Z.**, Aktan, A. M. Oral health survey of children referring to Faculty of Dentistry in Gaziantep. *Gaziantep Med J* 2015;21(2):118-124.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1. E. Yıldız, **Z. Gündoğar**, M. Şimşek. Gaziantep ve Çevresindeki Çocuklarda Görülen Orofasial Yaralanmaların Prevelansı: Retrospektif Çalışma. Türk Pedodonti Derneği 20. Ulusal Kongresi, 7-10 Kasım 2013, Kayseri.