

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**YENİ GELİŞTİRİLEN BİR PEPTİD ZİNCİRİNİN SÜT
ve DAİMİ DİŞ MİNESİNDE REMİNERALİZASYONA
ETKİSİNİN IN VITRO KOŞULLARDA
İNCELENMESİ**

Dt. Kadriye ALTUNBAŞ

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Özge GÜNGÖR

2020-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**YENİ GELİŞTİRİLEN BİR PEPTİD ZİNCİRİNİN SÜT
ve DAİMİ DİŞ MİNESİNDE REMİNERALİZASYONA
ETKİSİNİN IN VITRO KOŞULLARDA
İNCELENMESİ**

Dt. Kadriye ALTUNBAŞ

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Özge GÜNGÖR

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından
TSA-2019-4795 proje numarası ile desteklenmiştir.

2020-ANTALYA

ONAY SAYFASI

Kadriye ALTUNBAŞ tarafından sunulan bu çalışma jürimiz tarafından **oy birliği/oy çokluğu** ile Pedodonti Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

27/10/2020

İmza

Üye : **Doç. Dr. Eda HAZNEDAROĞLU**
(Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi)

Üye : **Doç. Dr. Özge GÜNGÖR**
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi)

Üye : **Dr. Öğr. Üyesi Zülfikar Zahit ÇİFTÇİ**
(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakóltesi)

Bu tez, 14/10/2020 tarih ve 38/122 sayılı Yönetim Kurulu kararıyla belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Diş Hekimliği Fakóltesi

Kurum Yöneticisi

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Aday

Dt. Kadriye ALTUNBAŞ

İmza

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda desteğini hissettiğim, akademik ve sosyal anlamda kendisini örnek aldığım, benden sabrını, anlayışını, gülyüzünü hiçbir zaman esirgemeyen, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum çok değerli danışman hocam **Doç. Dr. Özge GÜNGÖR'e**

Uzmanlık eğitimim boyunca akademik bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, değerli hocalarım **Prof. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ'a** ve **Dr. Öğr. Üyesi Zülfikar Zahit ÇİFTÇİ'ye**

Saygıdeğer jüri hocam **Doç. Dr. Eda HAZNEDAROĞLU'na**

Deney materyallerinin hazırlanmasında yardımcı olan **Öğr. Gör. Oğuz ÖZTÜRK'e**,

Kimyasal solüyonların hazırlanmasında yardımcı olan Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Anorganik Kimya Anabilim Dalında görevli **Doç. Dr. Muhammed KÖSE** ve doktora öğrencileri **Özge GÜNGÖR** ve **Seda Nur KERTMEN'e**

SEM-EDX analizlerinde yardımcı olan **Dr. Öğr. Üyesi Hakan YAYKAŞLI'ya**

Vickers mikrosertlik test ölçümlerinde yardımcı olan **Öğr. Gör. Hakan ŞAHİN'e**

Hayatım boyunca her türlü fedakarlığı gösteren, her zaman yanımda olan canım babam **Niyazi ALTUNBAŞ**, sevgili annem **Mihriban ALTUNBAŞ** ve kardeşlerim **Sevdan Fahriye ASLAN** ve **Veysel Atlıhan ALTUNBAŞ'a**

Ve... Canım kızım, biricik yavrum, meleğim **Zeynep Miray TEMİZ'e** teşekkür, şükran ve sevgilerimle...

ÖZET

Amaç: Minenin remineralizasyonunda peptitlerin kullanımı araştırmacıların ilgisini çeken güncel konular arasında yer almaktadır. Bu çalışmanın amacı; yeni geliştirilen farklı peptit ajanlarının, süt ve daimi azı dişlerinde yapay olarak oluşturulan başlangıç çürük lezyonları üzerindeki remineralize edici etkisinin, F ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak değerlendirilmesidir.

Yöntem: Çalışmamız 2 basamakta tamamlanmıştır. Ön çalışmada 44 adet süt ve daimi diş mine örnekleri kullanılmıştır. Yeni sentezlenen P1, P2 ve P3 peptitlerinin (GenScript, A.B.D) 200 ve 400 µg/ml' lik konsantrasyonları kullanılmıştır. Mine örneklerinin başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası SEM-EDX analizleri yapılmıştır. Kapsamlı çalışmada her grupta 18 mine örneği olacak şekilde 144 adet süt ve daimi diş mine örneklerine SEM-EDX analizi, 180 adet süt ve daimi diş mine örneklerine Vickers mikrosertlik testi yapılmıştır.

Bulgular: Ön çalışmanın SEM-EDX sonuçları değerlendirildiğinde; P2 ve P3 peptidinin remineralizasyon potansiyelinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Kapsamlı çalışmada, EDX sonuçlarına göre P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış, kontrol grubundaki süt ve daimi dişlerin Ca^{+2} değerindeki artıştan istatistiksel olarak fazladır (sırasıyla; $p:0,001$ ve $p:0,006$).

P2 grubundaki daimi dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış, kontrol grubundaki daimi dişlerin Ca^{+2} değerlerindeki artıştan fazladır ($p: 0,038$). P2 grubundaki süt dişlerinin Vickers mikrosertlik dereceleri; P2 daimi, P2+P3 süt, kontrol süt dişi grubundaki örneklerin mikrosertlik derecelerine göre anlamlı derecede daha yüksektir ($p\leq 0,05$).

Daimi dişlerde P2 ve P3 peptidi ayrı ayrı uygulamak yerine P2+P3 şeklinde uygulamak örneklerin mikrosertlik değerini artırma açısından daha etkili bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p\leq 0,05$). Mikrosertlik sonuçlarına göre; F uygulaması süt dişlerinde P2+P3' ten daha etkili iken, daimi dişlerde P2+P3 uygulaması F uygulamasından daha etkili bulunmuştur.

Sonuç: Yeni geliştirilen peptitlerin süt ve daimi diş başlangıç mine lezyonlarının tedavisinde remineralizasyon amacıyla kullanılabileceği ve F uygulamalarına alternatif olarak geliştirilebileceği kanaatindeyiz. Ancak, yeni sentezlenen peptit

zincirlerinin başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu üzerine etkinliğinin kesin olarak belirlenebilmesi için daha çok sayıda in vivo ve in vitro çalışma yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Peptit, remineralizasyon, florür, süt dişi, daimi diş



ABSTRACT

Objective: The use of peptides in the remineralization of enamel is among the current issues that attract the attention of researchers. The aim of this study is to evaluate the remineralization effect of different peptide agents on artificially created initial caries lesions in primary and permanent molar teeth by comparing with F and control groups.

Method: Our study was completed in 2 steps. In the preliminary study, 44 primary and permanent enamel samples were used. Concentrations of 200 and 400 µg/ml of newly synthesized P1, P2 and P3 peptides (GenScript, USA) were used. SEM-EDX analyzes of enamel samples were performed after initial, demineralization and remineralization. In a comprehensive study, SEM-EDX analysis was performed on 144 primary and permanent tooth enamel samples, with 18 enamel samples in each group, and Vickers microhardness test was performed on 180 primary and permanent tooth enamel samples.

Results: When the SEM-EDX results of the preliminary study were evaluated; the remineralization potential of P2 and P3 peptide was found to be higher. In a comprehensive study, according to EDX results, the increase in Ca^{+2} values of deciduous teeth in the P2 group after remineralization was statistically higher than the increase in Ca^{+2} values of primary and permanent teeth in the control group (p: 0.001 and p: 0.006, respectively).

The increase in Ca^{+2} values of permanent teeth in the P2 group after remineralization is higher than the increase in Ca^{+2} values of permanent teeth in the control group (p: 0.038). Vickers microhardness grades of primary teeth in the P2 group; P2 permanent, P2 + P3 primary was significantly higher than the microhardness grades of the samples in the control primary tooth group ($p \leq 0.05$).

Instead of applying P2 and P3 peptides separately in permanent teeth, applying it as P2 + P3 was found more effective in increasing the microhardness value of the samples. The difference is statistically significant ($p \leq 0.05$). According to the microhardness results; while F application is more effective than P2 + P3 in primary teeth, P2 + P3 application has been found more effective than F application in permanent teeth.

Conclusion: We believe that newly developed peptides can be used for remineralization in the treatment of primary and permanent tooth initial enamel lesions and can be developed as an alternative to F applications. However, more in vivo and in vitro studies are needed to determine the efficacy of newly synthesized peptide chains on remineralization of initial caries lesions.

Key words: Peptide, remineralization, fluoride, primary tooth, permanent tooth



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diş Dokuları	3
2.1.1. Mine	3
2.1.2. Dentin	4
2.1.3. Sement	5
2.2. Mine Dokusunun Özellikleri	6
2.3. Amelogenesis	21
2.4. Minenin Organik Komponentleri	24
2.5. Moleküllerin Kendinden Birleşme Özelliği	28
2.6. Protein ve Peptitlerin Kendinden Birleşme Özelliği	30
2.7. Proteinazlar	34
2.7.1. Matriks Metalloproteinaz (MMP-20, Enamelisin)	34
2.7.2. Kalikrein 4[(KLK-4)-Mine Matriks Serin Proteinaz-1(EMSP-1)]	35
2.8. Süt ve Daimi Diş Minesi	36
2.9. Sürmüş Diş Yüzeyindeki Organik Katmanlar	38
2.10. Dental Plakta Asit Üretimi	39
2.11. Tükürük	39
2.11.1. Diş Çürüğünden Korunmada Tükürüğün Rolü	40
2.12. Minenin Demineralizasyonu	42
2.12.1. Başlangıç Çürük Lezyon Tabakaları	44
2.13. Minenin Remineralizasyonu	46
2.14. Minenin Biyomimetik Remineralizasyonu	46
2.15. Mine Remineralizasyonu için Biyomimetik Sistemler	47
2.16. Remineralizasyon Ajanları	51
2.17. Mine Yüzeylerinin İncelenmesinde Kullanılan Yöntemler	61

3. GEREÇ ve YÖNTEM	66
3.1. Çalışmanın Birinci Kısım (Ön Çalışma–Pilot Çalışma)	66
3.1.1. Dişlerin Toplanması	66
3.1.2. Ön Çalışma için Mine Örneklerinin Hazırlanması	66
3.1.3. Peptit Ajanlarının Hazırlanması	68
3.1.3.1. Peptit Sentezi	68
3.1.3.2. Peptitlerin İçinde Çözündüğü Jelin Hazırlanması	68
3.1.3.3. Peptitlerin Jel İçinde Çözünmesi	69
3.1.3.4. Peptitlerin Saklanma Koşulları	70
3.1.4. Ön Çalışma için Deney Gruplarının Oluşturulması	70
3.1.5. Ön Çalışma Kapsamında SEM-EDX Analizinin Gerçekleştirilmesi	71
3.1.5.1 Başlangıç SEM-EDX Analizi	71
3.1.6. Başlangıç SEM-EDX Ölçümleri Yapılan Örneklerde Yapay Mine Lezyonlarının (Demineralizasyon) Oluşturulması	72
3.1.7. Demineralizasyon Sonrası SEM-EDX Analizi	74
3.1.8. pH Siklusunda Kullanılan Demineralizasyon/Remineralizasyon Solüsyonlarının Hazırlanması	74
3.1.9. Demineralize Mine Yüzeylerine Peptit Uygulanması	75
3.1.10. Demineralize Mine Yüzeylerine F Uygulanması	77
3.1.11. pH Siklusu Sonrası SEM-EDX Analizi	77
3.2. Çalışmanın İkinci Kısım (Kapsamlı Çalışma)	77
3.2.1. Kapsamlı Çalışma İçin Diş Sayılarının Belirlenmesi ve Deney Gruplarının Oluşturulması	77
3.2.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen Diş Sayılarının Belirlenmesi	77
3.2.1.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	78
3.2.2. Kapsamlı Çalışma İçin Dişlerin Hazırlanması	79
3.2.3. Kapsamlı Çalışmadaki Dişlerin SEM-EDX Analizi	79
3.2.4. Kapsamlı Çalışmadaki Dişlerin Vickers Mikrosertlik Test Ölçümleri	79
3.2.4.1. Vickers Mikrosertlik Testi İçin Örneklerin Hazırlanması	79
3.2.4.2. Vickers Mikrosertlik Test Gruplarının Oluşturulması	80
3.2.4.3. Başlangıç Vickers Mikrosertlik Test Ölçümlerinin Yapılması	81
3.2.4.4. Başlangıç Vickers Mikrosertlik Test Ölçümleri Yapılan Örneklerde Yapay Mine Lezyonlarının Oluşturulması	83

3.2.4.5. Demineralizasyon Sonrası Vickers Mikrosertlik Test Ölçümleri	83
3.2.4.6. pH Siklusunda Kullanılan Demineralizasyon-Remineralizasyon Solüsyonlarının Hazırlanması	83
3.2.4.7. Demineralize Mine Yüzeyine Peptit Uygulaması	83
3.2.4.8. Demineralize Mine Yüzeylerine F Uygulanması	83
3.2.4.9. pH Siklusu Sonrası Vickers Mikrosertlik Test Ölçümleri	83
3.3. Sonuçların İstatistiksel Analizi	83
4. BULGULAR	85
4.1. Ön Çalışmaya ait SEM Görüntüleri ve EDX Bulguları	85
4.1.1. Ön çalışmaya sonuçlarına ait EDX bulgularının değerlendirilmesi	85
4.1.1.1. Peptiti grupları arasında EDX bulgularının değerlendirilmesi	85
4.1.1.2. F grupları arasında EDX bulgularının değerlendirilmesi	86
4.1.1.3. kontrol grupları arasında EDX bulgularının değerlendirilmesi	86
4.1.2. Ön çalışmaya ait SEM Görüntüleri	87
4.2. Kapsamlı Çalışmaya ait SEM Görüntüleri ve EDX Bulguları	89
4.2.1. Kapsamlı Çalışmaya ait EDX Bulguları	89
4.2.2. Kapsamlı Çalışmaya ait SEM Görüntüleri	97
4.2.3. Vickers Mikrosertlik Test Bulguları	101
4.2.3.1. Yüzey Mikrosertlik İyileşme Bulguları	109
5. TARTIŞMA	112
5.1. Materyal-Metodun Tartışılması	113
5.2. Bulguların Tartışılması	115
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	135
KAYNAKLAR	137
EKLER	152
EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi	152
ÖZGEÇMİŞ	153

SİMGELER ve KISALTMALAR

Å	Angström
ACP	Amorf kalsiyum fosfat
ACPF	Amorf kalsiyum fosfatı florür
AFM:	Atomik kuvvet mikroskobu
Aİ	Amelogenezis imperfektaya
AMBN	Ameloblastin
AMEL	Amelogenin
AMTN	Amelotin
APF	Asidule fosfat florür
BAG	Biyoaktif cam
BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
Be	Berilyum
C	Karbon
CaF ₂	Kalsiyum florür
CAO	Kalsiyum oksit
Ca ⁺²	Kalsiyum
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Hidroksiapatit kristalleri
Cl	Klorür
CLSM	Fokal lazer taramalı mikroskop
CO ₂	Karbondioksit
CO ₃ ⁻²	Karbonat
-COOH grubu	Karboksil grubu
CPP-ACP	Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat
CS	Kitosan
CS-AMEL	Amelogenin içeren kitosan hidrojel
CS-EMD	Kitosan-Emdogain
CS-HAP	Kitosan- Hidroksiapatit
CSF-1	Koloni uyarıcı faktör
C- terminal	Karboksi terminali
Cu	Bakır
DEJ	Mine-dentin birleşimi
dk	Dakika

DNA	Deoksiribo nükleik asit
DSS	Aspartik asit-serin-serin
DSPP	Dentin sialofosfoprotein
EDX	Enerji dağıtıcı x-ışını spektrometresi
EMD	Emdogain
ENAM	Enamelin
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
F	Florür
Fe	Demir
FTIR	Fourier Transform Infrared Spektrofotometre=Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GAG	Glikozaminoglikan
GLA proteinleri	α -galaktosidaz A proteinleri
Glu	Glutamin
CPP	Kazein fosfopeptit
GTF	Glukoziltransferaz enzim
Gpa	Gigapaskal
H	Hidrojen
HA	Hidroksiapatit
HCO ⁻³	Bikarbonat
His	Histidin
HRTEM-SAED	Selected area electron diffraction= seçilmiş alan elektron kırınımı
ICDAS	Uluslararası Çürük Tespit ve Değerlendirme Sistemi
IgG	İmmüoglobulin G
IgM	İmmüoglobulin M
K	Potasyum
kDa	Kilodalton
KLK-4	Kalikrein 4
Leu	Lösin
LRAP	Lösinden Zengin Aminoasit Peptidi
Mg	Magnezyum
MMP-20	Matriks metalloproteinaz

MRG	Mikroradiyografi
N	Azot
Na	Sodyum
NaF	Sodyum florür
-NH ₂ grubu	Amino grubu
NH ₃	Amonyak
N- terminal	Amino terminali
nm	Nanometre
NNL	Neonatal çizgi
O	Oksijen
OCP	Oktakalsiyumfosfat
OH ⁻	Hidroksil iyonu
P	Fosfor
PAMAM	Poli amidoamin dendrimerleri
PAMAM-COOH	Karboksilik asit grubu bağlı PAMAM dendrimerleri
PAMAM-NH ₂	Amino terminal gruplarına sahip PAMAM dendrimeri
Pb	Kurşun
Pi	İzoelektrik nokta
POLMI	Polarize ışık mikroskobu
PO ₄ ⁻³	Fosfat
ppm	Parts per million, milyonda bir testi
Pro	Prolin
PRP	Prolinden Zengin Proteinler
PTHrP	Paratiroid hormonu ile ilişkili protein
PVP	Poli vini pirolidon
RNA	Ribo nükleik asit
rpm	Revolutions per minute, dakikadaki devir sayısı
S	Kükürt
SDF	Gümüş diamin florür
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
Ser	Serin
SiO ⁻²	Silisyum dioksit
sIgA	Salgılasal immünglobulin A

SMH	Yüzey mikrosertliği
Sn	Kalay
SnF ₂	Kalay florür
S ⁻²	Sülfür
TCP	Trikalsiyum fosfat
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TGF β -1	Transforme edici büyüme faktörü beta-1
Ti	Titanyum
TMR	Transversal mikroradyografi
TRAP	Tirozin bakımından zengin amelogenin peptidi
Tyr	Tirozin
U	Uranyum
UV	Ultrasonik hız
Zn	Çinko
α -TCP	Alfa-trikalsiyumfosfat
β -TCP	Beta- trikalsiyumfosfat
μ g	Mikrogram
μ m	Mikrometre
XRD	X ışını toz kırınımı
XSM	X-ışını taramalı mikroradyografi, x-ray scanning microradiography
QLF	Kantitatif Işık Etkili Floresans

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Hidroksiapatit kristal yapısı	15
Şekil 2.2.	Mine prizmalarının yapısı	16
Şekil 3.1.	Mine örneklerinin mesiodistal olarak 2 parçaya ayrılması	67
Şekil 3.2.	Mine örneklerinin zımparalanması	67
Şekil 3.3.	5x5 mm ² 'lik çalışma alanlarına kağıtların yapıştırılması	67
Şekil 3.4.	Peptitlerin kutudaki görünümü	68
Şekil 3.5.	Peptitlerin toz formundaki görünümü	68
Şekil 3.6.	Çalışmada kullanılan hassas terazi	69
Şekil 3.7.	Çalışmada kullanılan mekanik karıştırıcı	69
Şekil 3.8.	Çalışmada kullanılan vorteks karıştırıcı	69
Şekil 3.9.	Çalışmada kullanılan orbital karıştırıcı	69
Şekil 3.10.	Tüplere konulan jel kıvamındaki peptitler	70
Şekil 3.11.	24 saat kuru ortamda bekletilen süt dişi mine örnekleri	72
Şekil 3.12.	Çalışmada kullanılan SEM-EDX cihazı	72
Şekil 3.13.	Yapay çürük oluşturmak için hazırlanan demineralizasyon solüsyonu	73
Şekil 3.14.	Etüvde bekletilen mine örnekleri	74
Şekil 3.15.	pH siklusu için hazırlanan demineralizasyon-remineralizasyon solüsyonları	75
Şekil 3.16.	Otomatik mikropipet yardımıyla örneklerin yüzeyine peptitlerin uygulanması	75
Şekil 3.17.	5x5 mm ² 'lik çalışma alanlarına peptit ajanlarının uygulanması	76
Şekil 3.18.	Çalışmada kullanılan desikatör	76
Şekil 3.19.	Desikatöre konulan mine örnekleri	76
Şekil 3.20.	Çalışmada kullanılan florür ajanı, plastik pipet, ablikatör ve mine örneği	77
Şekil 3.21.	Akrilik rezinlere sabitlenen mine örnekleri	79
Şekil 3.22.	Hazırlanan mine örnekleri kendi özel kaplarına yerleştirilmiştir.	80
Şekil 3.23.	Çalışmada kullanılan mikrosertlik ölçüm cihazı	82
Şekil 3.24.	Örneklerin mikrosertlik cihazında incelenmesi	82
Şekil 3.25.	Mikrosertlik cihazındaki örneğin bilgisayar ekranında oluşan görüntüsü	82
Şekil 4.1.	Ön çalışma sonuçlarına göre süt ve daimi diş mine örneklerinde Ca ⁺² değişim oranları	87
Şekil 4.2.	Ön çalışma sonuçlarına göre süt ve daimi diş mine örneklerinde P değişim oranları	87
Şekil 4.3a.	Daimi diş mine örneğine ait başlangıç SEM görüntüsü	88
Şekil 4.3b.	Süt dişi mine örneğine ait başlangıç SEM görüntüsü	88
Şekil 4.4a.	Daimi diş mine örneğine ait demineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	88
Şekil 4.4b.	Süt dişi mine örneğine ait demineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	88
Şekil 4.5a.	Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	88
Şekil 4.5b.	Süt dişi mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	88

Şekil 4.6a.	Daimi diş mine örneğine ait başlangıç SEM görüntüsü	98
Şekil 4.6b	Daimi diş mine örneğine ait başlangıç elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	98
Şekil 4.7a	Süt diş mine örneğine ait başlangıç SEM görüntüsü	98
Şekil 4.7b	Süt diş mine örneğine ait başlangıç elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	98
Şekil 4.8a	Daimi diş mine örneğine ait demineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	98
Şekil 4.8b	Daimi diş mine örneğine ait demineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	98
Şekil 4.9a	Süt diş mine örneğine ait demineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	98
Şekil 4.9b	Süt diş mine örneğinin demineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	98
Şekil 4.10a	Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	99
Şekil 4.10b	Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	99
Şekil 4.11a	Süt diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	99
Şekil 4.11b	Süt diş mine örneğinin remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	99
Şekil 4.12a	Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	99
Şekil 4.12b	Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	99
Şekil 4.13a	Süt diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	100
Şekil 4.13b	Süt diş mine örneğinin remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	100
Şekil 4.14a	Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	100
Şekil 4.14b	Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	100
Şekil 4.15a	Süt diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	100
Şekil 4.15b	Süt diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	100
Şekil 4.16a	Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	101
Şekil 4.16b	Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	101
Şekil 4.17a	Süt diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü	101
Şekil 4.17b	Süt diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü	101
Şekil 4.18a	P2 daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	102
Şekil 4.18b	P2 daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	102
Şekil 4.18c	P2 daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	102
Şekil 4.19a	P2 süt diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	103
Şekil 4.19b	P2 süt diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	103

Şekil 4.19c	P2 süt dişi grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	103
Şekil 4.20a	P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	103
Şekil 4.20b	P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	103
Şekil 4.20c	P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	103
Şekil 4.21a	P3 süt dişi grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	104
Şekil 4.21b	P3 süt dişi grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	104
Şekil 4.21c	P3 süt dişi grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	104
Şekil 4.22a	P2+P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	105
Şekil 4.22b	P2+P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	105
Şekil 4.22c	P2+P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	105
Şekil 4.23a	P2+P3 süt dişi grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	105
Şekil 4.23b	P2+P3 süt dişi grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	105
Şekil 4.23c	P2+P3 süt dişi grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	105
Şekil 4.24a	Florür daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	106
Şekil 4.24b	Florür daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	106
Şekil 4.24c	Florür daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	106
Şekil 4.25a	Florür süt dişi grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	107
Şekil 4.25b	Florür süt dişi grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	107
Şekil 4.25c	Florür süt dişi grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	107
Şekil 4.26a	Kontrol daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	108
Şekil 4.26b	Kontrol daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	108
Şekil 4.26c	Kontrol daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	108
Şekil 4.27a	Kontrol süt dişi grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	108
Şekil 4.27b	Kontrol süt dişi grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	108
Şekil 4.27c	Kontrol süt dişi grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü	108

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.	Yapısal mine proteinleri	33
Tablo 2.2.	Mine proteinazları	35
Tablo 2.3.	Mine çürüğünün farklı tabakalarındaki mineral kayıplarının değerlendirilmesi	45
Tablo 3.1.	Ön çalışma kapsamında oluşturulan deney grupları	71
Tablo 3.2.	Kapsamlı çalışmada oluşturulan SEM-EDX deney grupları	78
Tablo 3.3.	Kapsamlı çalışmada oluşturulan Vickers mikrosertlik testi deney grupları	80
Tablo 4.1.	EDX analiz sonuçlarının p değerleri tablosu	96
Tablo 4.2.	Demineralize daimi dişlerin remineralizasyondan sonra Ca/P oranında artış yüzdesi	96
Tablo 4.3.	Demineralize süt dişlerinin remineralizasyondan sonra Ca/P oranında artış yüzdesi	97
Tablo 4.4.	Tüm daimi diş grupları için deney sonuçlarının ortalama Ca^{+2} değerleri	97
Tablo 4.5.	Tüm süt dişi grupları için deney sonuçlarının ortalama Ca^{+2} değerleri	97
Tablo 4.6.	Tüm daimi diş grupları için deney sonuçlarının ortalama P değerleri	97
Tablo 4.7.	Tüm süt dişi grupları için deney sonuçlarının ortalama P değerleri	97
Tablo 4.8.	Vickers mikrosertlik test sonuçlarının p değerleri tablosu	109
Tablo 4.9.	Yüzey mikrosertlik iyileşme yüzdelerinin p değerleri tablosu	111

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Fermente edilebilir karbonhidratların, dental plaktaki karyojenik bakteriler tarafından metabolize edilmesi sonucu açığa çıkan asitlerin, dişte mineral kaybına neden olmasıyla demineralizasyon meydana gelmektedir. Demineralizasyon; tükürük bileşenleri, antibakteriyel ajanlar tarafından inhibe edilebilir veya kalsiyum (Ca^{+2}), fosfat (PO_4^{-3}) ve florür (F) içeren remineralizasyon ajanları ile mevcut yıkım tersine çevrilebilir. Diş çürüklerinin ilerlemesi veya yıkımın tersine çevrilmesi, çürük dengesi ile ilişkilendirilir. Çürük dengesi ise patolojik faktörler (karyojenik bakteriler, fermente edilebilir karbonhidratlar ve tükürük disfonksiyonu) ve koruyucu faktörler (yeterli tükürük; remineralizasyon için gerekli Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F iyonlarının varlığı ve antibakteriyel ajanlar) arasındaki denge olarak adlandırılır.⁽¹⁾ Koruyucu faktörler ile patolojik faktörler arasındaki dengenin, patolojik faktörler lehine bozulması minenin demineralizasyonuna neden olur.

Mine demineralizasyonları başlangıçta opak beyaz noktalar şeklinde görülür; bu durum “**beyaz nokta lezyonu (white spot lesion, wsl)**” olarak adlandırılır.^(2, 3) Bu aşamada, minede meydana gelen lezyon, kaybolan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} ’ ın tekrar yerine konulması ile tedavi edilebilir.⁽⁴⁾ Remineralizasyon ile; çürük lezyonlarının inaktive edilmesi, diş dokusunun çözünürlüğünün azaltılması veya diş yüzeyine yeniden mineral birikimi için diş yüzey alanının artırılması amaçlanır.^(5, 6) Geçmişten günümüze; remineralizasyon amacıyla en sık kullanılan ajanların başında F gelmektedir.⁽⁷⁾ Ancak; yeni başlayan mine lezyonlarında F’ nin etkinliği net bir şekilde gösterilirken, derin lezyonlardaki etkisinin sınırlı olduğu bildirilmiştir.^(8, 9) Bunun nedeni, F’ nin mine yüzeyindeki hidroksiapatite (HA) yüksek afinitesinden kaynaklanmaktadır. Yüzeyaltı lezyonlarının remineralize ve rejenere olmasının F uygulamaları ile zor olduğu gösterilmiştir.⁽¹⁰⁾ Beyaz nokta lezyonlarındaki mevcut yıkımın tersine çevrilmesi, durdurulması, maskelenmesi veya insidansının azaltılmasında noninvaziv tedaviler önemli olsa da; mevcut noninvaziv tedaviler, beyaz nokta lezyonlarının oluşumunu ve ilerlemesini engellemede yeterli görünmemektedir.⁽⁴⁾

Başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonlarının sağlanmasında F dışında farklı materyal ve yöntemler geliştirilmiştir. Minenin remineralizasyonunda peptitlerin kullanımı araştırmacıların ilgisini çeken güncel konular arasında yer almaktadır.

Yeni üretilen peptit içerikli bir remineralizasyon ajanının, başlangıç lezyonuna nüfuz ederek yeni hidroksiapatit kristallerinin oluşmasını indüklediği, mine matriksinin tükürükten alınan Ca^{+2} , PO_4^{-3} iyonları ile yeniden üretilebildiği gösterilmiştir. Peptit içerikli ajanların kullanılması ile; başlangıç lezyonlarının durdurulması, minenin doğal ve üç boyutlu olarak yenilenmesi amaçlanmaktadır.^(11, 12)

Bu çalışmanın amacı; yeni geliştirilen farklı peptit ajanlarının, süt ve daimi azı dişlerinin mine yüzeylerinde yapay olarak oluşturulan başlangıç çürük lezyonları üzerindeki remineralize edici etkisinin, F ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmesidir.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Diş Dokuları

Diş; mine, dentin, pulpa ve sement olmak üzere 4 farklı dokudan meydana gelmektedir. Pulpada nöronlar, kan damarları, fibroblastlar ve lenfositler bulunurken; dişin mineralize yapıları mine, dentin ve sementten oluşmaktadır.⁽¹³⁾

2.1.1.Mine

Ameloblast hücreleri tarafından salgılanan mine dokusu; omurgalılarıdaki mineralize dokular arasında, epitel türevi kalsifiye doku olma özelliği gösteren, en sert ve en yüksek mineralizasyona sahip aselüler tek dokudur.⁽¹⁴⁾ Epitelyal kökenin bir sonucu olarak, minenin organik içeriği diğer mineralize dokulardan önemli ölçüde farklıdır. Başlangıçta; olgunlaşmamış mine, sadece %20-30 oranında mineralize doku içerirken, yüksek oranda mine proteinleri içermektedir. Daha sonra mine, yüksek mineral içeriğine (%96) ulaşarak, fazla mine proteinleri ve suyun uzaklaştırıldığı bir olgunlaşma sürecine girer.

Gelişim boyunca ameloblast morfolojisinde meydana gelen değişiklikler, mine gelişiminin karmaşık yapısını açıklamaktadır. Diş, ağız boşluğuna sürerken, ameloblast hücreleri kaybolur. Olgun minede canlı hücre bulunmadığı için, minenin herhangi bir etkene karşı duyarlılığı yoktur ve mine dokusu zarar gördüğünde tamiri mümkün değildir.⁽¹⁵⁾

Kronu kaplayan mine; tüberkül tepeleri ve insizal kenarlarda (yaklaşık 2,5 mm) en kalın, servikal bölgede en ince kalınlığa sahiptir. Mine biyolojik yapısından dolayı, aşınmaya ve aside dayanıklı bir dokudur. Mine yapısı sert olduğundan; deformasyon eğilimi az, gerilme direnci düşüktür. Bu nedenle mine kırılgan bir özelliğe sahiptir. Ancak; alttaki dentin dokusunun daha esnek ve kırılmaya karşı dirençli yapısı; mineyi kırık oluşumuna karşı koruyucu bir rol üstlenmektedir.⁽¹⁵⁻¹⁷⁾

Mine, temel olarak prizmalardan oluşmaktadır. Prizmalar arasındaki mineye “**interprizmatik mine**”, prizmaların bulunmadığı bölgeye ise “**aprizmatik mine**” adı verilmektedir.⁽¹⁸⁾

Hidroksiapatit kristallerinden oluşan mine dokusu, nanometre boyutundan makroskopik boyutlara kadar kompleks bir hiyerarşik yapıda düzenlenmektedir. Nano boyutlardaki mine dokusu; mine-dentin birleşimine (DEJ) dik, c-ekseni

boyunca büyüme yönelimi olan nanorod benzeri hidroksiapatit kristallerinden oluşmaktadır.⁽¹⁹⁾

2.1.2.Dentin

Mezenkimal kökenli dentin, minenin altında uzanan ve diş kütlesinin büyük bir kısmını oluşturan dokudur.^(16, 17) Dentin, mineden gelen stresleri absorbe ederek minenin kırılmasını önler.⁽²⁰⁾ Dentin, odontoblast hücreleri tarafından oluşturulur. Odontoblastların; hücre gövdeleri pulpa odasında, uzun silindirik şekilli sitoplazmik hücre uzantıları (Tomes lifleri) ise mineralize dentin tübülleri içerisinde bulunur. Bu nedenle, odontoblast hücreleri hem dentin hem de pulpa dokusunun bir parçası olarak kabul edilir. Odontoblast hücrelerinin sitoplazmik hücre uzantıları nedeniyle, dentin fizyolojik ve patolojik uyarılara reaksiyon gösterebilen canlı bir dokudur. Odontoblastlar tarafından üretilen predentinin birikip kalsifiye olmasıyla dentin oluşuktan sonra, iç mine epiteli ameloblastlara dönüşerek mine sentezine başlar.⁽²¹⁾ Dentinogenezis, odontoblastların bir kollojen matriks içerisinde DEJ'den pulpaya doğru hareket etmesiyle başlar. Kollajen matriksin salgılanmasını, aşama aşama mineralizasyon takip eder. En son oluşan dentin tabakası her zaman pulpa yüzeyindedir. Odontoblast hücre gövdelerinin hemen yanında olan bu mineralize olmamış dentin tabakası “**predentin**” olarak adlandırılır. Dentin formasyonu, tüberkül tepelerine ve kesici kenarlara yakın alanlarda başlar ve aşamalı olarak apekse kadar ilerler. Mine dokusunun aksine, dentin formasyonu dişin ağza sürmesinin ardından pulpa canlı olduğu süre boyunca devam eder.

Dentin hacim olarak; %45-50 inorganik madde, %30 organik madde ve %20-25 su içermektedir. Ağırlık olarak ise; %70 inorganik madde, %20 organik madde ve %10 sudan oluşmaktadır.⁽²²⁾

Dentinin mineral içeriği mineden daha az, ancak sement ve kemikten daha fazladır. Bu nedenle, dentin mineden daha yumuşak, kemik ve sementten daha serttir. Hidroksiapatit kristalleri; minede düzenli, dentinde ise düzensiz bir şekilde dağılmışlardır. Ancak dentindeki hidroksiapatit kristalleri minedekilerden daha küçük boyutta olup daha az Ca^{+2} ve karbonat (CO_3^{-2}) içerirler. Mine dokusunda hidroksiapatit kristalleri mikron (μm), dentin dokusunda ise angström ($\text{\AA}$) birimi ile ifade edilir. Böylelikle hidroksiapatit kristalleri dentin dokusunda hacimce daha fazla yüzey alanı işgal ederler. Bunun sonucu olarak dentin, asite karşı daha duyarlı hale

gelir ve dentin çürüğü mine çürüğüne oranla daha hızlı ilerler. Dentin oluşumundaki organik içeriğin %90'ı temel olarak tip 1 kollajen, %10'u kollajen olmayan proteinlerden oluşmaktadır. Bu proteinler çoğunlukla osteokalsin tipinde az miktarda γ -karboksiglutamat içeren proteinler, GLA proteinleri (α -galaktosidaz A proteinleri), asidik glikoproteinler, serum proteinleri, küçük proteoglikanlar ve yüksek oranda fosforlanmış fosfoproteinlerdir.⁽²³⁾

Mine-Dentin Birleşimi:

Sert ve kırılğan olan mine dokusunun aksine, yumuşak ve esnek olan dentin dokusu kırılmaya karşı dirençlidir. Mine ve dentin arasındaki sınır, “**mine-dentin birleşimi (DEJ)**” olarak bilinir. DEJ; mine ve dentin arasında embriyolojik, iskeletsel ve biyomekanik olarak benzersiz bir bağlantı sağlar. DEJ, deniz kabuğu gibi dalgalı bir birleşim gösterir. Bu birleşim özellikle tüberküllerin ve insizal kenarların altında belirgindir. Dalgalı birleşimin dış bükey kısmı dentinden mineye uzanır. Diş dokusunun bütünlüğü, DEJ tarafından sağlanan farklı iki dokunun kusursuz birleşimine bağlıdır.

Farklı materyaller arasındaki birleşim bölgelerinde, genellikle stres birikimi sonucu gerilmeler olmakta ve yapıların birbirinden ayrılması söz konusu olmasına rağmen bu bağlanmada ayrılmalar yaşanmamaktadır. DEJ, dişler ağızda kaldığı süre boyunca çiğneme hareketleri ve parafonksiyonel hareketler sonucu oluşan yükleri mineden dentine iletir.^(16, 17)

2.1.3.Sement

Sement, dişlerin anatomik köklerini çevreleyen diş sert dokusudur. Bağ dokusundaki farklılaşmamış mezenkimal hücrelerden gelişen sementoblastlar tarafından oluşturulur. Sert diş dokuları içinde sement; fiziksel ve kimyasal özellikleri bakımından kemiğe en yakın olanıdır. Mine, dentin ve kemik ile karşılaştırıldığında, sement dokusunun bu dokulardan daha az mineralize olduğu görülür.

Sement; ağırlık olarak yaklaşık %45-%50 oranında inorganik madde, %50-%55 oranında organik madde ve su içermektedir. İnorganik yapı hidroksiapatit kristallerinden meydana gelmiştir. Sementin organik içeriği, kollajen ve mukopolisakkaritten oluşmuştur.^(15, 22)

Sement parlak sarı renkte olup, dentine göre biraz daha açık renklidir. Diğer tüm mineralize dokulardan daha fazla F içerir. Sement çeşitli maddelere karşı geçirgendir. Sement oluşumu hayat boyu devam eder. Sementte damarlanma yoktur ancak sement, sınırlı düzeyde kendi kendini tamir kabiliyetine sahiptir.⁽²²⁾

Hücreli ve hücreli olmak üzere iki çeşit sement bulunmaktadır. Hücreli sement, çoğunlukla kökün apikal yarısında bulunmaktadır. Hücreli sement ise, yapısında hücre içermeyen ve çoğunlukla kökün koronal yarısında bulunan canlı bir dokudur. Sement, servikal çizgi olarak bilinen mine-sement sınırıyla mineye bağlanır. Dişlerin yaklaşık %10'unda mine ve sement dokuları birleşmeden kalır bu da duyarlı bir alan oluşmasıyla sonuçlanabilir.^(18, 22, 24)

2.2.Mine Dokusunun Özellikleri

- I. Minenin histolojik özellikleri**
- II. Minenin fiziksel özellikleri**
- III. Minenin kimyasal özellikleri**
- IV. Minenin yapısal özellikleri**

I. Minenin histolojik özellikleri:

Yüz ve ağız boşluğunun oluşumu, nöral krest hücrelerinden gelişen birinci ve ikinci brankiyal arkten köken alır ve intrauterin hayatın ilk 2 ayında gerçekleşir. Bu süreçte “**odontogenezis**” olarak adlandırılan diş gelişimi de gerçekleşir. Diş germi; olgun bir dişte mine oluşumunu sağlayan mine organı (dental organ), pulpa-dentin kompleksini oluşturan dental papil (diş papili) ve sement, alveolar kemik ve periodontal ligamenti oluşturan diş torbası (dental kese) olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır.⁽²⁵⁾ Diş gelişimi birbirini izleyen farklı aşamalarla gerçekleşmektedir:

1) Büyüme

- i) Başlangıç (tomurcuk)**
- ii) Proliferasyon (tomurcuk-takke)**
- iii) Histolojik farklılaşma (takke-çan)**
- iv) Morfolojik farklılaşma (gelişmiş çan)**
- v) Apozisyon**

2) Kalsifikasyon

3) Sürme

4) Atrizyon

1) Büyüme

i) Başlangıç (tomurcuk) aşaması:

Embriyonik gelişimin 5-6. haftasında başlayan diş oluşumunun en erken aşamasıdır. Bu aşamada, dişlerin oluşacağı çene kavisleri, üzeri ektoderm ile örtülü mezenkimal bir kitleden oluşmaktadır. Oral ektodermin bazal hücreleri belirli noktalarda diğer hücrelere nazaran daha hızlı proliferasyon temposu kazanır. Bu çoğalma yalnız ektoderimde değil bitişindeki mezoderimde de görülür. Bu şekilde proliferen olan kısımlar ufak düğmecikler meydana getirir, bunlara “**diş tomurcukları**” denir. Her arkın üzerinde toplam 10 tomurcuk ortaya çıkar.⁽²⁶⁾

ii) Proliferasyon (tomurcuk-takke) aşaması:

Bu aşamada, diş tomurcuğu büyür ve gelişir. Tomurcuğun periferinde, ekvator üzerinde hücre çoğalmasının hızlı olması, buna karşılık kutup bölgesinde çoğalmanın yavaş olması sonucunda tomurcuk bir süre sonra takke şeklini alır. Bu aşamada takkeye “**mine organı**” adı verilir. Mine organı bu dönemde hücresel ve dokusal farklılaşmalar gösterir. Dıştaki epitel hücreleri kübik şekilde olup, bir sıra boyunca dizilirler bunlara “**dış mine epitel hücreleri**” adı verilir. Takkenin konkav, içeri çökük kısmındaki hücreler ise silindirik bir şekil alıp bir sıra boyunca dizilirler bu epitel sırasına “**iç mine epiteli**” adı verilir. İç mine epitel hücrelerinin üzerinde tekrar bir sıra kübik şeklindeki epitel hücreleri dizilir. Bu tabakaya “**stratum intermedium**” adı verilir. Takkenin ortasındaki epitel hücreleri arasında ise interselüler aralık genişler, hücreler uzantıları ile birbirlerine değeri. Bu orta bölgeye, görünümü gevşek bağ dokusuna, gelişmiş bir dişin pulpa dokusuna benzemesi nedeniyle “**mine pulpası (stellate reticulum)**” adı verilir. Bu aşamanın sonunda diş germi tam bir diş gelişimi için gerekli tüm unsurları içerir (dental organ, dental papil ve dental kese).⁽²⁶⁾

iii) Histolojik farklılaşma (takke-çan) aşaması:

Dişlerin gelişeceği bölgelerde çoğalmış olan ektoderm ve mezoderm hücreleri, ilerde diş dokularının bazılarını yapabilecek, onları geliştirebilecek şekilde değişim gösterirler ve dokuyu oluşturabilecek yetenek kazanırlar. Bu olaylar 8-13. haftalar arasında gerçekleşir. Hücre proliferasyonu bu safhada azalmış ve hücreler kendilerini alacakları yeni fonksiyona göre hazırlamaya başlamışlardır. Bu aşamada, belirgin olarak dental organın çan safhasına eriştiği, dentin ve mine apozisyonunun

başlamasından önceki en hızlı gelişimi gösterdiği izlenir. Bu dönemde çan organının iç yüzeyindeki hücelere “**ameloblast hücreleri**” adı verilir. Ameloblastların karşısına dizili, mezenkimal bağ dokusu kökenli silindirik hücreler de bu dönemde dentin dokusunu üretebilecek tüm özellik ve yeteneklere sahiptirler. Bu hücelere “**odontoblast hücreleri**” adı verilir.⁽²⁶⁾

➤ **Ameloblast Hücreleri:**

Ameloblast hücreleri; bitişindeki mezenkimal dokudan bir bazal membran ile ayrılarak, silindirik, proliferatif bir hücre olarak yaşam döngüsüne başlar. Boyutları 7µm - 40µm arasında olan asidofilik hücrelerdir.^(15, 27) Hücre çekirdekleri bazalde olup, sitoplazmaları granüllüdür. Hücre çekirdeğinin merkezinde, stratum intermedium’a bakan küçük bir golgi aygıtı; sitoplazmasında ise serbest ribozomlar, mitokondri, yoğun cisimler ve granüllü endoplazmik retikulum bulunur.⁽²⁷⁾ Ameloblast hücreleri RNA’dan zengin olup, bol ribozom taşırlar. Sitoplazmalarında bulunan protein eriyik haldedir. Geç dönemde, çok az lifsel proteine de rastlanabilir. Ameloblast hücre sitoplazmaları içinde mukopolisakkaritler, glikojen ve az oranda lipit bulunmaktadır. Ayrıca, Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları da ester kompleksleri halinde depolanmıştır. Hücre içinde alkalen fosfatazlar ve oksidatif enzimler de bulunmaktadır.⁽¹⁵⁾ Ameloblastlar sıkı bir şekilde yanyana dizilmiş olup, bitişindeki hücrelerle desmozomlar aracılığıyla bağlantı sağlar. Ameloblast hücrelerinin mine oluşturan bir hücreye farklılaşması; bitişindeki odontoblastları oluşturacak mezenkimal dokunun kontrolünde veya yönlendirmesi ile gerçekleşmektedir.⁽²⁷⁾ Uyarıldıktan sonra farklılaşan ameloblast hücreleri artık çoğalamaz, sadece uzunluk olarak büyümeye devam eder. Hücre ağı ve bağlantılı uzantıları, hücrenin proksimal ve distal uçlarında gelişir. Proksimal uç ve distal uçların her ikisi de yüzeye yakındır; proksimal uç stratum intermedium ile birleşir, distal uç ise mine matriksinin salgılanacağı uçtur.⁽²⁷⁾

Odontoblastlar, dental papilin mezenkim dokusundan farklılaştıktan sonra, ameloblastlar diş germinin epitelyal komponentinden gelişirler.⁽²¹⁾ Ameloblastlar farklılaştıkça, odontoblast hücreleri daha kalın predentin tabakası salgırlar. Matriks mineralize olmadan ve ameloblastlar aktifleşmeden hemen önce, ameloblastların distal yüzeyinde kısa uzantılar gelişir. Bu kısa hücre uzantıları; bazal membran devamlılığını bozar ve bazal membranın içine doğru uzanır. Aynı zamanda, ameloblast hücrelerini predentin tabakasından ayırır. Kısa hücre uzantıları, ameloblast

hücrelerinin sitoplazmasına doğru uzanır böylece ameloblast hücrelerinin sitoplazmasında bazal membran kalıntılarını içeren invajinasyonlar görülür.

Hücrenin distal uzantısı, daha sonra predentine derinlere nüfuz ederek oradaki kollajen fibrillerin mineralleşmesini sağlamaktadır. İlk oluşan mine matriksine benzeyen materyal, ameloblastların distal ucundaki salgı granülleri içinde ve hücreye bitişik kollajen fibrillerin etrafındaki hücre dışı boşluklarda görülür.⁽²⁷⁾ Ameloblastlar ilk salgısını yapmaya başlar; ilk oluşan, tabaka prizmasız mine tabakasıdır. Tomes liflerini oluşturmak için, mine matriksleri bağlantı alanlarının distal bölgelerine bitişik hücreler arasında birikir. Matriks boyut olarak artar ve başlangıçtaki mine tabakası ile birleşir, böylece hücrenin distal ucu mineralize mine matriksi ile kaplanır. DEJ'den uzaklaşan ameloblastlar, yeni matriks üretimine ve ince bir tabaka mine oluşumuna devam ederler. Özetle; Tomes lifleri aracılığıyla salgılanan materyal prizma içindeki mine oluşumunu gerçekleştirir. Mine tam kalınlığa ulaştığında, ameloblastlar Tomes liflerini kaybeder ve prizmasız mine tabakası oluşur.⁽²⁷⁻²⁹⁾

Daha sonra ameloblastların hücre yüksekliğinde belirgin bir azalma görülür ve bazı ameloblastlar tamamen dejenere olur. Artık hücre içinde bir takım değişiklikler görülmektedir. Mitokondri sayıları artar, golgi aygıtının hacmi azalır. Proksimal ve distal hücre ağları ve bağlantı birimleri belirgin olarak azalır. Mine tamamen olgunlaştıktan sonra, diş erüpte olmadan önce yüksekliği iyice azalan ameloblast hücreleri büzülerek kübik şekil alır.⁽²⁷⁾

➤ İç Mine Epiteli Hücreleri:

İç mine epitel hücreleri, çan aşamasında tek tabaka halinde dizilmiş silindirik epitel hücrelerden oluşur. Daha sonra bu hücreler dentin oluşmadan önce, uzun silindirik hücreler olan ameloblastlara dönüşür. Bu dönüşüm tüberkül tepelerinden başlamaktadır. Yatay kesitlerde mine prizmalarına benzerler ve altıgen şeklindedirler, altlarındaki farklılaşmamış mezenkim hücrelerine etki ederek bu hücrelerin odontoblastlara dönüşümünü sağlarlar. İç mine epitel hücreleri RNA bakımından zengindir, ancak stratum intermedium ve stellate retikulumun aksine alkali fosfataz içermezler. Desmozomlar, iç mine epitel hücrelerini birbirine ve stratum intermediuma bağlar. İç mine epiteli, bir bazal membran ve hücresiz bir bölge ile dental papilin periferik hücrelerinden ayrılır.⁽¹⁵⁾

➤ **Stratum Intermedium Hücreleri:**

Stratum intermedium, iç mine epiteli üzerinde iki veya üç katlı yassı epitel hücrelerden oluşur. Asidofilik boyanma özelliğine sahip stratum intermedium hücrelerinin çekirdekleri ortadadır. Stratum intermedium, mine pulpası hücrelerine benzer, ancak hücreler arası boşlukları daha küçüktür ve hücreler çok fazla alkali fosfataz içerir. Stratum intermediumun; protein sentezi, iç mine epitelinde mineyi oluşturan hücrelere bazı materyallerin taşınması ve bu hücrelerden de bazı materyallerin dışarıya taşınması ve materyallerin konsantrasyonu ile ilgili görevleri vardır. Minenin oluşumunda esas rolü oynar. Stratum intermedium hücreleri; minenin mineralizasyonu için gerekli olan materyallerin ayrışmasına yardım ederler. İnterprizmatik aralığın mineralizasyonundan sorumludur. Nasmyt zarının oluşmasında rol oynar. Bu tabaka, embriyonun mine oluşumunu yapacak kısımda mevcut olduğu halde kök oluşumunu yapacak kısımlarda yoktur. Bu nedenle kole bölgesine isabet eden yerlerde mine ile sement arasında bir devamlılık olmayabilir.⁽²⁷⁾

➤ **Stellate Retikulum (Mine Pulpası):**

Mine pulpası, en fazla çan aşamasında gelişir. Hücreler arası boşluklarda, yüksek glikozaminoglikan (GAG) konsantrasyonundan kaynaklanan ozmotik basıncın etkisiyle sıvı miktarı artmıştır. Hücre çekirdekleri belirgindir. Hücre gövdeleri çok sayıda dallanma gösterdiğinden şekli bir yıldıza benzemektedir. Hücreler birbirleriyle bu dallanmalarla anastomoz yaparlar. Mine oluşumu başlamadan önce hücreler arası sıvının kaybı ile mine pulpası büzülür. Stellate retikulum hücreleri stratum intermedium tabakasının hücrelerinden güçlükle ayrılır. Bu değişiklik tüberkül ve kesici kenarların tepesinden başlayarak koleye doğru ilerler. Mine pulpasının hücreleri albümin içermektedir. Ameloblastlara, Ca^{+2} için gerekli olan madde stratum intermedium aracılığı ile bu albuminli maddelerden sağlanır. Mine oluşumunun başlamasıyla bu yıldız şeklindeki hücreler kaybolmaya başlar. İki ayrı kısımda erime tamamlandığı halde ortada erimeyen bir set kalır, buna “**mine septumu**” denir. Zamanla bu set ortadan kalkar.

Mine pulpasının mezenkim benzeri özellikleri, kollajen sentezinden sorumludur. Bu katmanın hücreleri küçük endoplazmik retikulum ve az miktarda mitokondri içermektedir. Bununla birlikte, iyi gelişmiş golgi kompleksi ve hücre yüzeylerinde mikrovillus vardır. Sitoplazmalarında çok sayıda tonofilament bulunur. Hücreler

birbirlerine desmozomlar ve ara bağlantı proteini ile bağlanırlar. Mine pulpasının esas görevi, hem dişin şeklini belirlemek hem de fiziksel bir hasara karşı alttaki diş dokularını mekanik olarak korumaktır. Mine pulpasında üretilen hidrostatik basınç, dental papildeki basınç ile denge halindedir. Arada bulunan iç mine epitelinin çoğalma özelliği ise, kron morfogenezinin belirlenmesine izin vermektedir. Mine pulpası, koloni uyarıcı faktör (CSF-1), transforme edici büyüme faktörü beta-1 (TGF-1) ve paratiroid hormonu ile ilişkili protein (PTHrP) üretir. Bu moleküller, dental foliküle salınır ve gelişmekte olan diş büyüdükçe ve ağız içerisine sürdüğünde bitişik alveoler kemiği rezorbe etmek için gerekli osteoklastları toplamaya ve aktive etmeye yardımcı olurlar.⁽¹⁵⁾

➤ **Dış Mine Epiteli Hücreleri :**

Dış mine epiteli, mine organını çevreleyen küboidal hücrelerin dış tabakasını oluşturur. Bir bazal membran ile mezenkimal dokudan ayrılır. Dış mine epitel hücreleri büyük ve merkezi olarak konumlanmış çekirdekler içerir. Protein sentezi ile ilişkili hücre içi organellere sahiptir. Hücreler birbirlerine desmozomlar ve ara bağlantı proteini ile bağlanırlar. Mine organına hiç kapiller girmediği için mineralizasyondaki gerekli maddeler etraftaki kan damarlarından difüzyonla sağlanmaktadır. Bu geçişi sağlayan dış mine epiteli aracılığıyla; gerekli maddeler, mine pulpasına oradan stratum intermedium ve ameloblastlara kadar ulaşır. Dış mine epiteli, mine organının şeklini korumakta ve mine organı ile çevre arasındaki maddelerin değişimini sağlamaktadır.⁽¹⁵⁾

➤ **Dental Papil :**

Geç çan aşamasına kadar, dental papil sadece birkaç hücre dışı lif ile sıkıca sarılmış mezenkimal hücrelerden oluşur. Histokimyasal olarak, dental papil hücreleri GAG bakımından zengindir. Odontoblastların oluşumundan sonra daha derindeki hücreler pulpa hücrelerine dönüşürler. Bir taraftan da yeni kan damarları ve sinirler oluşarak dental papil içinde dağılmaya başlar. Dental papil, dentinin şekillenmesini ve kireçlenmesini sağlar. Kök şeklini takip ederek daralır ve kök oluşumu sona erdikten sonra “**diş pulpası**” adını alır.⁽¹⁵⁾

➤ **Bazal Membran (Membrana Formativa) :**

Bazal membran, epitel hücrelerini altındaki bağ dokudan ayıran glikoprotein ve mukopolisakkaritlerden oluşmuş ince bir tabakadır. Dental papil ile iç mine epiteli

bazal membranlar aracılığıyla, ameloblastlar arasında selektif bir transport sağlar. Kısaca bazı moleküllerin bağ dokusundan ameloblastlara geçişine olanak sağlar.⁽²⁶⁾

iv) Morfolojik farklılaşma (gelişmiş çan) aşaması:

Bu aşamada diş, çan şekline benzemektedir. Dişin son boyut ve şeklinin belirlendiği aşamadır. İç mine epitelinin mezenkim üzerindeki organize edici etkisi pluripotent mezenkimal bağ doku hücrelerini hücre organizasyonu açısından değişime uğratar ve böylece odontoblast hücreleri sentezlenir. Odontoblast hücrelerinden dentin oluşumu başlar. Dentin oluşumunu takiben iç mine epitel hücreleri ameloblastlara dönüşür ve mine matriksi salgılanmaya başlar. Mine oluşumu için dentin varlığı şarttır. Morfolojik farklılaşmanın olması ile mine dentin sınırı belirlenir.^(25, 26)

v) Appozisyon:

Diş gelişiminin bu aşaması, diş sert dokularının oluşumu ile ilişkilidir. Dentin oluşumu her zaman mine oluşumundan önce gelir. Mine ve dentin oluşumu, tüberkül tepeleri ve insizal kenarlarda başlar. Pre-ameloblastların indüktif etkisi altında, dental papilin bitişik mezenkim hücreleri kolumnar hücreler haline gelir ve odontoblastlara farklılaşır. Odontoblastlar daha sonra predentin ve dentin oluşumunda rol oynar. Dentin varlığı daha sonra ameloblastların mine salgılamasına neden olur.⁽¹⁵⁾ Bu aşamada büyüme appozisyonel, katmanlı ve düzenlidir. Mine ve dentin matriksi katmanlar halinde yığılmaktadır.

2) Kalsifikasyon:

Daha önce gelişen sert doku matriksine mineral tuzlarının çökmesi ile meydana gelir. Mine, ağırlıkça yaklaşık %96 inorganik madde, %3 su ve %1 organik maddeden oluşmaktadır. İnorganik kısımda başlıca; Ca^{+2} ve fosfor (P) ve daha az oranlarda magnezyum (Mg), sodyum (Na), potasyum (K), klorür (Cl), F, sülfür (S^{-2}), bakır (Cu), silikon, demir (Fe), çinko (Zn) ve kurşun (Pb) gibi pek çok element yer alır. Kalsiyumfosfat tuzları ilk önce oktakalsiyumfosfat (OCP) kristalleri halinde olup zamanla kalsiyumfosfat sisteminin en ideal kristal yapısı olan hidroksiapatite dönüşürler. Bu olayda F ve CO_3^{-2} iyonları katalizör olarak rol oynar. Kalsifikasyon dişlerin tüberkül tepelerinden ve kesici kenarlarından başlar. Mine kalsifikasyonu appozisyonel bir biçimde devam ettiği için minede retzius çizgileri olarak adlandırılan büyüme çizgileri görülür.⁽²⁶⁾ Sonuç olarak kalsifikasyon ile, daha

önceden oluşturulmuş kalıbın içerisine inorganik tuzların çökmesiyle, kalıp içerisindeki matriksin sertleşmesi sağlanır.

3) Sürme:

Dişin klinik kron oluşumu tamamlandıktan sonra, iç ve dış mine epitelinin bir hortuma benzer şekilde gelişmeye devam etmesiyle kök gelişimi başlar. İçte iç mine epiteli, dışta dış mine epitel hücrelerinden oluşan birleşik mine epitel hortumuna “**hertwing epitel kını**” adı verilir. Hertwing epitel kınında iki epitel arasında mine pulpası yoktur. İç mine epitel hücrelerinin etkisiyle mezenkimal bağ dokusu kökenli hücreler, odontoblastlara dönüşür ve kök dentinini salgırlar. Kök uzunluğunun yarısı veya üçte ikisi oluştuğunda ise diş sürme dönemine girer.⁽²⁶⁾

4) Atrizyon:

Dişlerin oklüzyonda karşıt dişlerle teması sırasında aşınmasıdır.⁽³⁰⁾

II) Minenin fiziksel özellikleri:

1) Mine kalınlığı:

Mine kalınlığının en fazla olduğu diş bölgeleri insizal ve okluzal bölgelerdir. Mine kalınlığı, insizal ve okluzal bölgelerden mine-sement birleşimine ve DEJ’e doğru aşamalı olarak azalır. Kesici dişlerin insizal kenarlarında ortalama mine kalınlığı 2 mm iken, küçük azı dişlerin tüberkül tepelerinde 2,3–2,5 mm arasında ve azı dişlerin tüberkül tepelerinde 2,5–3 mm arasında olup diş grupları arasında da farklılık göstermektedir. Posterior dişlerin gelişimsel tüberküllerinin birleşim bölgelerinde, mine kalınlığı genelde azalır, hatta bazen birleşim bölgesinin tam kaynaşmamış olduğu fissürlerde mine kalınlığı neredeyse sıfıra yakındır.⁽²²⁾

2) Mine rengi:

Genç mine daha düşük translusentliğe ve daha beyaz renge sahiptir. Mine yarı saydam özellikte olduğundan; minenin rengi altta bulunan dentin dokusunun rengine, mine kalınlığına ve minedeki renklemelerin miktarına bağlıdır. Süt dişi minesini mavimsi beyaz renkte iken, daimi dişler genelde sarımsı beyaz veya grimsi beyaz renktedir.⁽²²⁾

3) Minenin translusentliği:

Saydamlık (translulentliki) miktarı; kalsifikasyon düzeyi ve homojenite durumu ile ilişkilidir.⁽²²⁾ Yaşla birlikte minenin translusentliği artmaktadır.

4) Minenin sertliği:

İnsan vücudundaki en sert doku minedir. Sertlik; diş dış yüzeyindeki konumuna göre değişebilmektedir. Ayrıca en düşük sertlik değeri, DEJ’de olacak şekilde dişin iç kısmına doğru gidildikçe azalır. Diş minesinin yoğunluğu da yüzeyden DEJ’e doğru azalır.⁽²²⁾

5) Gerilme dayanıklılığı, elastisite modülü:

Sert bir yapıya sahip olan mine; düşük gerilme dayanıklılığı ve yüksek elastisite modülü ile kırılğan bir yapıya sahiptir.⁽²²⁾

6) Minenin geçirgenliği:

Mine sert ve sıkı bir yapı olmasına rağmen, bazı iyon ve moleküllerin kısmen veya tamamen geçişine izin verecek şekilde geçirgen bir yapıdadır. Bu geçirgenlik özellikle prizma kınları, mine çatlakları veya diğer defektler gibi organik bakımdan zengin ve hipomineralize bölgelerde daha fazla olmaktadır. Mine kristalleri arasındaki küçük boşluklarda suyun bulunması taşıyıcı bir ortam oluşturarak, iyon ve moleküllerin geçişini kolaylaştırmaktadır. Geçirgenlik sürekli devam etmekle birlikte, matriks yapısındaki bazı değişiklikler nedeniyle minenin geçirgenliği yaşla beraber azalır, ancak hiçbir zaman kaybolmaz. Geçirgenliğin azalması “**minenin olgunlaşması**” (**mine maturasyonu**) olarak adlandırılmaktadır.⁽²²⁾

7) Minenin çözünürlüğü:

Asit varlığında mine dokusu çözünür. Minenin çözünürlüğü; mine yüzeyinden DEJ’e doğru gidildikçe artar. Minenin oluşumu sırasında ortamda F varsa veya mineye topikal F uygulandıysa mine yüzeyinin çözünebilirliği azalır.⁽²²⁾

8) Yüzey porözitesi:

Mine yüzeyi, yüzey altı mineden daha sert, daha yoğun ancak daha az gözeneklidir. Mine, diş sert dokuları içerisinde en az poröz olan dokudur.⁽²²⁾

III) Minenin kimyasal özellikleri:

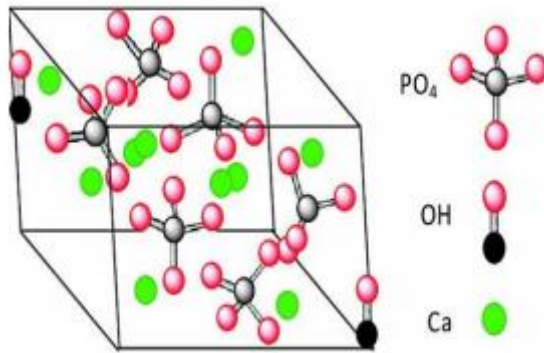
Mine, ağırlıkça yaklaşık %96 inorganik madde, %3 su ve %1 organik içerikten oluşmaktadır. Minenin kimyasal yapısı hacimsel olarak %87,1 inorganik madde, %1,4 organik madde ve %11,5 sudan oluşmaktadır.⁽³¹⁾ İnorganik bileşen esas olarak hidroksiapatit kristalleri formunda kalsiyum fosfat bileşikleridir. Az miktarda CO_3^{2-} , Mg, K, Na ve F de mevcuttur. Olgun minedeki organik matriks esas olarak iki

protein grubu içerir. Organik matriksin %90'ı amelogenin ve amelogenin olmayan proteinlerden oluşmaktadır. Mine gelişimi sırasında amelogeninler uzaklaştırılmasına rağmen, olgunlaşmış minede az miktarda amelogenin bulunmaktadır. Mine içeriğindeki su, doku porözitesi ile ilgilidir. Suyun bir kısmı kristaller arasında bulunur ve organik materyali çevrelerken, bir kısmı da defektli kristaller içinde sıkışarak, bu kristalleri kaplayan bir hidrasyon tabakası oluşturur.⁽¹⁵⁾

IV) Minenin yapısal özellikleri:

1) Hidroksiapatit (HA) kristalleri :

Mine prizmalarının en küçük yapısal bileşeni olan hidroksiapatit kristalleri, yaklaşık 60 nm (nanometre) genişliğinde 30 nm kalınlığında büyük kristallerden oluşmaktadır. Kimyasal formülü $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ olan hidroksiapatit kristalleri; enine kesitlerde düzgün altıgen şeklinde olup her bir hücresi, 1 hidroksil (OH^-) grubuna bağlı 3 Ca^{+2} iyonu içermektedir. Ca^{+2} iyonları da PO_4^{3-} iyonları ile çevrilidir. Böylece bir altıgendeki 6 Ca^{+2} iyonu, 6 PO_4^{3-} iyonu ile çevrilidir⁽³²⁾ (Şekil 2.1).⁽³³⁾



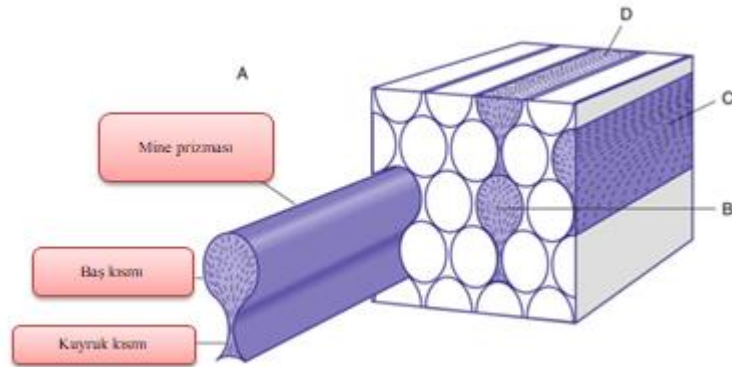
Şekil 2.1. : Hidroksiapatit kristal yapısı

Baş (çekirdek, gövde) kısmının merkez bölgesindeki hidroksiapatit kristallerinin uzun aksları, mine prizmalarının uzun aksına neredeyse paralel iken, kuyruk bölgesindeki kristaller prizma aksına 65° eğimle uzanırlar.⁽¹⁵⁾ Hidroksiapatit kristallerinin dizilişi ve boyutundaki değişiklikler, minenin sertliğini ve optik özelliklerini etkilemektedir.⁽³²⁾ Kristallerin farklı doğrultularda birbirlerine sıkıca paketlenmiş olması, mine prizmalarına dayanıklılık ve yapısal sağlamlık kazandırır.⁽¹⁵⁾

Hidroksiapatit kristallerinin; çürük oluşumunda ve minenin pürüzlendirilmesinde asitlere karşı duyarlılığının, hidroksiapatit kristallerinin dizilim şekilleriyle ilgili olduğu düşünülmektedir. Kristallerin çekirdek olarak adlandırılan baş kısımları, perifer kısımlardan daha fazla çözünmektedir. Kristal oluşumu arttıkça, minenin çözünürlüğü azalır. Asitler karşısında çözünme süreci daha çok baş kısmında gerçekleşirken, baş kısmının çevresindeki kuyruk bölgeleri asit ataklarına karşı daha dayanıklıdır. Kristal oluşumu; birkaç farklı kimyasal ara ürün oluşturan yavaş ilerleyen bir süreçtir. İlk oluşan ve son oluşan kristallerin yapısı ve stokiometri birbirinden farklıdır. Minede kalsiyum ve fosfat minerallerinin farklı formları bulunmaktadır. OCP kristalleri, son oluşan hidroksiapatit kristallerinin öncü formlarıdır.⁽¹⁵⁾ Hidroksiapatit kristallerine, sistemik yolla alınan F katıldığında; F, hidroksiapatit kristallerinin OH⁻ gruplarıyla yer değiştirerek, florapatit kristallerinin oluşumunu sağlar. Florapatit, asitlere karşı hidroksiapatit kristal yapısından daha dirençlidir. Bu da minenin asitler karşısında çözünürlüğünü azaltır.^(15, 34)

2) Mine prizmaları:

Mine dokusu, çapraz kesitlerde yuvarlak bir baş ve bir kuyruk kısmından oluşan, yaklaşık 3-5 µm (mikrometre) çapında, karmaşık bir yapıda sıralanmış kristal demetlerinden oluşan prizmalar, interprizmatik madde ve prizma kınından oluşur. Mine prizmalarının anahtar deliği şeklindeki yapısı şekil 2.2’de gösterilmiştir.⁽³⁵⁾



Şekil 2.2 : Mine prizmalarının yapısı

Her bir prizmanın baş kısmı 1 ameloblast tarafından, kuyruk kısmı ise 3 ameloblast tarafından oluşturulur. Prizmaların, baş kısmı yaklaşık 5 µm genişliğinde, kuyruk kısmı ise 5 µm uzunluğunda olup, her prizmanın baş kısmı komşu iki prizmanın kuyruk kısımları arasında uzanır.⁽³⁶⁾

Hidroksiapatit kristallerinin dizilim şekli, mine prizmalarının görünümünü etkiler. Mine prizmalarındaki hidroksiapatit kristallerinin dizilimi, interprizmatik alandaki hidroksiapatit kristallerinin diziliminden daha sıkıdır. Ancak her bir kristal; su ve organik madde bulunan küçük kristaller arası boşluklarla ayrılmıştır.⁽³⁷⁻³⁹⁾ Mine prizmalarının ve kristallerinin uzunlukları türler arasında farklılık göstermekte olup, diğer mineralize iskelet dokularındaki kristallerden daha uzun olabilir.⁽¹⁴⁾ Mine prizmaları sıkıca paketlenmiş, dalgalı bir yapıdadır. Minenin yapısal bileşenleri içerisinde en fazla yere sahip olan mine prizmalarının sayısı, her dişe göre farklılık göstermektedir. Örneğin bir mandibular kesici diş için yaklaşık 5 milyon civarında iken, bir maksiller molar diş için 12 milyona kadar değişebilir.⁽¹⁵⁾

3) Prizma kını ve interprizmatik alan:

Mine prizmalarının çevresinde prizmalardan daha koyu renkte belirgin bir çizgi vardır. Prizmaları interprizmatik alandan ayıran bu çizgiye “**prizma kını**” denir. Prizma kını, prizmalara göre daha çok organik içeriğe sahip olup, daha az kalsifiyedir. Prizma kını elektron mikroskopunda genellikle tamamlanmamış çizgiler olarak görünür.

Her iki prizma arasındaki alan, “**interprizmatik alan**” olarak adlandırılır ve bu alanda her iki prizmanın birbirine yapışmasını sağlayan 1µm kalınlığında ara madde vardır. Bu ara maddeye “**interprizmatik mine**” denir. İnterprizmatik mine, prizma kınından daha çok kalsifiyedir, ancak mine prizmalarından daha az kalsifiyedir. İnterprizmatik minede, prizmalar arasında uzanan ince çizgiler vardır. Bu çizgilerin ameloblast hücre kalıntısı olduğu düşünülmekte olup, bu çizgiler “**interkolumnar köprüler**” olarak adlandırılmaktadır.⁽²⁵⁾ Mine prizması ve interprizmatik mine arasındaki fark, hidroksiapatit kristallerinin dizilimidir; mine prizmalarındaki kristaller prizmaların uzun eksenine paralel ilerlerken, interprizmatik minedeki kristaller mine prizmalarına 40°-65° ile eğimli dizilmiştir.^(25, 40) Bu yapılar, yüksek kuvvetlere dayanabilir ve çatlak oluşumuna karşı dayanıklı mine sert dokusunu oluşturmak için birleşirler.^(25, 41)

4) Boğumlu mine (gnarled enamel):

Dentin sınırından mine yüzeyine uzanan mine prizmaları, dentine yakın üçte birlik kısımda dalgalı bir yol izlerken, geriye kalan üçte ikilik kısımda ise daha düz bir yol izleyerek diş yüzeyinin birkaç µm altında sonlanır. Tüberkül tepelerinin ve insizal

kenarların dentine yakın olan bu üçte birlik kısmında mine prizmaları komşu prizma grupları ile sarmal bir yapı oluşturarak diş yüzeyine doğru düzensiz bir yapı şeklinde uzanırlar. Oluşan bu yapı, servikal bölgelerde veya insizal ya da okluzal alanlarda, özellikle oblik kesitlerde karmaşık bir görüntü oluşturur, bu görünüme “**boğumlu mine**” adı verilir. Boğumlu minede, düzenli minedeki gibi yarıklar veya çatlaklar bulunmaz.⁽²²⁾

5) Hunter-Schreger çizgileri:

Mine prizmalarının yönlerindeki düzenli değişiklikler, farklı kalınlıklarda açık ve koyu renkte çizgilenmeler ortaya çıkarmaktadır. Bu çizgilenmelerin neden olduğu optik görüntüye “**Hunter-Schreger Çizgileri**” denmektedir. Mine prizmalarının yönleri ve sayıları her dişte farklılık gösterdiği için, Hunter-Schreger çizgilerinin sayıları, organik içeriği ve geçirgenliği de her dişte farklıdır.⁽²²⁾

6) Mine tuğları:

DEJ’de bulunan mine tuğları, prizmalar arası madde ve mine prizmalarından oluşan iyi kalsifiye olmamış yapılardır. Mine tuğları dentinden başlar, kronun uzun aksı boyunca, mine kalınlığının 1/3-1/5 mesafesine kadar uzanırlar. Mine proteinlerinden zengindirler. Mine tuğları, iyi kalsifiye olmamış yapılarından dolayı, çürüğün yayılmasına ve bakteri geçişine neden olan hipomineralize oluşumlardır.⁽²²⁾

7) Mine lamelleri:

Mine yüzeyinden DEJ’e doğru uzanan, bazen de dentin dokusunun içine doğru ilerleyen, mine prizmaları arasında bulunan, ince ve yaprak görünümünde kusurlu alanlardır. Lameller de tuğlar gibi; iyi kalsifiye olmamış interprizmatik ara madde ve prizmalardan meydana gelirler. İçeriğinde daha çok organik materyal daha az oranda inorganik materyal bulunmaktadır. Lamellerin, bakteri girişine sebep olduğu ve diş çürüğü için elverişli alanlar oluşturduğu bilinmektedir.⁽²²⁾

8) Mine pistonları:

Odontoblast uzantıları (Tomes lifleri) bazen DEJ’de sona ermeyip, mine içerisine doğru kısa uzantılar oluşturmaktadır. Minedeki odontoblast uzantılarının uçları kalın olduğu için, “**mine pistonları**” olarak tanımlanırlar. Bazı durumlarda ağrı reseptörü olarak görev yaparlar, bu da bazı hastalarda diş preparasyonu sırasında görülen hassasiyetin nedeni olarak açıklanabilir.⁽²²⁾

9) Retzius Çizgileri:

Kron oluşumu sırasında, minenin tabakalar halinde düzenli olarak birikmesi sonucu oluşan kahverengi bantlar “**retzius çizgileri**” olarak adlandırılmaktadır. Ameloblastların salgı aktiviteleri arasındaki farklılıklardan kaynaklanan retzius çizgileri, transvers kesitlerde iç içe geçmiş halkalar şeklinde görülür. Dikey kesitlerde ise bu çizgiler tüberkül tepelerini ve kesici kenarları simetrik bir ark şeklinde geçmekte servikal alana kadar çapraz olarak devam edip DEJ’de son bulmaktadır.

Retzius çizgileri, mine prizmalarının periyodik olarak bükülmesiyle ilişkilendirilmiştir. Retzius çizgilerinin organik yapıları birbirinden farklıdır. Retzius çizgileri, fizyolojik kalsifikasyon ritmini temsil eder. Bu nedenle retzius çizgileri, büyüme çizgileri olarak da kabul edilir. Retzius çizgilerin genişlemesi matriks oluşumu sırasında meydana gelen metabolik bir bozukluğu yansıtabilir.⁽²²⁾

10) Neonatal çizgi (doğum çizgisi):

Süt dişi minesinin gelişimi doğum öncesinde başlar ve doğumdan sonra da devam eder. Süt dişlerindeki doğum öncesi ve doğum sonrası oluşan mine arasındaki sınır, bir retzius çizgisi olan “**neonatal çizgi**” ile ayrılmaktadır. Doğum zamanına bağlı olarak belirgin neonatal çizginin varlığı; doğum öncesi ve doğum sonrası oluşan mineyi ayırt etmeye yardımcı olduğu gibi, bir hastalığın oluşma zamanı hakkında bilgi verir.⁽⁴²⁾ Neonatal çizgi, diğer retzius çizgilerinden daha kalın ve koyu renktedir. Doğumla beraber ani değişen ortam ve besin içeriği süt dişlerinde neonatal çizgilerin oluşmasına neden olmaktadır. Prenatal mine, daha korunaklı bir ortamda geliştiği için, postnatal mineye göre daha homojen yapıdadır ve daha iyi gelişmiştir. Prenatal minede daha az retzius çizgisi bulunur.⁽²²⁾

11) Pickerill’in imbrikasyon çizgileri ve perikimati:

Retzius çizgileri, mine yüzeyinde “**Pickerill’in imbrikasyon çizgileri**” olarak tanımlanan dalgalı oluklar meydana getirir. Oluklar arasındaki yükseltiler “**perikimati**” olarak adlandırılır. Bu oluşumlar genelde birbirine ve mine sement birleşimine paralel olacak şekilde diş çevresi boyunca bulunurlar. Perikimatiler, dikkatle bakılacak olursa, genç insanların dişlerinin labial yüzeylerinde görülebilir. Servikalden oklüzal ve insizale doğru gidildikçe sayıları azalmaktadır. Tüberkül tepesinde perikimati bulunmaz; çünkü retzius çizgileri eliptik bir yol izleyerek ve

DEJ'den başlayarak yüzeyi bölmeden tüberkül tepesinin bir tarafından diğer tarafına uzanırlar.⁽²²⁾

12) Aprizmatik mine tabakası:

Ameloblastlar; salgı hücreleri olarak işlev görmeye başladığında, Tomes lifleri olarak adlandırılan distal bir uzantı geliştirirler, daha sonra ameloblast hücre organelleri bölümlere ayrılmakta ve hücrelerin distal kısımlarında Tomes liflerinin sayıları artmaktadır.^(39, 43) Bu liflerin yokluğu dişte aprizmatik bölgenin oluşmasına neden olur.^(14, 44)

Genellikle servikal alanda, bazen de tüberkül tepelerinde, yaklaşık 30 µm kalınlığında dış mine tabakası bulunur. Bu tabakada, hidroksiapatit kristalleri olmasına rağmen, hiç mine prizması görülmediği için “**aprizmatik mine tabakası**” ya da “**prizmasız mine**” olarak adlandırılır. Daimi dişlerin yaklaşık %70'inde, süt dişlerinin ise tamamında aprizmatik mine tabakası bulunmaktadır.

Minenin aprizmatik bölgelerinin esnek yapıları nedeniyle, sert bir mekanizma görevi gören dişin ilkel bölgeleri olduğu öne sürülmüştür.^(41, 45) Bazı araştırmacılar, DEJ'e bitişik süt ve daimi dişin insizalinde bulunan bu aprizmatik alanları belirlemişlerdir.^(22, 46, 47)

13) Nasmyt zarı (Primer mine kütikulası):

Mine dokusunu oluşturan ameloblastlar en son prizmayı meydana getirdikten sonra, kaybolmadan önce, son olarak minenin üzerini örten çok ince bir tabaka daha salgırlar. “**Primer mine kütikulası**” olarak bilinen bu tabaka, normal şartlar altında ışık mikroskobu ile çok zor görülür. Ancak floresan mikroskopla yapılan araştırmalarda, bu maddenin 1µm kalınlığında olduğu görülmektedir. Bu doku sonradan dişin sürmesi esnasında birleşik mine epiteli ile kaynaşarak 10µm kalınlığına kadar ulaşabilir ve “**Nasmyt zarını**” yapar. Diş, ağız içerisine sürdüğü zaman bu zarla örtülüdür ancak zamanla çiğneme ve temizlenme ile diş yüzeyinden uzaklaşır. Diş sürüp ağız boşluğundaki yerini aldıktan sonra bu zarın üzerine tükürük kaynaklı yeni bir kütikula tabakası çöker.⁽²²⁾

🌈 Nasmyth zarı, dişin ağız boşluğuna sürmesinden önce diş minesini komşu vasküler dokunun rezorptif aktivitesinden korumaktadır.

- ✚ Nasmyth zarı, mine ve dentini diş folikülünün damar dokusundan koruyan epitel örtüsünün bir parçasıdır. Hertwig'in epitel kılıfı ve odontoblastlar bu epitelin diğer kısımlarıdır. Süt dişlerinin rezorpsiyonu ve dişlerin idiyopatik rezorpsiyonu gibi durumlarda, bu koruyucu bariyer yıkılarak dentin ve/veya minenin tahrip olmasına yol açar.
- ✚ Kök oluşumu ilerledikçe sement, Hertwig'in epitel kılıfının yerini alır ve benzer bir koruyucu etki gösterir.⁽⁴⁸⁾

2.3. Amelogenesis

✚ Mine Oluşumunda Hücresel Süreç

“**Amelogenesis**” olarak da adlandırılan mine oluşumu, hassas genetik kontrolün yanı sıra protein-protein etkileşimlerini, protein-mineral etkileşimlerini ve hücre zarı etkileşimlerini içeren bir süreçtir. Oluşan hidroksiapatit kristallerinin boyutları, mineralizasyon aşamasına bağlı olarak değişir. Kristaller, salgılama aşamasında boyuna büyürken; olgunlaşma aşamasında ise enine büyümeye devam eder.

Mine, protein içeren organik bir matrikste bulunan biyolojik apatitlerden oluşur.⁽⁴⁹⁾ Mine kristallerinin başlangıç çekirdeklenmesini (nükleasyon) açıklamak için iki farklı teori önerilmiştir. İlk teori; en erken mine kristal birikiminin, DEJ'de dentin oluşumu sırasında ortaya çıkan mineralize kollajen fibrillerden kaynaklandığını öne sürmektedir. Bu teoride, mineye giren ve iki doku arasında neredeyse kesintisiz bir bağlantı oluşturan dentin kristallerinin bir sonucu olarak mine kristallerinin oluşabileceği öne sürülmektedir.^(38, 50) İkinci teori; başlangıç çekirdeklenmesinin, ameloblastlar tarafından salgılanan bir kalıp üzerinde gerçekleştiği ve hidroksiapatit kristallerinin büyümesinin çekirdeklenmeye neden olduğu şeklindedir.⁽⁵¹⁾ Mine oluşumu hangi mekanizmayla gerçekleşirse gerçekleşsin, hücresel ve kimyasal süreçlerden oluşan 5 aşama ile meydana gelir.

Bu aşamalar;

- a) Salgılama öncesi aşama
- b) Salgı aşaması
- c) Geçiş aşaması
- d) Olgunlaşma aşaması ve
- e) Olgunlaşma sonrası aşama olarak adlandırılmaktadır.^(14, 15)

a) Salgılama öncesi aşama:

Mine matriksinin salgı öncesi aşamasında; ilk farklılaşma belirtileri tüberkül tepeleri ve insizal kenarlarda meydana gelir ve yavaş yavaş kronun yanlarına yayılır. İç mine epitel hücreleri silindirik epitel hücresine dönüşür, hücre çekirdeği ise hücrenin stratum intermedium ucuna doğru hareket ederek, hücrede ters kutuplaşmanın meydana gelmesine neden olur. Dental papile bitişik olan iç mine epitel hücrelerinin, dental papilden uzak diğer kısmında protein sentezi ile ilgili hücre içi organeller birikmektedir. İç mine epitel hücreleri “**pre-ameloblastlar**” olarak adlandırılır ve dental papilin bitişik farklılaşmamış mezenkim hücrelerini odontoblastlara dönüşmesi için uyarır. Oluşan odontoblastlar kronun ilk dentinini (manto dentin) salgılar. Bu aşamada hücre dışı mine matriksi bulunmamasına rağmen, az miktarda mine proteini sentezlenir ve bu proteinler epitel-mezenkim etkileşimlerinde rol alır. Dentinin ilk oluşumu ile, pre-ameloblastları bitişik dental papilden ayıran bazal membran yıkılır. Pre-ameloblastlardan salgılanan enzimler sonucu parçalanmış bazal membranın yıkım ürünleri yine pre-ameloblastlar tarafından fagozite edilir.⁽¹⁵⁾

b) Salgı aşaması:

Salgı aşaması; mine matriksinin sentezlenmesi, salgılanması ve düşük seviyede mineralizasyonu ile karakterizedir. Endoplazmik retikulum ve minenin organik matriksini içeren veziküllerde bir artış vardır. Veziküller, salgı granüllerini ilk oluşan dentin hücresinin distal ucundan hücre dışına salgılar. Mine matriksi hücre dışına salgılandığı anda; hidroksiapatit kristalleri matriks içerisinde ince, iğne benzeri kristaller olarak görünür. Bu hücrelere artık “**ameloblast**” adı verilir. Ameloblastlar DEJ’ye dik, ancak kendi içinde paralel bir şekilde dizilirler ve her bir ameloblast, DEJ’den diş yüzeyine uzanan tek bir mine prizmasının oluşumundan sorumludur.⁽⁴⁴⁾ Ameloblastlar dışa doğru göç ettikçe, odontoblastların küçük uzantıları ameloblastlar arasına karışır. Erken mine mineralizasyonu, odontoblast uzantılarının çevrelerinde başladığında, bu uzantılar mine pistonu olarak kalır.⁽¹⁵⁾

c) Geçiş fazı :

Ameloblastların, salgılama aşamasından olgunlaşma aşamasına geçtiği dönem geçiş aşamasıdır. Bu aşamada, mine salgısı durur ve matriksin bir kısmı uzaklaştırılır. Ameloblast hücreleri, yüksekliğinin yaklaşık yarısına kadar küçülür ve ameloblast hücrelerinin yüksekliğinde azalma olması, geçiş fazının başlangıcına işaret

etmektedir. Bu durum suyu ve proteini mineden uzaklaştırmaya yarar. Böylece ameloblast hücreleri “**olgun ameloblastlar**” olarak adlandırılır. Ameloblastların sayısı apoptozla %50’ye kadar azalır. Kalan ameloblastların protein sentezi ile ilişkili organelleri otofagositoz (otofaji) ile azaltılır. Stelat retikulum miktarı azalır, böylece dış mine epitelinin içine giren kan damarları, ameloblastların proksimal ucuna (taban) yakın bir yerde sonlanır.⁽¹⁵⁾

d) Olgunlaşma aşaması:

Başlangıçta oluşan genç minenin; su ve protein içeriği yüksek, mineral içeriği düşüktür ve mine gözenekli bir yapıya sahiptir. Tamamen mineralize minenin oluşmasına “**olgunlaşma**” denir. Minenin olgunlaşması, ilk matriksi salgılayan aynı ameloblast hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Ancak ameloblast hücrelerinin formları farklıdır. Mine hedeflenen kalınlığa ulaştığı zaman, minenin yapısal oluşumu tamamlanır. Mine, olgun minede görülen tüm morfolojik özelliklere sahiptir.

Mine, başlangıçta düşük kalsifikasyon seviyesi ve yüksek organik içeriğe sahiptir. Yeni oluşan mine, ağırlıkça yaklaşık %65 su, %20 organik içerik ve %15 inorganik içerikten oluşur. Buna bağlı olarak, mine daha gözenekli bir yapıya sahiptir. Mine olgunlaşma aşamasıyla beraber, yüksek mineralizasyon seviyesi ve düşük organik içerikli bir doku haline gelmektedir.

Olgunlaşma aşamasıyla birlikte organik matrikste %30’dan %1’e kadar kantitatif değişiklikler olmaktadır. Ayrıca bazı kalitatif değişiklikler de meydana gelmektedir. Genç mine, yaklaşık %90 amelogenin ve %10 amelogenin olmayan protein içerirken, olgun mine ise %90 amelogenin olmayan protein ve %10 amelogenin içermektedir.

Olgunlaşma sırasında mine kristalleri, su ve organik matriks artışına bağlı olarak genişlik ve kalınlık olarak artar. Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları ameloblastlar boyunca hareket ederek olgunlaşan mineye doğru; su ve parçalanmış mine proteinleri ise ters yönde hareket eder. Bu işlem sırasında, kristallerin ortalama kalınlığı yaklaşık 1,5 nm’den yaklaşık 25 nm’ye kadar çıkar. Mine matriksinin, mine organından salgılanan serin proteazlar tarafından parçalanmasının; matriksin mineral kazanımından önce olduğu düşünülmektedir. Olgunlaşmanın ilk aşamasında, matriks kaybının meydana geldiği kısım su ile doldurulur böylece mine daha gözenekli hale gelir. Salgı aşamasından olgunlaşma aşamasına kadar ki süreçte, ameloblastlar işlev

değişikliğinden dolayı, morfolojik değişikliğe de uğrarlar. Ameloblast hücrelerinin yüksekliği azalır ve protein sentezi ile ilişkili organellerde azalma olan hücrenin distal ucunda çizgili bir sınır oluşturan çok sayıda katlanma meydana gelir. Bu formdaki ameloblast dalgalı uçlu olarak tarif edilir. Bu morfoloji, çizgili sınırın bulunmadığı düz uçlu ameloblast ile değişmektedir. İki form arasındaki geçişin olgunlaşma sırasında 5-7 kez gerçekleştiği görülmektedir. Bu geçiş, su ve organik bileşenlerin uzaklaştırıldığı rezorpsiyon aşamaları ile olgunlaşan mineye mineral iyonlarının eklendiği salgı aşamaları arasındaki değişimi göstermektedir. Mine oluşumu gibi minenin olgunlaşması da oldukça uzun bir zaman alır ve tüberkül tepelerinden servikal kenarlara doğru ilerler. Mine içindeki tüm alanlarda tam mineralizasyon elde edilemez. DEJ yakınında prizmatik görünümlü hipomineralize bölgeler “mine tuğları” olarak, diğer kusurlu yapılar ise “mine lamelleri” olarak adlandırılır.⁽¹⁵⁾

e) Olgunlaşma sonrası faz:

Minenin olgunlaşması tamamlandığında, ameloblast hücreleri fonksiyonlarındaki değişikliklerle ilgili olarak morfolojik değişikliğe de uğrarlar. Daha düz ve ince bir hal alan ameloblast hücreleri ile yüzeyel mine, bazal membran olarak da adlandırılan primer mine kütikulası ile birbirinden ayrılır.

Ameloblastların distal, düzleşmiş ucu hemidesmozomlarla bazal membrana bağlanmaktadır. Mine organı kalıntıları ile birlikte ameloblast tabakası, azalmış mine epitelini oluşturur. Azalmış mine epiteli; diş erüpsiyonu boyunca bitişik bağ dokusunu geçerken mine yüzeyini, sement tabakasının olası ilavesinden korumaktadır. Primer mine kütikulası, azalmış mine epiteli ile birlikte “Nasmyth zarını” oluşturur. Diş oral kaviteye sürdüğü zaman, mine yüzeyi tükürük ile etkileşerek mineralizasyonda hafif bir artış görülmektedir. Erüpsiyonla beraber azalmış mine epiteli, artık birleşim epiteline dönüşür.⁽¹⁵⁾

2.4. Minenin Organik Komponentleri

Ameloblastlar; mine matriksi içerisinde farklı yapısal proteinler ve bazı proteinazlar salgılamaktadır. Bu yapısal proteinler arasında en önemli kısmı amelogenin (AMEL) oluşturmaktadır (%80-90). Diğer yapısal proteinler ise; ameloblastin (AMBN) (%5) ve enamelin (ENAM) (%3,5) olup, az oranlarda diğer proteinlerin de yapıya katıldığı bildirilmektedir.⁽⁵²⁾ Bu mine matriks proteinleri; mine mineralizasyonu sırasında

Matriks Metalloproteinaz 20 (MMP-20) ve Kalikrein 4 (KLK-4) gibi proteinazlar tarafından işlenmekte ve ayrıştırılmaktadır.⁽⁵³⁾ Mine matriks proteinlerinin düzenlenmesi ve ayrıştırılması, normal mine oluşumu için kritik öneme sahiptir.⁽⁵⁴⁾

- 1) Amelogenin
- 2) Kendinden birleşen amelogenin
- 3) Amelogenin olmayan proteinler
 - a) Ameloblastin
 - b) Enamelin
 - c) Biglikan
 - d) Tuftelin
 - e) Amelotin
- 4) Proteinazlar
 - a) Matriks Metalloproteinaz 20 (MMP-20, Enamelisin)
 - b) Kalikrein 4 [(KLK-4) - Mine Matriks Serin Proteinaz-1 (EMSP-1)
- 5) Mine gelişiminde etkili olan dentin proteinleri
 - a) Dentin Sialoprotein (DSP)
 - b) Dentin Fosfoprotein (DPP)

1) Amelogenin

Amelogenin proteini ilk kez Eastoe tarafından tanımlanmıştır. Amelogenin kompozisyonunda glutamin (Glu), prolin (Pro), histidin (His) ve lösin (Leu) olduğu bildirilmiştir.⁽⁵⁵⁾

Memelilerde başlıca mine oluşumundan sorumlu amelogenin proteininin ;

- ❖ Başka herhangi bir organ veya dokuda rastlanılmaması,
- ❖ Dişsiz omurgalılarda, kaplumbağalarda ve kuşlarda amelogenin (AMEL) geni bulunmaması,
- ❖ İnsanda amelogenin oluşumundan sorumlu AMEL geni mutasyona uğradığında, mine kusurları dışında hiçbir fenotipik değişiklik gözlenmemesinden dolayı dişe özgü olduğu kabul edilir.⁽⁵⁶⁾

Erken mine mineralizasyonu sırasında, iç mine epitelinden farklılaşan ameloblastlar, toplam mine matriks proteinlerinin %90'ından fazlasını oluşturan temel salgı maddesi olan amelogenin salgırlar.⁽⁵⁷⁾ Amelogenin, mineral büyümesi için bir kalıp görevi görmekte ve diğer mineralize dokulardaki kollajene benzemektedir.

Amelogenin, mine matriksinde bulunan en iyi karakterize edilmiş protein olup mine dokusunun düzgün şekilde oluşabilmesi için gereklidir.⁽⁵⁸⁾ Amelogenin, mine matriksinin baskın proteindir ve hücre dışı ortama salgılandıktan sonra enzimler tarafından, bazı ekleme ve proteolitik işlemlere tabi tutulmaktadır. Bunun sonucu olarak birçok izoformda amelogenin bulunmaktadır.⁽⁴⁹⁾ Amelogeninlerin sadece mine oluşumunu başlatmak için gerekli olmadığı; mine gelişimi sırasında hidroksiapatit kristallerinin ve mine prizmalarının oluşumu ve normal mine kalınlığının sağlanması için de gerekli olduğu bildirilmiştir. Amelogenin proteinlerinin nanosfer oluşumu için kendi kendine bir araya gelmesi; minedeki mineralizasyon işlemi sırasında kristallerin uzaması ve oryantasyonunu kontrol etmede anahtar faktör olarak kabul edilmiştir.⁽⁵⁹⁾ Amelogeninler; nanosferler, nanozincirler ve mikroçubuklar içerisinde kendiliğinden birleşme yeteneğine sahip olduklarından, mine kristallerinin gelişimini yönlendirmek için iskele proteini olarak görev alırlar.^(57, 59) Yapılan bir çalışmada; N (amino terminali) veya C (karboksi terminali) terminalinde mutasyon ile salgılanan transgenik fare amelogenini incelendiğinde; amelogeninin N-terminal alanı, nanosferlerinin oluşumunda rol oynadığı, C-terminal alanının ise, nanosfer boyutlarında stabilite ve homojeniteye katkıda bulunarak mineral kristal birleşmelerinin erken dönemde büyük yapılar oluşturmalarını önlediği gösterilmiştir.^(54, 60) Amelogeninler, kristaller arası boşluğun düzenlenmesi ve kristaller arası birleşmenin önlenmesinden sorumludur.⁽⁶¹⁾ Amelogeninler, aselüler sement oluşumunda da görev almaktadır.

A) TRAP (Tirozinden Zengin Amelogenin Peptidi)

Amelogenin dizisi, her biri mine gelişiminde önemli olan üç alan içermektedir.⁽⁶²⁾

1) N terminal alanı:

Genellikle tirozin (Tyr) bakımından zengin amelogenin peptidi (TRAP) olarak bilinir ve yüksek tirozin içeriğine sahip “**45 aminoasit N-terminal alanı**” olarak tanımlanır. TRAP dizisinin amelogeninden çıkarılması, kendinden birleşmeyi (self assembly) in vitro ve in vivo olarak bozmakta ve proteinin monomerik formlarında artışa yol açmaktadır. Bu kısımda tirosil ve lektin bağlama motifleri bulunmaktadır. Amelogeninin TRAP bölgesindeki tirosil motifi, amelogeninin hücrelerle veya amelogenin olmayan proteinlerle (amelogenin-nonamelogenin) etkileşimlerinde rol alır ve olgun mine içerisinde bulunur.⁽⁶³⁾ TRAP’da bulunan ve bir lektin bağlama

motifi olan “PYPSYGYEPMGGW” motifi, ameloblastlar geri çekilirken kendinden birleşen amelogenin nanosferlerinin yönlendirilmesinden sorumludur.^(63, 64)

2) Merkezi alan:

Amelogeninin en büyük kısmı olup hidrofobik karakterdedir. X ve Y aminoasitlerinin genellikle glutamin olduğu (X-Y-Pro) tekrar bölgelerinden oluşur.⁽⁴⁹⁾

3) C-terminal alan:

C-terminal bölge, N-terminal bölge ve merkezi alanın aksine, kalsiyum fosfat için çekirdeklenme bölgeleri sağlayan negatif yüklü asidik kalıntılara sahiptir. Amelogenin proteinin büyük bir kısmı hidrofobik olup sadece C-terminal bölgesi hidrofiliktir.⁽⁴⁹⁾

Bu üç alan birlikte, proteine işlevsellik kazandıran ve proteinin kendi kendine birleşme kabiliyetini belirleyen amfifilik özellik kazandırır.⁽⁴⁹⁾ Amelogenin yapısındaki birleşmeler, mine kristallerinin gelişimi için çok önemlidir. Amelogenin yapısındaki birleşmelerin bozulması, ilk olarak küçük seviyelerde (nano seviyede) mine oluşumunu etkiler, yapıdaki bozulmalar devam ederse hatalı biçimde mine fenotipinin oluşmasına neden olabilir.⁽⁶⁵⁾ Amelogenin bulunmayan farelerde, amelogenezis imperfektaya (AI) benzeyen bozulmuş bir prizma modelinin görülmesi amelogenin proteinin önemini göstermektedir.⁽⁵⁸⁾ Amelogenin, hücre dışı ortama salgılandıktan sonra enzimler tarafından bazı ekleme ve çıkarma işlemlerine tabi tutulmaktadır. Ancak amelogenin dizisi birçok tür arasında yüksek oranda korunmaktadır. Mine gelişimi ve mineralizasyonunda çok önemli işlevleri olan, C-terminal ve N-terminal bölgeleri ise, özellikle korunmaktadır.^(14, 52, 62)

B) LRAP (Lösinden Zengin Aminoasit Peptidi)

LRAP, toplam 59 aminoasit içermektedir, bu yapının ilk 33 aminoasitlik kısmı, alternatif ekleme yoluyla oluşur; son 26 aminoasitlik kısmı ise tam amelogenin dizisinden oluşmaktadır. LRAP'ın kendi kendine birleşme özelliği yoktur.⁽⁶⁶⁻⁶⁸⁾ LRAP ameloblast farklılaşması, mine büyümesi ve dentin tübüllerinin oluşumunda rol oynamaktadır.⁽⁶⁹⁾ Amelogeninin karboksi (C) ucuna benzer olan LRAP'ın C ucu, hidroksiapatit yüzeylerine bağlanmaktadır. Amelogenin ve/veya LRAP; ortaya çıkan mineralin, şeklini ve yapısını belirlemede önemli rol oynamaktadır.⁽⁷⁰⁾ Ayrıca,

LRAP'ın mineral oluşumunu indüklemek için bir sinyal molekülü olarak hareket etme özelliğinin olduğu gösterilmiştir.⁽⁷¹⁾

Amelogeninler genellikle kümelenme eğiliminde oldukları için fizyolojik koşullar altında düşük çözünürlüğe sahiptirler. Rekombinant ve doğal tam uzunluktaki amelogeninlerin çözünürlük davranışlarında çok az değişiklik vardır. pH 6,0–9,0 arasında olduğunda, nispeten sabit çözünürlük ve izoelektrik noktada (pI~8,0) en düşük çözünürlük değerine sahiptirler.⁽⁵²⁾ (Çözültideki bir amino asit molekülü üzerinde net yükün sıfır olduğu pH değeri, izoelektrik nokta olarak adlandırılır.)

TRAP hidrofobik kısımlara sahip olduğu için çözünme özelliğine sahip değildir. Ancak LRAP, kolaylıkla çözünebilmektedir. 20 kDa (kilodalton) domuz amelogeni, pH 4,0–6,0 aralığında çözünme özelliğine sahipken, pH 7,0 civarında çözünme özelliğine sahip değildir. Çözünürlükteki bu belirgin fark, mine matriksinden organik bileşenleri uzaklaştırmak için enzimlerin çalışabildiği pH aralığının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. pH'a bağlı olan çözünürlükteki değişiklikler, kendi kendine birleşmede ve enzimatik bozulmada önemli bir rol oynamaktadır.^(72, 73)

2.5. Moleküllerin Kendinden Birleşme Özelliği

Birbirinden farklı bileşenlerin, dışarıdan bir müdahaleye gerek kalmadan, kalıp veya yapılara bağımsız olarak birleşmesi; moleküllerin “**kendinden birleşme özelliği**” ya da “**kendi kendine birleşme özelliği**” olarak bilinmektedir.

Kendi kendine birleşme, “**yeni yapı ve özelliğe sahip bileşik oluşturmak için, iki veya daha fazla moleküler alt birimin kararlı, kovalent olmayan etkileşimi**” olarak tanımlanmaktadır. Yeni oluşan molekülün özellikleri; bileşenlerin her birinin yapı ve konumu ile belirlenmektedir.⁽⁷⁴⁾ Moleküllerin kendi kendine birleşme özelliği, çok sayıda multimerik yapı bileşenlerinin rastgele hareketleri sonucu meydana gelmektedir. Bu hareket sonucu, bileşenlerin bir yapı oluşturmak için zayıf kimyasal bağlarla birbirlerine bağlanması ve bir araya gelmesi, moleküllerin doğasında var olan kendi kendine birleşme özelliğidir.

Biyolojik dokularda bulunan kendinden birleşen yapılara; hücre zarının fosfolipid çift tabakası, RNA ve DNA kompleksleri örnek verilebilir. Sürfaktan molekülleri de, amfifilik (hem hidrofilik hem hidrofobik özellik taşıyan kimyasal bileşiklere denir, amfipatik ile eşanlamlıdır) özelliklerinden dolayı kendinden birleşme özelliği gösterirler.⁽⁵⁴⁾ Moleküler seviyede kendi kendine birleşme, supramoleküler yapıları

inceleyen araştırmacılar tarafından doğanın taklit edilmesi sonucu bulunmuştur. Moleküler seviyede kendi kendine birleşme, moleküllerin dışarıdan bir kaynak tarafından yönlendirilmeden birleştirilmesidir.⁽⁷⁵⁾ Moleküler bileşenlerin, farklı fizyolojik formlarda kendi kendine birleşebilmeleri için belirli yüzey özellikleri, yüzey yükü ve polarize olma özelliği gibi tamamlayıcı özelliklere ihtiyaçları vardır.⁽⁷⁶⁾ Proteinler, peptitler, nükleik asitler, lipitler ve tamamlayıcı özelliklere sahip diğer hücrel bileşenler gibi biyolojik moleküller, temel biyolojik ünite olarak adlandırılan hücreyi oluşturmak üzere kendi kendine birleşirler. Amiloid fibril oluşumu, antijen-antikor tanıma, kromatin birleşimi ve fosfolipid membranın kendinden birleşimi gibi hücrel olaylar, moleküler kendinden birleşimin mükemmel örnekleridir.⁽⁷⁵⁾

Kendi kendine birleşme doğal bir süreç olup, statik ve dinamik olarak iki türde incelenir.⁽⁷⁷⁾ Kendi kendine birleşme ile ilgili yapılan çoğu araştırma statik tipe odaklanırken, dinamik tip kendi kendine birleşme çalışmaları halen başlangıç aşamasındadır.

Statik tip kendi kendine birleşme, enerjiyi dağıtmayan sistemler içermektedir.⁽⁷⁷⁾ Statik tipte kendi kendine birleşmede, istenilen yapının oluşması için enerji gerekebilir. Statik tipte kendi kendine birleşmeye örnek olarak; su içinde yağ damlacıkları oluşturan lipit molekülleri, fonksiyonel bir hemoglobin proteini oluşturan dört hemoglobin polipeptidi ve fonksiyonel bir ribozom oluşturmak için RNA ve ribozomal proteinlerin kombinasyonu verilebilir.⁽⁷⁵⁾

Dinamik tipte kendi kendine birleşme, düzenli bir denge durumunun oluşması için, enerjinin dağılması gerektirdiğinde gerçekleşir. Başka bir ifadeyle, bileşenler arasındaki yapıların veya modellerin oluşumundan sorumlu olan etkileşimler, sadece sistemin enerjiyi dağıttığı durumlarda meydana gelir.^(75, 77) Moleküllerin kendi kendine birleşme özelliği; moleküler-nano, mezo ve makroskopik ölçeklerde kendi kendine birleşme olmak üzere 3 farklı türde meydana gelmektedir. Moleküler-nano ölçekte kendi kendine birleşme, kendi içinde molekül içi ve moleküller arası kendi kendine birleşme olarak sınıflandırılabilir.^(75, 78) Molekül içi kendi kendine birleşmede; moleküller genellikle rastgele sarmallardan oluşan, iyi tanımlanmış kararlı bir yapıya (ikincil ve üçüncül yapı) dönüşebilen karmaşık polimerlerdir. Sekonder ve tersiyer amin yapıları oluşturmak için protein katlanması, molekül içi

kendiliğinden birleşmenin iyi bir örneğidir. Moleküller arası kendi kendine birleşme, moleküllerin supramoleküler olarak birleşmesi (dördüncül yapı) sonucu oluşmaktadır. Çözeltideki yüzey aktif moleküller tarafından supramoleküler misel oluşumu ve bir substrat üzerindeki kendiliğinden birleşen mono tabakalar moleküller arası kendiliğinden birleşmenin klasik örnekleridir. Manyetik, kapiller, elektrostatik ve yerçekimi kuvvetleri, yapıların mezo ve makro ölçekli seviyelerde kendiliğinden birleşmesinde hayati rol oynamaktadır.^(75, 78)

2.6. Protein ve Peptitlerin Kendinden Birleşme Özelliği

Proteinler, tüm canlı hücrelerin temel bileşenleri ve yapı taşlarıdır. Proteinler; karbon (C), hidrojen (H), azot (N), oksijen (O) ve kükürt (S) içeren organik makromoleküller olarak sınıflandırılmıştır. Bir veya daha fazla aminoasit zincirinden oluşurlar. Aminoasitler, bir amino (-NH₂) ve bir karboksil (-COOH) grubu içerir. Bir peptit bağı ile bağlanmış iki veya daha fazla amino asit bir peptit molekülü oluşturur. Çok sayıda peptit molekülü, farklı protein türleri oluşturmak için farklı şekillerde düzenlenir. Enzimler, hormonlar ve antikorlar, proteinlerden oluşan ve canlı bir organizmanın düzgün çalışması için gerekli olan biyolojik maddelere örnektir. Protein moleküllerinin yapısal analizi, protein moleküllerinin stabil bir makroskopik yapı oluşturmak için çeşitli şekillerde bulunduklarını göstermiştir. Keratin, kollajen, mercan, inci, kabuk vb. gibi çeşitli yapıları oluşturmak için, proteinler ve peptitler kendiliğinden birleşmektedir. Protein ve peptit moleküllerinin kendiliğinden birleşmesini etkileyen yapısal özellikleri anlamak için son on yılda, çok sayıda araştırma yapılmıştır. Kendi kendine birleşme işlemi; peptit dizisine, konsantrasyona, pH'a, tuz varlığına, zamana ve hıza bağlıdır. Biyonanoteknoloji ve biyomedikal alanlarda ileri uygulamalara sahip yeni biyomimetik nanomalzemelerin tasarlanmasında kendiliğinden birleşen proteinler ve peptitler etkili bir şekilde kullanılmaktadır.⁽⁷⁵⁾

2) Kendinden Birleşen Amelogenin (Self-Assembly of Amelogenin)

Teorik ve deneysel veriler, monomer olarak adlandırılan kümelerin, oligomerlerle kendiliğinden birleşmesi ile yaklaşık 10-25 nm'lik yarıçapa sahip olan hidrodinamik "nanosferler" oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Bu nanosferler daha sonra, 10-15 nanosfer uzunluğunda zincir oluşturmak için monomerlerle ve oligomerlerle birleşirler. Du ve ark.ları^(59, 79) tarafından, bu yapıların daha sonra, yaklaşık 10 µm

genişliğinde ve yüzlerce µm uzunluğunda mikroçubuklarla birleştiği bulunmuştur. Rekombinant fare amelogenini üzerinde yapılan çalışmalarda, farklı türlerden elde edilen mine preparatlarının TEM ile karşılaştırılmasıyla, amelogenin proteinlerinin supramoleküler yapılara kendiliğinden yapışıp nanoküreler oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Nanosferlerin, gelişmekte olan mine hücre dışı matriksinin temel yapısal elemanları olduğu ve mine biyomineralizasyonunda çok önemli bir işlevi olduğu öne sürülmüştür.⁽⁸⁰⁾ Du ve ark.ları⁽⁵⁹⁾ amelogenin proteinin kendi kendine birleşme özelliğini in vitro olarak incelemişler, kendinden birleşen amelogenin proteininin içindeki nanosferlerin; minenin biyomineralizasyonundaki apatit kristallerinin gelişimi ve oryantasyonunu kontrol etmede anahtar rol oynadığını göstermişlerdir. Çalışmalarında; amelogenin nanosferlerinin supramoleküler düzeyde kendiliğinden birleşerek mikroçubuk oluşturduğunu ve bu mikroçubukların mine kristallerinin uzun aksı boyunca periyodik olarak yer aldığını bildirmişlerdir. Mine kristallerinin gelişimi c eksenı boyunca meydana gelmektedir. Bunlar, mine kristallerinin uzun aksına paraleldir.⁽⁵⁹⁾ Amelogeninin kendinden birleşme özelliği üzerine yapılan in vitro çalışmalar, in vivo mine mineralizasyon mekanizmasını açıklamak için iyi bir örnek oluşturmaktadır. Amelogenin nanosfer formasyonu in vivo olarak tanımlanmıştır. Amelogenin nanosfer düzenekleri, hem geçirimli elektron mikroskobu (TEM) hem de atomik kuvvet mikroskobunda (AFM) görüntülenmiştir. Protein-protein ve protein-mineral etkileşimlerini, matriksin geçici yapısından dolayı in vivo olarak karakterize etmek zordur. Amelogeninin kendi kendine birleşme özellikleri, biyolojik olarak kalsiyum fosfatların çekirdeklenmesi için ümit verici biyomimetik yaklaşımlar sağlayabilir. Amelogenin molekülleri, çok çeşitli koşullar altında kendiliğinden nanosferler oluşturabilir.

Nanosferlerin birleşmesinde; amelogeninlerde yer alan kendinden birleşme alanı A ve kendinden birleşme alanı B hayati öneme sahiptir. Kendinden birleşme alanı A, amelogenin N-terminal bölgesinin ilk 42 aminoasitlik kısmından oluşur. Bu kısım üzerinde iki amelogenin arasındaki etkileşim gösterilmiştir. Bu amelogeninlerin transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerinin sağlanmasıyla protein-protein bağlantısı kaliteli bir düzeyde gerçekleşir. Kendinden birleşme alanı B, hidrofilik C terminalinin sınırında yer alır ve amelogenin-amelogenin etkileşimlerini başlatma kapasitesine sahip 17 aminoasitlik kısımdan oluşur.⁽⁸¹⁾ Bu alanların mutasyona uğraması sonucunda, daha ince mine tabakası, çığneme sırasında kırılma, farklı

uzunluk ve morfolojilerde mine oluşumu görülmüştür. N-terminal alanından yoksun olan farelerde; taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve TEM’de herhangi bir amelogenin nanosferi görüntüsüne rastlanılmamıştır. C-terminal alanı olmayan, mutasyona uğramış (B alanı) yabani tip farelerde yanlış hizalanmış, daha büyük şekil ve ölçülerde dağılmış nanosferler görülmüştür. Prizmalar anormal biçimdedir. Bu nedenlerle, kendi kendine birleşme alanları A ve B, mine oluşumu ve kalınlığı için önemlidir.⁽⁸²⁾

3) Amelogenin Olmayan (Nonamelogenin) Proteinler

Amelogenin olmayan proteinlerin mine oluşumunu düzenlemedeki rolü henüz tam olarak anlaşılamamış olsa da; az miktarda bulunan amelogenin olmayan proteinlerin, tam uzunlukları ve posttranslasyonel modifikasyon formlarıyla, mine oluşumunda tamamlayıcı role sahip oldukları bilinmektedir.⁽⁸³⁾

a) Ameloblastin (Amelin veya Sheathlin) :

Mineye özgü bir glikoprotein olan ameloblastin, en çok bulunan amelogenin olmayan mine matriks proteinidir.⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾ Ameloblastinler, ameloblastlar için adezyon molekülü olarak görev görür, ancak diş epitel hücreleri için bu özelliği geçerli değildir.^(87, 88) Ameloblastin, farklılaşmış ameloblastlar tarafından sentezlenir, hücre adezyon molekülü rolü oynayarak farklılaşmayı stabilize ederken, proliferasyonu inhibe eder.^(84, 89) Ameloblastini olmayan farelerin epitel tabakası polaritesini kaybederek birbirinden ayrılır ve çoğalır, bu durum hipoplastik mine ile sonuçlanır.⁽⁸⁹⁾

Ameloblastlardaki ameloblastin salgısı; mine matriksinin salgılama aşamasında pik yapar, olgunlaşma aşamasında azalır. Ameloblastlarından, aşırı ameloblastin salgılanan transgenik farelerin mine yapılarının bozulması, mine oluşumunda normal ameloblastin seviyesinin önemini göstermektedir.⁽⁹⁰⁾ Ameloblastin ayrıca; prizma kılıflarının boşluğunda prizma sınırlarının korunmasını sağlamaktadır.⁽⁶¹⁾ Amelogenin’den farklı olarak; ameloblastinde enzimler tarafından az sayıda ekleme işlemi olmaktadır.⁽⁹¹⁾ Ameloblastin proteoliz ürünlerinden ilk olarak tanımlananlar; N terminalinden ayrılan bir polipeptid (13-17 kDa) ve C terminalinden ayrılan iki polipeptittir (27 ve 29 kDa).⁽⁹²⁾

b) Enamelin:

Enamelin, minenin toplam protein içeriğinin %1'ini oluşturan ve mine proteinlerinin en büyüğü olarak bilinen bir asidik glikoproteindir. Hidroksiapatit kristallerine yüksek afinite ile bağlanma özelliğine sahiptir. Salgılandıktan hemen sonra mine kristalleri ile etkileşime girebilmesi, enamelinin kristal çekirdeklenmesinde fonksiyon görebileceğini düşündürmektedir.⁽¹⁵⁾ Chun ve ark.ları⁽⁶¹⁾ çalışmalarında, enamelinin kristal uzamasında rol oynadığını bildirmişlerdir. Enamelin oluşumunda; enzimler tarafından ekleme işlemi olmamakta ve bilinen tek bir posttranslasyonel modifikasyonu bulunmaktadır.^(93, 94) Tam uzunluktaki enamelin, yalnızca minenin apikal yüzeyinden yaklaşık 1µm uzaklıktaki mineralizasyon bölgesinde bulunmaktadır. Enamelin, diğer mine matriks proteinlerinde olduğu gibi proteolitik aktivitede görev almaktadır.⁽⁹⁵⁾ Parçalanma ürünleri prizma ve prizmalar arası bölgede yoğunlaşmıştır.^(96, 97)

Yapısal mine proteinleri tablo 2.1'de gösterilmiştir.⁽⁶¹⁾

Tablo 2.1: Yapısal mine proteinleri

YAPISAL MİNE PROTEİNLERİ		
	Moleküler Ağırlık	Fonksiyonları
Amelogenin (Amel) % 85-90	18-25 kDa	Kristaller arası boşluğun düzenlenmesi ve kristallerin birleşmesinin önlenmesi
Ameloblastin (Ambn) % 3-5	60-65 kDa	Prizma kılıflarının boşluğunda prizma sınırlarının korunması
Enamelin (Enam) % 1-3	> 200 kDa	Kristallerin uzaması

c) Biglikan:

Amelogenin, ameloblastin ve enamelin ile etkileşime giren, mine proteinlerini bir arada tutmada rol oynayan küçük bir proteoglikandır.^(83, 98)

d) Tuftelin:

Mine matriksinde bulunan asidik bir glikoprotein olan tuftelin, en yoğun DEJ'de bulunmaktadır. Tuftelinin mine matriksindeki işlevi net olarak bilinmemektedir. Ancak kalsiyum bağlama alanı ve fosforlanmış kalıntılar içerdiğinden diş gelişimi sırasında başlangıçtaki mine çekirdeklenmesinde yer aldığı düşünülmektedir.⁽⁹⁹⁾

e) Amelotin (AMTN) :

Amelogenin, ameloblastin, enamelin, enamelinin ve Kalikrein 4'teki genetik kusurlarla ilişkili olmayan amelogenezis imperfekta fenotiplerinin varlığı, yakın

zamanda diğerk bir mine proteini olan amelotinin keşfedilmesini sağlamıştır. Amelotin, ameloblastlar tarafından, amelogenezezin olgunlaşma aşamasında baskın olarak salgılanmaktadır. Diş erüpsiyonundan sonra dişeti birleşim epitelinde daha az oranda bulunmaktadır. Salgılanan amelotin proteini; olgunlaşma aşamasında hücre-matriks arayüzünde daha az bulunurken, daha çok mine matriksine daha yakın bölgelerde lokalizedir. Bu durum, amelotinin doğrudan hücre yapışmasından ziyade mineralizasyona dahil olduğunu göstermektedir. Amelotinin aksine; amelogenin, ameloblastin ve enamelinin sınırlı miktarda odontoblastlardan da salgılanması, amelotinin mine için spesifik bir fonksiyona sahip olduğunu göstermektedir.^(82, 100)

Bir transgenik fare modelinde, AMEL geninin kontrolünde, amelotinin aşırı salgılanması, amelotin proteinin amelogenezezin olgunlaşma aşamasından daha erken bir aşamada salgılanmasına neden olmuştur. Bu durum; düzensiz ve yoğun mine yapısına ve Tomes liflerinin oluşum sürecinin bozulmasına yol açmıştır.⁽¹⁰⁰⁾ Amelotinin olmaması ise, düzensiz yüzeye sahip hipomineralize bir mine oluşmasına neden olmuştur.⁽¹⁰¹⁾

Yapılan bir hayvan deneyinde, farelerin kesici dişlerinde, bu proteinin doğumdan 2 hafta sonra RNA salgısında pik yaptığı gösterilmiş ve bu durum amelotinin, olgunlaşmanın sonraki aşamalarında rol oynadığını düşündürmüştür. Bu salgı şekli KLK-4 gibi enzimlerin daha karakteristik özelliğidir, ancak amelotinin enzimatik parçalanmada rol alabileceğini göstermektedir.⁽⁸²⁾

2.7. Proteinazlar

Mine oluşumu, büyük oranda hücre dışı proteoliz ile düzenlenmektedir. Proteinazlar gelişmekte olan mine matriksi içerisinde salgılanır. Mine matriksi; erken mine gelişimi sırasında metalloproteinazları, mine oluşumunun geç aşamalarında ise serin proteinazları içermektedir. Proteinazlar, mineral birikimini engelleyen mine proteinlerini parçalayarak, proteolitik süreçte rol alır. Böylece mine olgunlaşması sağlanır. Bu tür proteinazlar arasında; matriks metalloproteinaz (MMP-20, enamelin) ve mine matriks serin proteinaz-1 [(Emsp-1) - Kalikrein 4 (Klk 4)] bulunmaktadır.⁽¹⁵⁾

2.7.1. Matriks Metalloproteinaz 20 (MMP-20, Enamelin) :

MMP-20 esas olarak mine gelişiminin salgı ve geçiş aşamalarında, Tomes liflerinin salgı yüzeyinden doğrudan mine matriksine salgılanır ve matriks proteinlerinin

ayrılmasından sorumludur. Örneğin; 45 kDa aktif MMP-20, in vivo olarak gözlemlenen bölgelerin çoğunda amelogenini uzaklaştırır.⁽¹⁵⁾ MMP-20 aynı zamanda salgı fazında, mine proteinlerine işlevsellik kazandırmaktadır.⁽⁶¹⁾ MMP-20 proteini olmayan farelerde, anormal diş fenotipi ve bozulmuş prizma şekli görülmüştür. Bu durum mine tabakasının dentinden ayrılmasına neden olmuştur.⁽⁸²⁾

2.7.2. Kalikrein 4 [(KLK-4) - Mine Matriks Serin Proteinaz-1 (EMSP-1)]

KLK-4, olgunlaşma aşamasında mineden salgılanan, mine proteinlerinin parçalanmasından sorumlu olan tripsin benzeri serin proteinazdır.⁽⁸²⁾ Minede olduğu gibi pulpa içerisinde de salgılanır. Bu enzimin aktivitesi, mine gelişiminin geçiş aşamasında belirgin bir şekilde artarak olgunlaşma aşaması boyunca yüksek seviyelerde kalır. KLK-4, minenin olgunlaşma aşamasında mine matriksinde pH 5,7 olduğu zaman optimal seviyede çalışır.⁽¹⁵⁾ Amelogeninin ilk ayrılma basamağı olarak bilinen C terminalinin uzaklaştırılması, KLK-4 tarafından gerçekleştirilmektedir. Proteolitik aktivite sonucu oluşan parçalanma ürünlerinin, kristal gelişimi sırasında kendi kendine birleşme veya matriks-protein etkileşimlerinden sorumlu olabileceği bildirilmiştir. Ancak, bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.⁽⁸²⁾

Mine proteinazlarının moleküler ağırlık ve fonksiyonları 2.2’de gösterilmiştir.⁽⁶¹⁾

Tablo 2.2: Mine proteinazları

MİNE PROTEİNAZLARI		
	Salgılanma Fazı	Fonksiyonları
Enamelisin (Mmp-20)	Salgı fazı	Mine proteinlerine işlevsellik kazandırmak
Kallikrein-4 (Klk4)	Geçiş / Maturasyon fazı	Mine matriksini parçalamak

4) Mine gelişiminde etkili olan dentin proteinleri

Dentin sialoprotein (DSP) ve dentin fosfoprotein (DPP); dentin sialofosfoprotein (DSPP)'den posttranskripsiyonel olarak ayrılan iki dentin fosfoproteinidir. İki proteinin benzer özellikleri bulunmasına rağmen, bazı farklılıkları da vardır.⁽¹⁵⁾

a) Dentin Sialoprotein (DSP) :

DSP, yüksek karbonhidrat içeriğine sahip fosforlanmış yapıda ve asidik özelliktedir (%10 siyalik asit). Odontoblastlarda, predentin ve dentinde bulunur ve dişe özgü bir protein olarak kabul edilir.⁽¹⁵⁾

b) Dentin Fosfoprotein (DPP) :

Dentin fosfoprotein (DPP), dentinden salgılanan ve dentinde en çok bulunan kollajen olmayan hücre dışı matriks bileşenidir.^(102, 103) DPP, yüksek oranda serin (%45-50) ve aspartik asit (%35-38) içeriğinden dolayı asidik özelliktedir.^(104, 105) DPP, aynı zamanda yüksek fosfat içeriğine sahiptir. DPP, Ca^{+2} ve hidroksiapatit kristallerine yüksek afinite göstermektedir. Asidik yapısından ve yüksek Ca^{+2} iyonu bağlama özelliklerinden dolayı mineral birikiminde önemli göreve sahiptir.^(15, 106) Büyüme ve gelişim sırasında DPP'nin aşırı salgılanması, anormal mine prizmalarının oluşmasına ve böylece mine yapısının zayıflamasına neden olmaktadır.⁽¹⁰³⁾ DPP; dentin matriksinin kalsifikasyonu, hidroksiapatit kristallerinin morfolojisinin ve büyümesinin düzenlenmesine yardımcı olma ve mineralize doku stabilitesinin sağlanmasında dentin biyomineralizasyonunda çeşitli görevlerde rol oynar.⁽¹⁰⁷⁾

DPP'si, hidroksiapatit oluşumunu destekleyen çok sayıda aspartat-serin-serin (DSS) şeklinde tekrarlayan nükleotid dizisi içermektedir.⁽¹⁰⁸⁾ Dentin fosfoprotein dizisi dikkate alınarak birkaç küçük peptit tasarlanmıştır. Bu peptitler, tripeptit aspartat-serin-serinin çoklu tekrarlarından oluşmakta ve kalsiyum fosfat bileşiklerine yüksek afinite ile bağlanmaktadır. Ayrıca, bu küçük peptitler, peptit türevi polistiren halkalarına kalsiyum fosfat bağlayabilir.⁽¹⁰⁹⁾ Bunlardan, aspartat-serin-serin, 8DSS peptitlerinin oktaplet (8'li) tekrarları, biyolojik olarak yönlendirilen mineral birikiminde en aktif olanlardır.⁽¹¹⁰⁻¹¹³⁾ DPP'nin kalsiyum fosfat içeren çözeltilerde apatit kristallerinin oluşumunu indükleyebildiği in vitro bir çalışmada gösterilmiştir.⁽¹¹⁴⁾

2.8. Süt ve Daimi Diş Minesi

Süt dişi mineralizasyonu gebelik döneminde başlar, 3-3,5 yaşlarında tamamlanır.^(42, 115) Süt dişi formasyonunun doğum öncesi başlayıp, doğum sonrası sona ermesi, süt dişleri için gelişim kronolojisi oluşturmayı zorlaştırmaktadır. Daimi dişlerin gelişim kronolojisini oluşturmak daha kolaydır.

Süt dişi gelişimi ortalama 6-14 ay sürerken, daimi dişlerin gelişimi ise ortalama 3-4 yıl sürmektedir. Bu durum; süt dişlerinin daimi dişlerden daha az mine kalınlığına sahip olmasına neden olmuştur.⁽¹¹⁶⁾ Daimi diş minesi yaklaşık 1-2 mm kalınlığa sahip iken, süt dişi minesi yaklaşık 0,5-1 mm kalınlığa sahiptir.^(20, 117) Aşınmamış süt

diş tüberkül tepelerinde mine kalınlığı 1,3 mm'ye kadar çıkarken, aşınmamış daimi dişlerin tüberkül tepelerinde ortalama mine kalınlığı yaklaşık 2,5 mm'dir.⁽¹¹⁷⁾

Süt diş minesi ağırlık ve hacim olarak, daimi diş minesinden daha az miktarda mineral içermektedir. Süt diş minesi yaklaşık %80,6 mineralizasyon seviyesine sahip iken, daimi diş minesi yaklaşık %89 oranında mineralizasyon seviyesine sahiptir. Süt diş minesinin daha ince, daha geçirgen ve düşük mineralizasyon seviyesine sahip olması, süt diş minesi ile daimi diş minesi arasındaki önemli farklılıklardandır.⁽¹¹⁸⁾ Difüzyon katsayısının süt diş minesinde daimi diş minesine göre daha yüksek olması, süt diş minesinin daha geçirgen bir yapıda olmasına neden olmuştur.⁽¹¹⁹⁾

Hem süt hem de daimi diş minesinin kimyasal yapısı ağırlıklı olarak karbonat ve hidroksiapatitten oluşsa da, süt ve daimi diş minesinde bazı kimyasal farklılıklar vardır. Minede çözünürlüğü en fazla artıran mineral olan CO_3^{2-} , süt diş minesinde daha yüksek miktarda bulunur. Süt diş minesinde, PO_4^{3-} ve diğer eser elementlerin konsantrasyonları daimi diş minesinden farklıdır.⁽¹²⁰⁾

Süt diş minesinin ortalama prizma çapı 2,9 μm 'dir ($\pm 1,2\mu\text{m}$). Prizmaların yüzeye doğru açılanması, dişin kronu boyunca değişir. Prizmaların açılanması servikal bölgede daha diktir koronal bölgede yaklaşık 70° açılıdır.⁽¹²¹⁾

Mine prizmaları, süt ve daimi dişlerde DEJ'e ve dişlerin dış yüzeyine dik olarak uzanırlar ancak dişlerin servikal bölgelerinde hafif apikal yönde dışa doğru uzanmaktadır. Süt dişlenmede, kronun orta kısmında ve servikalinde bulunan mine prizmaları dişin uzun aksına dik uzanırken, daimi dişlerde bu bölgelerde daha dar bir açıyla sonlanır. Bundan farklı olarak, daimi dişlerde kronunun okluzal üste ikilik kısmındaki prizmaların yönleri de dişin uzun aksına dik yönde uzanır.⁽¹²²⁾

Mikroyapısal olarak, süt dişlerindeki interprizmatik mine oranı ve prizmalar arasında bağlantı yoğunluğu daimi dişlere göre daha yüksektir.⁽¹²³⁾ Daimi dişlerin kristal düzeni, süt dişlerinin kristal düzenine göre daha iyi organize olmuştur. Süt dişlerindeki prizmalar, daimi dişlerdeki prizmalara göre daha küçüktür.⁽¹²⁴⁾ Ancak, genel olarak, kristallerin ve prizmaların düzenlenmesi benzerdir.^(120, 125)

Mine ne kadar mineralize olursa, diş o kadar yarı saydam (transludent) özellik kazanmaktadır. Süt dişlerindeki mine, daimi diş minesinden daha opaktır. Bu da süt

dişı minesine mavimsi beyaz bir görünüm vermektedir. Daimi diş minesi ise; daha sarı bir renktedir.⁽¹¹⁷⁾ Süt dişlerinin daimi dişlerden daha beyaz görünmesinin nedeni, süt diş minesinin daimi diş minesinden daha gözenekli olmasının sonucudur.⁽¹²⁰⁾

Minenin dış yüzeyi morfolojik analizlerde aprizmatik tabaka olarak görülmektedir. Aprizmatik tabakanın genişliği ve görülme oranı süt dişlerinde daimi dişlere göre daha fazladır. Yapılan çalışmalara göre; süt dişlerinin %60'ından fazlası 16-45 µm kalınlığında aprizmatik bir yüzey alanına sahipken, daimi dişlerin yarısı <5 µm'den daha az miktarda aprizmatik bölgeye sahiptir.⁽⁴⁶⁾

Daimi diş minesinin dış katmanlarında, F konsantrasyonları daha yüksek miktarlardadır. Bu durum bazı araştırmacılara göre, süt diş minesinin erozyona karşı daha savunmasız olmasının nedenlerinden biridir.⁽¹²⁰⁾

2.9. Sürmüş Diş Yüzeyindeki Organik Katmanlar:

1) Primer mine kütikulası:

Dişin ağız içerisine sürmesi ile birlikte indirgenmiş mine epiteli parçalanarak bağlantı epiteli haline gelir, diş yüzeyi “**primer mine kütikulası**” ile kaplanır. Primer mine kütikula tabakasına, tükürük kaynaklı organik elementlerin ilave edilmesiyle, “**kazanılmış pelikl tabakası**” oluşur. Primer mine kütikulası, altındaki mine organik matriksi ile yakın temas halindedir. Başlangıçta daha ince olan kütikula, sulkus epiteli ve plazmadan oluşan gingival sulkus bölgesinden gelen içeriklerle kalınlaşır.⁽¹⁵⁾

2) Pelikl tabakası:

Mikrobiyal dental plak oluşumundaki ilk aşama; çürük oluşumunda önemli rol oynayan ve diş yüzeyinde sonradan oluşan pelikl oluşumudur. “**Pelikl**”; tükürük glikoproteinleri, fosfoproteinler ve lipitler, dişeti oluğu sıvısı bileşenleri ve glukoziltransferaz gibi bakteri ürünlerini içeren aselüler bir tabakadır. Pelikl; oral floranın düzenlenmesi, diş yüzeyine kayganlık sağlama, mineyi asit saldırısından koruma ve mine yüzeyinde kristal büyümesinin önlenmesi ve mine remineralizasyonunda rol almaktadır⁽¹²⁶⁾. Özellikle, atrizyon ve abrazyon ile aşınan mine yüzeylerinin kazanılmış pelikl tabakası ile kaplanması, mine yüzeylerini dış etkenlere karşı korumaktadır.⁽¹⁵⁾

3) Dental plak:

“**Dental plak**”; ağız hijyeni eksikliğinde pelikül üzerinde biriken gıda artıkları, tükürük proteinleri, çeşitli mikroorganizmalar ve mikroorganizmaların metabolizma ürünlerinden zengin yumuşak, yapışkan organik matriksten oluşan bir biyofilm tabakasıdır.

İlk oluşan plak, ağırlık olarak gram-pozitif, fakültatif, anaerobik kok ve filamentlerden oluşur. Zamanla diş yüzeyinde biriken plak kalınlaşır ve içeriği değişir. Ancak patolojik olmayan supragingival plak mikroflorasının kompozisyonu büyük ölçüde değişmemektedir.⁽¹⁵⁾

2.10. Dental Plakta Asit Üretimi

Plak bakterilerinin metabolik aktivitesi sonucu, konak diyetine bağlı olarak değişebilen çeşitli asidik ve bazik son ürünler üretilmektedir. Fermente edilebilir karbonhidratların yokluğunda; asetat, format, propiyonat ve butirat gibi organik asitler üretilirken, fermente edilebilir karbonhidratların varlığında, çoğunlukla plakta pH düşmesine neden olan laktat üretilmektedir. Sükroz tüketildiğinde, dinlenme fazı pH 6,5’den pH 5,5’in altına düşebilir. pH değerinin dinlenme fazına kademeli olarak dönmesi için, asitlerin plaktan difüzyonla uzaklaştırılması, plak ve tükürük tamponlama mekanizmaları tarafından nötralize edilmesi gerekir.⁽¹²⁷⁻¹³⁰⁾

2.11. Tükürük

Tükürük, hacimce %93’ü büyük tükürük bezleri, geri kalan %7’lik kısmı küçük tükürük bezleri tarafından salgılanan karmaşık bir salgıdır. Tükürük bezleri; diş etleri ve sert damağın ön kısmı dışında, ağızın her bölgesinde bulunmaktadır. Tükürük bezlerinden salgılandığı anda steril olan tükürük; dişeti sıvısı, besin artıkları, mikroorganizmalar, deskuame oral mukoza hücreleri ile karıştığı anda steril özelliğini kaybeder. Tükürüğün %99’u sudur ve %1’i organik ve inorganik moleküllerden oluşmaktadır.⁽¹³¹⁾ Tükürüğün inorganik kısmı; Ca^{+2} , PO_4^{-3} , Na, K, Cl, bikarbonat (HCO_3^-), tiosiyanat (SCN), Mg ve F gibi iyonlardan, organik kısmı ise çeşitli lipidler, proteinler ve karbonhidratlardan oluşmaktadır. Tükürüğün organik içeriğinde başlıca; prolinden zengin proteinler, glikoprotein ailesinin bir üyesi olan müsinler, beta kreatinin salgılasal immünglobulin A (sIgA), IgG ve IgM, laktoperoksidaz, laktoferrin, lizozim, lipaz, prolin amilaz peroksidaz sistemi, histatin ve amilaz ve bazı hormonlar bulunmaktadır.⁽¹³²⁾ Tükürüğün organik ve inorganik

bileşenlerinin miktarı; kişiye, yaşa, cinsiyete, sistemik hastalıklara, kullanılan ilaçlara, beslenmeye bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.⁽¹³³⁾

2.11.1. Diş Çürüğünden Korunmada Tükürüğün Rolü

Tükürük; şeker ve diğer maddelerin seyreltilmesi ve eliminasyonunu sağlamaktadır. Ayrıca tükürük; tamponlama kapasitesi, demineralizasyon-remineralizasyon dengesi ve antimikrobiyal etkinin sağlanması ile çürük oluşumuna karşı koruyucu bir role sahiptir.

1) Şekerlerin ve diğer maddelerin seyreltilmesi ve eliminasyonu:

Tükürüğün en önemli işlevlerinden biri, mikroorganizmaları ve besin artıklarını ağızdan uzaklaştırmaktır.^(131, 134)

2) Tamponlama görevi:

Zayıf asitler ve bunların tuzlarını içeren çözeltilere “**tampon çözeltileri**” denir. Bu çözeltilere asit veya alkali bileşikler eklendiğinde pH değişikliklerine direnç göstermektedirler. Asit-baz dengesinde tamponlama kapasitesinin sürdürülmesi, tükürüğün en önemli koruyucu fonksiyonlarından biridir. Tamponlama kapasitesinin etkinliğini; biyofilm tabakasının kalınlığı ve mevcut bakteri sayısı etkilemektedir.⁽¹³⁵⁾

Tükürüğün tamponlama işlevi;

- ✚ karbonik asit/bikarbonat tamponlama sistemi,
- ✚ fosfat tamponlama sistemi ve
- ✚ proteinler olmak üzere 3 farklı tamponlama sistemi ile düzenlenmektedir.⁽¹³⁶⁾

✚ Karbonik Asit/Bikarbonat Tamponlama Sistemi

Karbonik asit/bikarbonat tamponlama sistemi uyarılmış tükürükteki en önemli tamponlama sistemidir. Uyarılmış tükürük akış hızı arttığında; ilk önce karbonik asit/bikarbonat tampon sistemi devreye girer. Bu tampon sisteminin konsantrasyonu, uyarılmamış parotid bezinde 1 mmol/l'den azdır, çok yüksek akış hızlarında ise neredeyse 60 mmol/l'ye kadar çıkmaktadır. Bu nedenle uyarılmamış tükürükte, bikarbonat iyonlarının seviyesi etkili bir tamponlama elde etmek için çok düşüktür. Bikarbonatın; ağız içi pH'sını ve çürük oluşumuna sebep olan bakterilerin virülansını değiştiren tükürük bileşenlerinden biri olduğu gösterilmiştir. Tükürük karbonik asit/bikarbonat tampon sistemi, asitlerin hızlı nötralizasyonundan sorumludur.⁽¹³⁶⁾

Fosfat Tamponlama Sistemi

Fosfat tamponlama sistemi, uyarılmamış tükürükteki en önemli tamponlama sistemidir.⁽¹³⁵⁾ pH'ın 6'dan yüksek olduğu durumlarda tükürük; fosfat tamponlama mekanizması aracılığı ile hidroksiapatite doymuş hale getirilir. pH, kritik seviyenin (pH=5,5) altına düştüğünde; hidroksiapatit, pH dengesini sağlayan fosfatları serbest bırakarak çözünmeye başlar. Hidroksiapatitin çözünme durumu, tükürük ve plaktaki PO_4^{-3} ve Ca^{+2} iyonu içeriğine bağlıdır.⁽¹³⁷⁾

Proteinler Tarafından Düzenlenen Tamponlama Sistemi

Tükürük proteinlerinin tamponlama mekanizmasında önemli görevleri vardır. Bu proteinler; karyojenik bakterilerin kolonizasyonunu önlemekte ve asidojenik mikroorganizmaların ürettiği asitleri nötralize etmektedirler. Böylece minenin demineralizasyonunu önlemektedirler.⁽¹³⁷⁾ Histatin veya sialin gibi bazı proteinlerin yanı sıra bakterilerin metabolik aktiviteleri sonucu oluşan amino asitler, peptitler, proteinler ve üre gibi bazı alkali ürünler de; tükürük pH'sını kontrol etmektedir.^(131, 134) Histatinler; katyonik özellikte, histidin amino asitinden zengin protein türüdür. Güçlü antifungal özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Özellikle *Candida albicans* 'a histatin-5 reseptörüyle bağlanır, hücrenin sitoplazma ve mitokondri membranını parçalayarak hücrenin ölümüne neden olur. Bir tükürük peptidi olan sialinin, fermente edilebilir karbonhidratların tüketiminden sonra biyofilm pH'sının artırılmasında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir.⁽¹³⁵⁾

Diğer Tamponlama Sistemleri

Amino asit ve protein katabolizması sonucu oluşan üre, bakteriyel üreaz enzimi tarafından hidrolize edildiğinde amonyak (NH_3) ve karbondioksiti (CO_2) serbest bırakarak biyofilm pH'sında hızlı bir artışa neden olmaktadır. Toplam tükürük sıvısında bulunan üre, bu özelliğinden dolayı tamponlama görevi görmektedir. Bu nedenle; kronik böbrek yetmezliği olan çocuklarda, tükürük üre düzeylerinin artması nedeniyle sağlıklı çocuklardan daha az çürük oluşumu görülmektedir.^(135, 138)

Minedeki hidroksiapatit dengesini düzenleyen faktörler; pH, serbest Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F iyonlarının konsantrasyonudur. Hem tükürük hem de plak, hidroksiapatit kristallerine göre; Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve OH^- iyonlarına aşırı doymuş durumdadır. Ayrıca, bazı tükürük proteinleri, hidroksiapatit kristallerine bağlanarak Ca^{+2} ve PO_4^{-3} 'ün spontan çökmesini önler, böylece mine kristallerinin bütünlüğü korunur.^(131, 139) Bu

proteinlere örnek olarak; prolinden zengin proteinler, müsinler, laktoferrin ve staterin verilebilir.

Prolinden Zengin Proteinler (PRP): Toplam tükürük proteinlerinin yaklaşık %70'ini oluşturmaktadır. Prolinden zengin proteinler insanda; asidik, bazik ve glikozillenmiş olarak 3 farklı şekilde bulunmaktadır. Asidik PRP'ler, Ca^{+2} iyonuna bağlanarak tükürükteki Ca^{+2} konsantrasyonunu düşürmektedir. Ayrıca hidroksiapatite bağlanarak da hidroksiapatitin çökmesini önleyerek minenin stabilizasyonunu sağlamaktadır. Oral kavitede esas olarak Ca^{+2} dengesinin düzenlenmesinde görev alan asidik PRP'ler, aynı zamanda ilk oluşan mine pelikül tabakasında bulunmaktadır.⁽¹³⁷⁾

Müsinler: Serömüköz yapıdaki tükürük, oral kaviteyi kaplayarak irritanlara karşı koruyucu bariyer görevi görmektedir. Tükürük proteinlerinin %26'dan fazlasını oluşturmaktadırlar. Glikoprotein ailesinin büyük bir kısmını oluşturan müsinler, dış yüzeylerine yapışarak yarı geçirgen bir bariyer olarak işlev görmektedir. Ayrıca müsinler, düşük çözünürlüğe ve yüksek viskoziteye sahip proteinlerdir. Başlıca görevleri; lubrikasyon, hidrasyon özelliği sayesinde yutma, konuşma ve çiğnemeye yardımcı olmasıdır.⁽¹³⁷⁾

Laktoferrin: Güçlü bir antibakteriyel etkiye sahiptir. Özellikle *S.Mutans*'ların dış yüzeyine ve oral dokulara adezyonunu engellemektedir.⁽¹³⁷⁾

Staterin: Tükürükteki Ca^{+2} bağlayan proteinlerden biridir. Tükürüğün kalsiyum fosfat tuzlarıyla aşırı doygun olmasını sağlamaktadır.^(131, 139)

3) Antimikrobiyal Etki:

Tükürük, içerdiği bazı proteinler aracılığıyla oral mikrobiyolojik dengenin korunmasında önemli rol oynamaktadır. Proteinlerin bazıları, bakterilerin metabolizmasını ve dış yüzeyine yapışma yeteneğini değiştirerek antimikrobiyal etki göstermektedir. Bu etki çürük kontrolü için çok önemlidir. Bunlara örnek olarak; prolin bakımından zengin proteinler, lizozim, laktoferrin, peroksidazlar, aglütinler, histidin, sIgA, IgG ve IgM verilebilir.^(131, 140)

2.12. Minenin Demineralizasyonu

Minenin yüksek mineralizasyona sahip olması, asitler tarafından demineralizasyona karşı duyarlı olmasına neden olur. Mineralizasyonu tamamlanan mine, dokuyu

onarabilen veya yeniden yapılandırabilen canlı hücre barındırmadığı için ölü doku olarak kabul edilir. Ancak; minenin geçirgen yapıya sahip olması, mine ile dış çevre (tükürük, oral biyofilm) arasında iyon değişimine izin vermektedir.⁽²⁰⁾ Minede bulunan kristaller arası boşluklar, mikropor olarak adlandırılan, kristaller arası difüzyon yollarını oluşturur. Bu nedenle mine, mikro gözenekli bir doku olma özelliği gösterir.⁽¹⁴¹⁾

Demineralizasyon, diştten mineral kısmın uzaklaşmasına ve organik matriksin ortaya çıkmasına neden olur. Diş yüzeyinde demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsü; Ca^{+2} , PO_4^{-3} değişiminin sürekli olarak gerçekleştiği dinamik bir süreçtir. Diş minesinin demineralizasyonu ve remineralizasyonu sürekli olarak diş-pelikül-plak-tükürük arayüzünde gerçekleşmektedir.⁽¹⁴²⁾ Yüksek konsantrasyonlarda Ca^{+2} , PO_4^{-3} içeren tükürük, minenin demineralizasyona karşı dirençli olmasını sağlar. pH değeri; biyofilm kritik pH değerinin altında ($\text{pH}=5,5$) olduğu zaman demineralizasyon, kritik pH değerinden yüksek olduğu zaman remineralizasyon gerçekleşir. Biyofilm tabakasında mikroorganizmalar tarafından oluşturulan asit, çürük oluşuma neden olmaktadır. Çürük oluşumunun ilk adımı, tükürük pH seviyesi düştüğünde mine yüzeyinden mineral çözünmesidir. Asit üretiminin sıklığı ve miktarı, remineralizasyonun tamir kapasitesini aştığı zaman, minede kaviteasyon meydana gelmektedir. Polarize ışık mikroskopunda (POLMI) demineralize bir lezyon incelendiğinde; mine dış kısmında sağlam bir yüzey, minenin altında gözenekli bir alan görülmektedir. Lezyonun merkezinde gözenek sayısı en yüksek seviyededir. Mikroradiyografide (MRG) yüzeyaltı lezyonu; mineral kaybı ile karakterize olup derinlemesine genişleyerek koronal ve servikal yönde yayılır ancak mine yüzeyi bozulmadan kalmaktadır.

SEM’de topografik yapıya sahip farklı bir bölge olarak görülen demineralize lezyon, normal mineden ayrılır. Diş yüzeyinden demineralizasyon sonucu mineraller uzaklaştıkça, kristaller küçülür ve kristaller arası boşlukların genişlemesi ile doku daha gözenekli bir hale gelir. Sıkıca paketlenmiş kristallerin toplam kütesinin oluşturduğu mineral yüzeyi göz önünde bulundurulursa, tüm kristallerden kaynaklanan az miktarda mineral kaybının bile, kristaller arasındaki boşluklarda belirgin bir artışa yol açtığı anlaşılmıştır. Demineralizasyon sırasında minedeki apatit kristallerinin çözünmesi sonucu Ca^{+2} , PO_4^{-3} iyonları açığa çıkmaktadır. İyon

kaybeden minenin şeffaflığının bozulması sonucu klinik olarak beyaz nokta lezyonu adı verilen başlangıç çürük lezyonları oluşmaktadır.⁽¹⁴³⁾

2.12.1 Başlangıç Çürük Lezyon Tabakaları

- 1) Yüzeyel Tabaka**
- 2) Lezyon Gövdesi**
- 3) Karanlık Tabaka**
- 4) Saydam Tabaka (Translulent Tabaka)**

1) Yüzeyel Tabaka

Çürükten daha az etkilenen mine çürüğünün en dış tabakasıdır. Başlangıç çürük lezyonlarında; yüzeyel tabakada alt tabakalara göre kısmen daha az mineral kaybı meydana gelmektedir. Bunun temel olarak 2 nedeni vardır. İlk nedeni, yüzeyel tabakanın diyet ve tükürükten gelen Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F iyonları tarafından korunması; diğer nedeni ise, mine yüzeyinde ya da pelikülde bulunan organik yapıların, mineden mineral kaybının azaltılmasında seçici geçirgen bir bariyer olarak görev yapmasıdır. Bu sayede yüzeyel tabaka demineralizasyona karşı korunmaktadır.⁽¹⁴⁴⁾ Ayrıca yüzeyel tabaka, hem alttaki dokulardan çözünen iyonların yüzeyel tabakaya ulaşması hem de ağız ortamında bulunan iyonların yüzeyel tabakaya çökmesi sonucu hipermineralize bir yapı kazanmaktadır.

Başlangıç çürük lezyonlarının remineralize olabilmesi için yüzeyel tabakanın korunması çok önemlidir. Yüzeyel tabaka çürük lezyonunun ilerlemesine bağlı olarak veya mekanik olarak ortadan kaldırılırsa, remineralizasyon tedavileri yerine restoratif tedaviler yapmak gerekecektir. Yüzeyel tabakanın, sağlıklı mine dokusu ile kıyaslandığında, geçirgenliğinin arttığı gözlemlenmiştir. Yüzeyel tabakanın geçirgenlik özelliği, alttaki dokulara bakteri geçişine izin vermemesi çürüğün ilerlememesi açısından avantaj sağlamaktadır. Ayrıca yüzeyel tabakadan mineral ve iyonların geçebilmesi, remineralizasyon tedavileri için önemlidir. Bu aşama; çürük oluşumunun durdurulması sonucu, temizlenebilir ancak pürüzlü ve sert bir mine yüzeyi oluşmasıyla sonuçlanır.^(22, 145)

2) Lezyon Gövdesi

Lezyon gövdesi, çürük tabakaları arasında en geniş por hacmine sahip kısımdır. Yüzeyel tabakanın altında yer alan, başlangıç mine çürüğünün en büyük kısmıdır.

Lezyon gövdesinde; mineral kaybına bağlı olarak gelişen yüksek pörözite sonucu, retzius çizgileri belirginlik kazanmıştır. Lezyon gövdesindeki por hacmi, periferde %5 civarında iken merkezde %25'e kadar çıkmaktadır. Lezyon gövdesinde; 3 farklı durumda bakterilere rastlanmaktadır. İlk olarak yüzeyel tabakanın geçirgenliğinin artması daha sonra yüzeyel tabakanın mekanik olarak deforme olması son olarak da lezyon gövdesindeki pörözite boyutunun bakterilerin geçişine izin verecek kadar geniş olması durumunda, bakterilere rastlanabilir.^(22, 145)

3) Karanlık Tabaka

Lezyon gövdesinde bulunan porlar, karanlık tabakada remineralizasyon ile mikroporlara dönüşmektedir. Bu tabakadaki porlar kinolin solüsyonunu absorbe edemeyecek kadar küçük olduğu için, polarize ışığın bloke olmasına neden olurlar. Bu nedenle “**karanlık tabaka**” olarak adlandırılmaktadır.⁽¹⁴⁶⁾ Porların hava veya buhar ile dolu olması, klinikte lezyonun opak görünmesini sağlamaktadır.^(22, 145) Karanlık tabaka hızlı ilerleyen çürüklerde ince, yavaş ilerleyen çürüklerde ise kalın olarak gözlenmektedir.^(145, 147)

4) Saydam Tabaka (Transludent Tabaka):

Bu tabakanın, saydam tabaka olarak adlandırılmasının nedeni, POLMI'daki görüntüsünden kaynaklanmaktadır. POLMI'da; lezyon, sağlam mine ile aynı kırılma indeksine sahip olduğu için saydam görünmektedir. Lezyonun en derin tabakası olup, lezyonunun ilerlediğini göstermektedir.

Saydam tabakada por hacmi %1 olup, normal mineden 10 kat daha fazladır.⁽¹⁴⁶⁾ POLMI'da incelenebilmesi için porların kinolin solüsyonu ile dolması gerekmektedir. Saydam tabaka, daimi dişlerde % 50, süt dişlerinde ise % 25 oranında görülmektedir.⁽¹⁴⁴⁾

Yıkılğan ve ark.ları⁽¹⁴⁵⁾ çalışmalarında, mine çürüklerinde farklı tabakalarda meydana gelen mineral kaybını bildirmiştir (Tablo 2.3).

Tablo 2.3: Mine çürüğünün farklı tabakalarındaki mineral kayıplarının değerlendirilmesi

Mine Çürüğünde Farklı Mine Tabakalarındaki Mineral Kayıplarının Yüzdelik Olarak Değerlendirilmesi				
	Sağlıklı Mine	Transludent Tabakada Kayıp	Karanlık Tabakada Kayıp	Lezyonun Gövdesinde Kayıp
Kalsiyum	37%	~30%	~35%	~37%
Fosfor	18,50%	~13%	~16%	~18,5%
Karbonat	% 2-4	~28%	~3%	~1%
Magnezyum	% 0,2-0,4	~2%	~3%	~0,16%

2.13. Minenin Remineralizasyonu

Demineralizasyon sonucu; diş dokularından Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve CO_3^{-2} iyonları uzaklaşmaktadır. Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve CO_3^{-2} iyonları diştten uzaklaşmaya devam ettikçe, kavitasyon meydana gelmektedir.^(130, 148) Demineralizasyonun erken aşamalarında, Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F iyonlarının geri alımıyla yıkım tersine çevrilebilir. Demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsü gün içerisinde sıkça gerçekleşmektedir. Demineralizasyon ile remineralizasyon arasındaki dengeye bağlı olarak; kavitasyon oluşabilir, çürük lezyonu mevcut durumunu koruyabilir ya da çürük lezyonunda iyileşme görülebilir.⁽¹⁴⁸⁾ Dişlerin yüzeyindeki biyofilm tabakasının pH'sı tamponlama görevi gören tükürük ile düzenlendiğinde, denge remineralizasyon tarafına kaymaktadır.

Tükürük; Ca^{+2} , PO_4^{-3} iyonları bakımından zengin olup asidi nötralize etmek ve minenin çözünmesini sınırlandırmak için doğal bir tampon görevi görmektedir. pH>5,5'te, yüksek konsantrasyonda Ca^{+2} , PO_4^{-3} iyonları varlığında; kalsiyum fosfat çökelerek demineralize diş dokularının remineralizasyonunu sağlamaktadır.⁽¹⁴⁹⁾

Remineralize alanlar; tükürükten Ca^{+2} , PO_4^{-3} alımı nedeniyle, dişin kendi yapısına göre daha yüksek konsantrasyonda F içerir. Ayrıca remineralize alanlar, daha az mikro gözenekli mine yapısına sahiptir. Çürük oluşumu ilerleyerek kavitasyon meydana gelmişse; plak mikroorganizmaları kademeli olarak azalan pH seviyesine uyum sağlayarak, kendileri için ekolojik bir ortam sağlamaktadırlar.⁽¹⁵⁰⁾ Kaviteleşmiş lezyon; biyofilm tabakasını korumakta ve çürük ilerlemeye devam etmektedir.⁽¹⁵¹⁾ Biyofilm tabakası uzun süre aynı diş bölgesinde kaldığı zaman kalınlaşır ve olgunlaşır. Bu özellikteki biyofilm tabakası; diş için risk faktörü olup, çürük oluşumuna neden olmaktadır.

2.14. Minenin Biyomimetik Remineralizasyonu

Mine, nanometre boyutlardan mikrometreye kadar değişen ve mekanik özellikleri etkileyen gözenekli mezo yapıda porlara sahip bir dokudur. Kendine özgü dayanıklılığı ve aşınma karşıtı özellikleri, sahip olduğu bu hiyerarşik mikroyapısından kaynaklanmaktadır⁽¹⁵²⁻¹⁵⁴⁾.

Nano ölçek seviyesinde incelendiğinde; minenin ana elemanları, c eksenlerine paralel olan oldukça organize hidroksiapatit kristalleridir. Mikro ölçekte hidroksiapatit kristalleri; insan minesinin temel organizasyonel birimleri olarak

tanımlanan, mine prizmalarını ve prizmalar arası maddeyi oluşturmaktadır. Mine oluşumu; matriks proteinlerinin salgılanması ve kendiliğinden birleşmesi, protein mineral etkileşimleri ve proteoliz gibi karmaşık hücresel ve moleküler olaylar sonucu oluşmaktadır.⁽¹⁵⁵⁾

Hidroksiapatit kristallerinin ilk oluşumu; protein açısından zengin bir ortamda meydana gelmesine rağmen, biyolojik makromoleküller zaman içerisinde parçalanarak ortamdan uzaklaştırılır. Olgunlaşan mine dokusu artık canlılığını kaybeder.⁽¹⁵⁴⁾ Remineralizasyon için, minenin biyomimetik sentezini taklit eden farklı biyomimetik sistemler geliştirilmiştir.

2.15. Mine Remineralizasyonu için Biyomimetik Sistemler

Çürük oluşumunun engellenmesi ve başlangıç aşamasındaki çürüklerin tedavisi için, biyomimetik bir tedavi yönteminin geliştirilmesi, araştırmacıların ilgisini çeken güncel konular arasındadır. Biyomimetik mineralizasyon, doğal mineralizasyon sürecini taklit eden bir yöntemdir.⁽¹⁵⁶⁾ Hidroksiapatit benzeri yapıların biyomimetik sentezi; defektli mine yapılarının onarımını destekler ve biyolojik olarak kabul edilir. Biyomimetik tedavi sistemleri ile sağlanan mine rejenerasyonu; mine yüzeyinde yeni başlayan çürükleri onarma imkanı sağlamaktadır.⁽¹⁵⁷⁾

Mine biyomineralizasyonu; genetik kontrolün yanı sıra protein-protein etkileşimlerini, protein-mineral etkileşimlerini ve hücre zarı etkileşimlerini içeren bir sistemdir. Ameloblastlar; hidroksiapatit kristallerinin oluşumu, çekirdeklenmesi ve büyümesini kontrol etmek için, ameloblastlar ve dentin arasındaki hücre dışı alanda mine matriks proteinlerini salgırlar.⁽⁵²⁾ Minenin biyomimetik mineralizasyonunda amelogenin yapı ve fonksiyonlarını önemli bir faktör olarak incelemek gerekmektedir. Supramoleküler yapılarla kendiliğinden birleşen amelogenin; çekirdeklenmeyi başlatmakta, kristal büyümesini kontrol etmekte ve kristallerin gerilme aralığını etkilemektedir.⁽¹⁵⁸⁾

1) Amelogenin İçeren Hidrojellere Dayalı Biyomimetik Sistemler

Iijima ve Moradian-Oldak⁽¹⁵⁹⁾ kalsiyum-fosfat kristalleşmesini kontrol etmek için; yaptıkları in vitro bir çalışmada doğal domuz amelogenini kullanmışlar ve doğal mineye benzer özellik, ölçü ve dizilimde nano boyutta prizma benzeri apatit kristallerinin büyüdüğünü göstermişlerdir. Son çalışmalarda hidroksiapatit kristallerinin büyümesini kontrol etmek için; amelogenin proteininden ve kitosanın

antimikrobiyal aktivitesinden faydalanılarak, mine yüzeyinin tekrar oluşturulması için amelogenin içeren kitosan (CS-AMEL) hidrojel geliştirilmiştir. Kitosan hidrojelinde bulunan amelogenin proteinlerinin, Ca^{+2} -P kümelerini dengede tutabildiği ve oluşan mine benzeri kristallerin minenin kendi kristalleri ile doğrusal bir zincirle birleştiği ileri sürülmüştür.^(160, 161) Asitlenmiş mine yüzeyine, CS-AMEL hidrojel ile 7 günlük tedavi uygulandıktan sonra; mine yüzeyinde 15 µm kalınlığında mine benzeri tabaka oluştuğu bildirilmiştir. Asitlenmiş mine yüzeyinin sertliğinin ve asitlenmiş minenin elastik modülünün CS-AMEL hidrojel uygulandıktan sonra önemli ölçüde geliştiği gösterilmiştir.⁽¹⁵⁴⁾

2) Peptidlere Dayalı Biyomimetik Sistemler

Doğal proteinlerin elde edilmesi ve saflaştırılmasının zor olmasından dolayı, araştırmacılar protein analoglarının üretilmesine yönelmişlerdir. DPP dizisini esas alarak; aspartik asit-serin-serin (DSS) dizisinin tekrarlayan şekillerde kullanılmasıyla oluşturulan peptidin, kalsiyum fosfat bileşiklerine yüksek afinite gösterip hidroksiapatit kristallerinin oluşumunu desteklediği gösterilmiştir.⁽¹⁶²⁻¹⁶⁴⁾

3) Dendrimerlere Dayalı Biyomimetik Sistemler

“**Dendrimerler;**” dallanma yapısına sahip merkezi bir çekirdek ile dallanmış fonksiyonel gruplardan oluşan yapay proteinlerdir. Fonksiyonel gruplar dendrimere çeşitlilik sağlarken, dallanma birimleri dendrimerlerin tekrarlı bir şekilde büyümesini sağlamaktadır.^(165, 166) Dendrimerler çeşitli fonksiyonlar için modifiye edilebilir ve tasarlanabilir.⁽¹⁶⁵⁾

Protein benzeri yapısından dolayı yapay proteinler olarak bilinen “**poli amidoamin dendrimerleri (PAMAM)**”, iç boşlukları olan ve dış terminal gruplar içeren yüksek dallı polimerlerdir. İç boşluklar ilaç veya iyon iletimi, dış terminal grupları ise spesifik fonksiyonlar veya bağlantılar ile ilgilidir.⁽¹⁶⁷⁾ PAMAM dendrimerlerinin sulu çözeltilerde hiyerarşik yapılarla kendiliğinden birleşmeye yatkın oldukları bildirilmiştir. PAMAM dendrimerleri; önce nanosferlerle, sonra nanozincirlerle ve mikrofiberlerle ve son olarak makroskopik kümelerle kendiliğinden birleşme özelliğine sahiptir.^(168, 169) Kendi kendine birleşme ve benzer özellikleri nedeniyle; PAMAM dendrimerleri, hidroksiapatit kristallerinin mineralizasyon sürecinde önemli rol oynayan amelogeninin görevini taklit etmektedir.^(170, 171)

Son zamanlarda, sert doku remineralizasyonu için biyomimetik işlemlerde amino terminal gruplarına (PAMAM-NH₂) sahip PAMAM dendrimerler kullanılmıştır. Poli dendrimerler; Ca⁺² ve P iyonlarını absorbe edebilmekte, hidroksiapatit kristalleri için çekirdeklenme yeri sağlayarak, mineralizasyonda kalıp görevi görmektedir. Bununla birlikte, PAMAM-NH₂'nin hidroksiapatit kristallerine zayıf bir şekilde bağlandığı gösterilmiştir.⁽¹⁶⁵⁾

Çoklu yapıdaki PAMAM dendrimerleri yapay protein olarak kullanılmış ve özellikle hidroksiapatitin kristalleşme sürecinde, biyomineralizasyon sağlayan materyal olarak araştırılmıştır. Karboksilik asit grubuna bağlı PAMAM dendrimerlerinin (PAMAM-COOH), doğal mine ile aynı yapıya ve mineral faza sahip hidroksiapatit kristallerinin oluşumunu indüklemek için, demineralize mine yüzeyinde organik kalıp olarak görev yaptığı bildirilmiştir.⁽¹⁷²⁾ Yang ve ark.ları⁽¹⁶⁹⁾ PAMAM-COOH molekülünün; nanosferlerin, nanozincirlerin ve mikrofiberlerin hiyerarşik yapılarla kendiliğinden birleşme eğiliminde olduklarını ve mikrofiberlerden oluşan makroskopik kümelerin amelogenininkine benzer olduğunu bulmuşlardır.

4) Aminoasitlere Dayalı Biyomimetik Sistemler

Amino asitler, proteinlerin temel yapı taşlarıdır. Amelogenin bileşiminde %15-20 glutamin amino asiti (glu-aa) bulunur. Glu-aa; c eksen boyunca kristalleşmeyi sağlamak için, hidroksiapatite adsorbe edilebilen iki karboksilat grubuna sahiptir.⁽¹⁷³⁾ Glutamin vücutta en fazla bulunan serbest amino asittir. Glutamin; büyüme, doku onarımı, hücre yenilenmesi ve kollojen sentezinde önemli görevlere sahiptir.^(174, 175) Araştırmacılar, amelogeninin yapısı ve mine oluşumundaki rolünü yıllarca araştırmışlar ve benzer amino asit dizilerine sahip amelogenin türevi peptitleri üretmeye çalışmışlardır.⁽¹⁷⁶⁾ Örneğin, glutamin-proline-X şeklinde aminoasit tekrarı içeren bir peptidin kullanılması, in vitro bir çalışmada ve fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada 1000 ppm NaF kullanımına benzer şekilde mine remineralizasyonu ile sonuçlanmıştır. ^(177, 178)

5) Kalsiyum Fosfat Nanopartikülleri Temel Alan Biyomimetik Sistemler

Amorf nanoprekürsörlerinin oluşumu ve stabilizasyonu, minenin biyomimetik mineralizasyonunda çok önemli bir adımdır. Sütten elde edilen kazein fosfopeptit (CPP), dişlerin biyomineralizasyonunda yer alan proteinlerin analogudur. Protein analogları; fosforile edilmiş serin (Ser) kümeleri içerir ve amorf nano komplekslerin

oluşmasıyla Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonlarını stabilize edebilir. Amorf kalsiyum fosfatın (ACP), kalsiyum fosfatın kristalimsi polimorflarından daha çözünür olduğu bilinmektedir, bu yüzden sulu çözeltide kolayca hidroksiapatit kristaline dönüşmektedir. Fosforlanmış proteinlerin mine biyomineralizasyonundaki etkisine dayanarak, erken mine çürüklerini remineralize etmek için fosforlanmış kitosan ve ACP'nin nanokompleksleri sentezlenmiştir. Minenin in vitro mineralizasyonu için ACP/PVP (poli vini piroolidon) nanofiberlerinden bir hidrojel matriksi geliştirilmiş ve lezyon yüzeylerine uygulanmıştır.⁽¹⁵⁴⁾ Lezyonların remineralize olduğu ancak mine benzeri yapı oluşmadığı gösterilmiştir.^(154, 167)

6) Diğer Biyomimetik Sistemler

Farklı organik bileşikleri içeren sıvılar ve hidrojeller (suyla etkileştiklerinde çözünmeyen, ancak çok miktarda suyu yapısına alarak şişebilen, üç boyutlu yapıdaki polimerler hidrojel olarak adlandırılır) dahil olmak üzere, mine defektlerinin onarımı için başka sistemler de geliştirilmiştir. Midye, agaroz hidrojel modeli, gliserinle zenginleştirilmiş jelatin tekniği ve etilen diamin tetra asetik asitten (EDTA) esinlenen biyoaktif bileşikler, minenin biyomimetik mineralizasyonu için kullanılmıştır.

Ca^{+2} iyonları ve yüksek konsantrasyonda F varlığında; agaroz hidrojel tarafından, prizma benzeri hidroksiapatit içeren yeni oluşan mine yüzeyinden bahsedilmiştir. Proteinlere ve protein analoglarına ek olarak, hidroksiapatit kristallerinin biyomimetik oluşumunda kullanılan birçok başka biyopolimer vardır. Florürlü hidroksiapatit mikrokristallerinin mine benzeri yapılar içeren yeni oluşan tabakaları, fizyolojik koşullar altında EDTA kullanılarak mine yüzeyinde sentezlenmiştir.

Son yıllarda, mine oluşumu ile ilgili genetik ürünlerin gelişimi devam etmekle birlikte, mine oluşumunun ayrıntılı mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Protein aracılı mine biyomineralizasyon mekanizmalarının ortaya çıkması, doğal mineye benzeyen kimyasal kompozisyona sahip biyomateriyallerin gelişimi için faydalı olmuştur. Son 10 yılda, kalsiyum fosfat nanoparçacıkları, peptitler, amelogeninden ilham alan polimerler ve diğer organik katkı maddelerinin varlığında mine benzeri mikro yapıları taklit etmek için çeşitli biyomimetik sistemler araştırılmıştır.

Tüm bu umut verici çalışmalara rağmen; biyomimetik stratejiler hala diş hekimliği ve malzeme bilimleri alanlarında bazı zorluklarla karşı karşıyadır. Çünkü insan

dişleri, anlatılan tüm bu mekanizmalardan çok daha iyi mekanik özelliklere ve oldukça karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu materyallerin klinik uygulamada değerlendirilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.⁽¹⁵⁴⁾

2.16. Remineralizasyon Ajanları

İdeal bir remineralizasyon ajanında olması gereken özellikler :

- Oral kavitede kalsiyum ve fosfat birikimi sağlamalıdır.
- Fazla miktarda kalsiyum salınımına neden olmamalıdır.
- Diştaşı oluşumuna neden olmamalıdır.
- Çürük atakları karşısında demineralizasyonu durduracak şekilde asidik pH' da çalışabilmelidir.
- Tükürük salgısının çürük oluşumunu engelleyemediği kserostomi hastalarında etkili bir şekilde çalışabilmelidir .
- Tükürüğün remineralizasyon özelliğini arttırabilmelidir.⁽¹⁷⁹⁻¹⁸¹⁾

1) Florür (F)

Florür (F), yüksek elektronegatifliğe sahip ve doğada serbest halde bulunmayan bir gaz olup, bileşikler oluşturarak florür tuzları (floridler) şeklinde bulunmaktadır.⁽¹⁸²⁾

F, minenin demineralizasyonunu önlemek ve remineralizasyonunu sağlamak için en fazla tercih edilen remineralizasyon ajanıdır. F'nin çürük oluşumunu önlemedeki etkileri birkaç mekanizmayla özetlenebilir:

1) Hidroksiapatitteki OH⁻ grupları ile yer değiştirerek oluşan florapatit [FHA,Ca₅(PO₄)₃F], hidroksiapatite göre, düşük pH değerlerine daha dirençlidir, bu durum, florapatitin düşük pH değerlerinde daha az çözündüğünü göstermektedir.

2) Karyojenik biyofilm tabakasında, diş dokusunu demineralize etmek için organik asit üreten mikroorganizmaların metabolik ve fizyolojik yolları F tarafından inhibe edilir.⁽¹⁸³⁾

3) F remineralizasyonu artırır.⁽¹⁸³⁾

4) Pelikül ve plak oluşumu boyunca iyonik bağların kurulması remineralizasyonda etkili olur.⁽¹⁸³⁻¹⁸⁶⁾

Oluşan florapatit ile; minenin çözünürlüğü azalmakta, bakteriyel enzimler inhibe olmakta ve asit oluşumu önlenmektedir. Remineralizasyonun başlaması için, tükürükteki F konsantrasyonunun 0,5 ppm veya daha fazla olması gerekmektedir.⁽¹⁸⁷⁾

F, sistemik ve topikal olarak iki şekilde uygulanabilmektedir. Sistemik uygulamalar; içme sularına (örn: okul sularına), tuz ve süte F katılması ve F tabletleri şeklinde uygulanmaktadır.⁽¹⁸⁸⁾

Topikal uygulamalar ise; bireysel bakım ürünleri ve profesyonel uygulamalar olarak 2 şekildedir. Bireysel bakım ürünleri olarak; diş macunu, kürdan, diş ipi, pastil, sakız ve gargaralar kullanılmaktadır. Profesyonel F uygulamaları arasında; jel, vernik ve yavaş salınım sistemleri bulunmaktadır.⁽¹⁸⁹⁾ F vernikler; minenin yüzey tabakalarına F katılımını arttırabilmek ve topikal F uygulamalarının etkisini kuvvetlendirmek üzere geliştirilmiş profesyonel F uygulamasıdır.^(190, 191) F vernikler mine yüzeyine yapışır ve F ile minenin temas süresini uzatarak remineralizasyona katkı sağlar.^(189, 192-194) En sık kullanılan topikal F ajanları; sodyum florür (NaF), asidule fosfat florür (APF) ve kalay florür (SnF_2) ve titanyum florürdür (TiF).

NaF : İlk kullanılan topikal F ajanı olan NaF, nötr pH'da kararlı bir bileşiktir. Tükürük akış hızı azalmış ve asidik F'yi tolere edemeyen hastalarda tercih edilmektedir.^(189, 195)

APF : %1,23 oranında NaF içermektedir. Düşük pH'daki solüsyona fosforik asit eklenmektedir. Fosforik asit eklenmesi ile; kalsiyum florür (CaF_2) oluşumunu azaltmak, floropatit oluşumunu arttırmak amaçlanmaktadır.^(189, 196) APF, tek seferde dişlere kolayca uygulanabilmekte ve çürük önleyici etkilerinden dolayı sıkça kullanılmaktadır. APF jeli, kimyasal olarak kararlı bir yapıya sahip olup, klinikte hazır formları kullanılmaktadır.⁽¹⁹⁷⁾

SnF_2 : %8-10 oranında F içeren SnF_2 plak formasyonu ve plak asidojenitesi üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir.⁽¹⁹⁸⁾ Bununla beraber; SnF_2 bileşiğinin kimyasal yapısının bozulmasını engellemek için SnF_2 solüsyonlarının taze olarak hazırlanması gerekmektedir. SnF_2 solüsyonlarının hastalar tarafından kabul edilemeyecek metalik bir tada sahip olduğu ve restorasyon kenarlarında renklenmelere yol açtığı bildirilmiştir.⁽¹⁹⁷⁾

Titanyum florür (TiF) : TiF türevi bileşiklerin özellikle başlangıç çürüklerinin önlenmesinde etkili bir ajan olduğu bildirilmiştir.⁽¹⁹⁹⁾ TiF, Ca^{+2} alımını artırır. Mine yüzeyine TiF uygulanmış dişler, demineralizasyon sırasında daha az Ca^{+2} kaybı göstermektedir.⁽¹⁸⁴⁾

2) Gümüş (Ag)

Gümüş bileşikler, antimikrobiyal özelliklerinden dolayı hem tıpta hem de diş hekimliğinde uzun yıllardır kullanılmaktadır. Çürük oluşumunu önlemek ve durdurmak için çeşitli şekillerde kullanılan F iyonu, Ag iyonu ile birlikte kullanılabilir. Ag ve F'nin kombine etkileri, çürük lezyonların ilerlemesini durdurma ve yeni çürüklerin gelişimini önleme özelliğine sahiptir. Ag ve F; NH_3 ile birleşerek gümüş diamin florür (SDF) oluşturur. SDF; sadece Ag, NH_3 ve F iyonlarından oluşan basit bir tuz çözeltisi değildir. SDF; renksiz, ağır metal halojen tuz karışımı içeren alkali bir çözeltidir. NH_3 , çözeltiyi belirli bir süre belirli bir konsantrasyonda tutmaktadır. 1969'dan bu yana, ileri yaşlarda kök çürüklerinin önlenmesinde, çocuklarda süt dişlerindeki ve daimi molar dişlerinin pit ve fissürlerindeki çürüklerinin remineralizasyonunda SDF kullanılmaktadır.

SDF uygulaması ile demineralize diş yüzeyinin lezyon derinliğinin azaldığı gösterilmiştir. SDF uygulanan dişlerin; sadece deiyonize su ile yıkanan kontrol grubundaki dişlerle karşılaştırıldığında, yaklaşık 150 μm derinliğine kadar daha yüksek yüzey mikro sertliğine sahip olduğu bildirilmiştir. SDF uygulanan dişlerin bulunduğu remineralizasyon çözeltisindeki Ca^{+2} konsantrasyonunun azaldığı bulunmuştur. Bu durum, SDF'nin Ca^{+2} emilimini artırdığını göstermektedir. Demineralizasyon çözeltisindeki Ca^{+2} konsantrasyonu da azaltılmıştır, bu da SDF'nin mendeden Ca^{+2} çözünmesini engellediğini göstermektedir.⁽²⁰⁰⁾

3) Şeker Alkolleri

Poliollerin bir grubunu oluşturan şeker alkolleri, sükrozdan türetilen kalorisi olmayan veya çok düşük kaloriye sahip olan yapay tatlandırıcılardır. Tatlılık dereceleri ise sükroza yakındır. Şeker alkollerinin karakteristik özellikleri; az miktarda sindirilebilir olmaları ve kolonda bir miktar fermente olmalarıdır. Şeker alkollerinin bir kısmı gıda katkı maddesi olarak ve/veya hacim verici olarak kullanılmaktadır.

3.1 Ksilitol (E967)

Ksilitol, çok sayıda bitkide bulunan beş karbonlu doğal bir şeker alkolüdür. Oral bakteriler enerji kaynağı olarak ksilitolü kullanamadığından, diş çürüğüne sebep olmamakta, bu sebeple sakızlarda özellikle tercih edilmektedir.

Düşük enerjili bir tatlandırıcıdır. Sükrozdan daha düşük enerji vermesine karşın yaklaşık aynı derecede tat verir. Ağza serinlik hissi verir. Şekersiz tatlandırıcılı sakız üretimi başta olmak üzere; tatlılar, şekerlemeler, şekeri azaltılmış reçel ve marmelatlar, bazı unlu mamullerde tatlandırıcı ve nem tutucu olarak kullanılabilir. Ksilitol antikaryojenik özelliğini, *S. Mutans*'ların diş yüzeyine bağlanmasını engelleyerek göstermektedir.⁽²⁰¹⁾ Hildebrant ve Lee,⁽²⁰²⁾ ksilitollü sakızların şeker alkollerini içeren diğer sakızlardan daha fazla çürük önleyici etkisi olduğunu, bununda ksilitolün ağız florasında *S. Mutans*'ların çoğalmasını engellediği için olduğunu bildirmektedirler. Ayrıca ksilitol içeren sakızların, aktif çürük lezyonu olan bireylerin çürük profilaksisinde alternatif olarak kullanılabileceğini ifade etmektedirler.

3.2 Maltitol (E965)

Oral bakteriler tarafından besin kaynağı olarak kullanılmadığından karyojenik etkisi yoktur. Maltitol, sükroza göre %10-25 daha az tatlıdır. Enerji değeri sükrozun yaklaşık yarısı kadardır. Ağza alındığında serinlik hissi verir.^(201, 203)

3.3 Sorbitol (E420)

Meyvelerde bulunan şeker alkolüdür. Yapısal olarak sükroza yakındır. Sükrozun yaklaşık yarısı kadar tatlıdır. Şekerlemeler, unlu mamüller, düşük kalorili gıdalar ve sakız gibi ürünlerde nem tutucu, tatlandırıcı, doku oluşturu, hacim artırıcı ve bağlayıcı olarak kullanılmaktadır.^(201, 203)

3.4 Eritritol (E968)

Doğada yaygın olarak bulunan bir şeker alkolüdür. Ticari olarak glikozdan ozmofilik mayalar (yüksek şeker konsantrasyonunu seven) yardımıyla elde edilir. Eritritol oral mikroorganizmalarca metabolize edilmez. Vücutta çok az miktarda metabolize edilir, büyük oranda idrarla atılır. Eritritol, glikoz ve insülin düzeylerini etkilemez. Bazı peynir türleri, süt tozu, sütlü tatlılar, dondurma, kahvaltılık tahıllar, işlenmiş etler, yumurtalı tatlılar ve sos gibi ürünlerde tatlandırıcı olarak kullanılabilir.⁽²⁰¹⁾

4) Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)

CPP-ACP; çürük oluşumunu önleyen ve remineralizasyona yardımcı olan, ACP'nin CPP ile kararlı bir bileşik haline getirildiği kazein türevi peptitlerdir.⁽²⁰⁴⁾ CPP, Ca^{+2} bağlayabilen elementleri içeren bir peptittir. CPP, çözeltilerde bulunan ACP'yi, kalsiyum fosfat olarak stabilize etmektedir. CPP; ACP'yi serbest bırakarak, ACP'nin diş minesine bağlanmasına yardımcı olmaktadır. CPP; pelikula yapışma yeteneğine sahip olan *S. Mutans*'ların sayısını da azaltmaktadır.⁽²⁰⁵⁾ CPP-ACP; dental plak ve diş yüzeyine uygulandığında, kalsiyum ve fosfat rezervuarı olarak görev yapmaktadır.⁽²⁰⁴⁾ Birçok in vitro çalışma, CPP-ACP'nin beyaz nokta lezyonlarındaki yıkımın tersine çevrilmesinde önemli rol oynadığını göstermiştir. CPP-ACP'nin in vitro ve in situ çalışmalarda; çürük lezyonlarında demineralizasyonu azalttığı, remineralizasyonu arttırdığı ve in vitro olarak erozyona bağlı diş aşınmasını azalttığı gösterilmiştir. CPP, amorf kalsiyum fosfat florürü (ACPF) de stabilize eder. ACPF, F veya CPP-ACP uygulamaları ile karşılaştırıldığında çürük lezyonları üzerinde daha fazla remineralize edici etkiye sahiptir.⁽²⁰⁵⁾

5) Arjinin (Arg)

Arjinin diyet proteinlerinden doğal olarak alınan bir amino asit olup F'li diş macunu ve diğer ağız bakım ürünlerinde bulunmaktadır. Yüksek proteinli diyetlerin metabolize edilmesi sonucunda; ağız boşluğunda Arg görülmektedir. Tükürük Arg'si, alkali yapısından dolayı, oral biyofilmin pH'sını artırarak daha az karyojenik biyofilm varlığına neden olmaktadır. Dışardan alınan Arg takviyeleri, oral alkali ortamı güçlendirmeye yardımcı olur. Arg; F'nin, oral biyofilm tabakası için sınırlı kaldığı durumlarda tamamlayıcı role sahiptir. Remineralizasyonda; Arg'nin, F ve Ca^{+2} ile sinerjistik etkileri daha önce bildirilmiştir. Klinik verilere dayanarak, biyofilm tabakası üzerinde düzenleyici potansiyele sahip olduğu belirlenen Arg, diş macunlarının içeriğine eklenmiştir.

Diş macunlarının içeriğindeki Arg %1,5 ve %8 oranlarında bulunmaktadır. %1,5 Arg içeren F'li diş macunları, sadece F içeren diş macunlarına göre çürüklerin durdurulmasında daha etkili bulunmuştur. %8 Arg içeren F'li diş macunu ise başlangıçta dentin aşırı duyarlılığının tedavisi için üretilmişken, son zamanlarda güçlü bir çürük önleyici ajan olarak kullanılmaktadır.⁽²⁰⁶⁾ Arg içeren diş macunları kullanıldığında; Arg aminoasiti tükürük içindeki arjinin deaminaz enzim sistemi tarafından deamine edilerek NH_3 üretilmektedir. NH_3 , yüksek derecede alkali bir

bileşik olup oral ortamda pH'nın yükselmesine neden olmaktadır. Böylece Arg, karyojenik plak patojenitesini değiştirerek veya azaltarak remineralizasyon için ideal bir ortam sağlamaktadır.⁽²⁰⁷⁾

6) Fonksiyonel Trikalsiyum Fosfat Ürünleri

Trikalsiyum fosfat (TCP), plak ve tükürükteki Ca^{+2} seviyelerini artıran bir bileşiktir. Yapılan bir çalışmada; ağırlıkça %2,5 alfa-TCP'a (α -TCP) sahip deney amaçlı kullanılan bir sakız ile TCP eklenmemiş kontrol grubundaki sakızların çiğnenmesi sonucu, plak sıvısında ve tükürükte serbest Ca^{+2} ve PO_4^{-3} seviyeleri üzerinde az da olsa farklılık görülmüştür.⁽²⁰⁸⁾

TCP içeren ürünlerde, beta-TCP'nin (β -TCP) organik maddelerle karıştırılmasıyla, β -TCP'deki kalsiyum oksitler (CaO) organik maddeler tarafından korunur hale gelmektedir. Böylece erken dönemde β -TCP içindeki Ca ve P iyonları ile F etkileşimleri olmaksızın herhangi bir formda (diş macunu veya vernik) stabil bir β -TCP oluşur.

Diş yüzeyine uygulandığında, içerisindeki organik malzemeler (genellikle fumarik asit veya sodyum lauril sülfat gibi yüzey aktif maddeler) F iyonundan korunan Ca^{+2} 'u diş yüzeyine taşır. Tükürük; kalsiyum bileşiğini aktive ederek, diş yüzeyinde Ca^{+2} 'u serbest bırakır. Böylece lezyon yüzeyine yüksek seviyede F ve Ca^{+2} sağlayarak remineralizasyonu desteklemektedir. Plasebo kontrollü klinik çalışmalarda, yalnızca F'ye kıyasla, F ve fonksiyonel β -TCP kombinasyonunun hem başlangıç çürüklerinin hem de aşınmış minenin remineralizasyonunu artırabileceği gösterilmiştir.⁽²⁰⁷⁾

7) Biyoaktif Cam Ürünleri

Biyoaktif cam (Bioglass®), 1960'larda Dr.Larry Hench tarafından bulunmuştur. Biyoaktif camlar; vücudun mineralizasyon özelliklerine uygun, hücre sinyallerini etkileyen biyomimetik mineralizasyon sağlayan ajan olarak görev yapmaktadır. Dokunun korunması ve doku fonksiyonunun sağlanmasında önemlidir.

Sulu bir ortamda biyoaktif cam 3 fazda yüzey reaksiyonu gösterir;

- ❖ Katyonların değişimi ve filtre edilmesi,
- ❖ Silisyum dioksit (SiO_2) ağının çözünmesi ve
- ❖ Bir apatit tabakası oluşturan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} çökmesi.

Biyoaktif cam bileşimleri ile yapılan araştırmalarda, çürük oluşumundan sorumlu bakterilerin biyoaktif cam tozlarına ve çözeltilerine maruz kalmaları halinde önemli bir antimikrobiyal etkiyle karşılaşmış oldukları gösterilmiştir. Bu nedenle, özellikle sistemik sorunları olan hastalarda, minenin remineralizasyonunda biyoaktif camın kullanımı oldukça ümit verici görülmüş ancak etkinliğinin kanıtlanması için daha fazla araştırma yapılması gerektiği vurgulanmıştır.⁽¹⁷⁹⁾

8) Kitosan

Kitosan, eklem bacaklıların kabuğunda doğal olarak bulunan kitinin, N-deasetilasyon sonucu oluşan bir türevidir. Kitosan; hazır olarak bulunabilmesi, biyouyumlu olması, biyolojik olarak çözünebilmesi ve toksik olmaması gibi özellikleri nedeniyle fonksiyonel bir biyomateryal olarak araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Kitosan; yüksek azot (N) içeriği sayesinde, Ca^{+2} ve PO_4^{-3} gibi iyonları taşıyarak, biyomineralizasyon sağlamaktadır. Pozitif yüklü kitosan; negatif yüklü *S. Mutans* 'lara bağlanarak, *S. Mutans* 'ların büyümelerini inhibe etmesi yoluyla dental plak biyofilm tabakası oluşumunda önemli bir azalmaya neden olmaktadır. Böylece birbirlerine yakın *S. Mutans* hücre yüzeyleri arasında kolonizasyon önlenmektedir. Kitosanın pozitif yüklü olması, demineralize mine de dahil olmak üzere negatif yüklü yüzeylere yapışmasını sağlar. Kitosanın; doku mühendisliğinde, gıda, beslenme ve ilaç dağıtımında yoğun olarak kullanılmasına rağmen, erken mine çürüğü tedavisinde kullanımına dair az sayıda çalışma vardır. Yakın zamanda, kitosan; mine lezyonlarını remineralize etmek için kullanılmıştır. CS-AMEL hidrojelinin, asitlenmiş mine yüzeylerinde veya yapay mine lezyonlarında in vitro olarak biyomimetik remineralizasyonu indüklediği gösterilmiştir. Yapılan araştırmada, mine benzeri kristallerin oluştuğu ve lezyon derinliğinin azaldığı bildirilmiştir. Elektrostatik etkileşimler yoluyla kitosanın amino gruplarının sağladığı yapışma nedeniyle pH 6,5'in altına düştüğünde bile remineralizasyonun sona ermediği, bu nedenle, kitosanın minedeki beyaz nokta lezyonlarını onarmak için uygun bir ajan olabileceği vurgulanmıştır.⁽²⁰⁹⁾

9) Galla Chinensis

Son yıllarda, Çin'de bitkisel ilaçlar üzerine yapılan çalışmalarda, bitkisel ilaçların çürük önleyici ajan olarak etkili olup olmadıkları değerlendirilmiştir. G.Chinensis, genellikle Sichuan eyaletinde üretilip Çin'de yaygın olarak kullanılmaktadır.

Sonbahar mevsiminde hasat edilen *G.Chinensis*, larvaları çıkarıldıktan sonra pişirilerek ve kurutularak geleneksel bir Çin bitkisine dönüştürülmektedir. *G.Chinensis*; kan pıhtılaşmasını hızlandırma, antibakteriyel/antiviral bir ajan olarak ve çözünmeyen bileşikler oluşturmak için çeşitli metaller, alkaloidler veya glikozitler ile bir araya gelerek detoksifikasyon maddesi olarak kullanılmaktadır. Çin’de uzun zamandır kullanılan bitkinin, doğal tıbbi özelliklere sahip pek çok yararının olduğu düşünülmektedir. Daha önceki çalışmalar sırasında, *G. Chinensis*’in; *S. Mutans 3a₃* (serotip c, klinik izolat) ve *L. Rhamnosus* (AC 413) dahil olmak üzere bazı karyojenik bakterilerin büyümesini ve asit üretimini inhibe etmek için antibakteriyel özelliklere sahip olduğu öne sürülmüştür. Ayrıca in vitro olarak, mine demineralizasyonunu inhibe etme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. *G.Chinensis*’in sulu ekstraktının, çürük gelişmesini önlediği ve remineralizasyonda etkili olduğu bildirilmiştir.⁽²¹⁰⁾

10) Propolis

Propolis, bitki kökenli bir arı ürünüdür. Farklı coğrafi konumlarda bitkiler, yerel floraya göre farklılık gösterebilir. Arılar, propolis üretmek için bitkisel maddeleri toplar, balmumu ile karıştırır. Propolis, arılar tarafından kovanların açılmaması için yapıştırıcı olarak kullanılır. Propolisin etanolik ekstraktının; antibakteriyel, antiviral, antifungal, anestezi, antienflamatuar, hipotansif, immüностimülatör ve sitostatik özellikler gibi çeşitli farmakolojik aktiviteler gösterdiği bilinmektedir.⁽²¹¹⁾ Propolis güçlü bir antibakteriyel maddedir. Terapötik etkisi, propolis’teki flavonoid ajanından kaynaklanmaktadır.⁽²¹²⁾

Propolisin antiçürük/antiplak özellikleri iki etki mekanizması ile ilişkilendirilmiştir:

- karyojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite ve
- glukosiltransferaz enzimlerinin (GTF’ler) aktivitesinin inhibisyonudur.

Propolis kompleksinin kimyasal bileşimindeki flavonoidler ve sinamik asit türevleri; propolisin biyolojik aktif bileşenleri olarak kabul edilir. Ayrıca, içeriği coğrafi kökenine bağlı olarak değişmektedir. Bugüne kadar, 12 farklı Brezilya tipi propolis kimyasal olarak tanımlanmış ve tip 1’den tip 12’ye kadar sınıflandırılmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar; Brezilya’nın Güney (tip-3) ve Güneydoğu (tip-12) bölgelerindeki propolislerin çürük önleyici potansiyele sahip olduklarını göstermiştir.

Her iki örnek (tip-3 ve tip-12) de in vivo olarak çürük ve diş plağı birikim oranını azaltmıştır.⁽²¹³⁾

11) Probiyotikler

Probiyotikler, yeterli miktarda tüketildikleri zaman, mikrobiyal florayı düzenleyerek insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler görülmesini sağlayan canlı mikroorganizmalardır. Probiyotiklerin; çürük oluşumunu engellemesi ve yavaşlatabilmesi için, diş yüzeylerine bağlanabilmesi ve mikrobiyal dental plağı oluşturan bakterilerin arasına katılması gerekmektedir. Probiyotikler; karyojenik bakterilerin oluşturduğu bakteriyel biyofilm tabakasının oluşumunu engelleyerek, kendileri bir biyofilm tabakası oluştururlar. Bununla birlikte probiyotik bakteriler; karyojenik bakterilerle yarışarak, karyojenik bakterilerin tutunma alanlarını kullanmalı ve onların tutunmasını engellemelidir.⁽²¹⁴⁾ Ayrıca probiyotikler, bakterilerin karbonhidrat metabolizmasını etkileyerek, asit üretimini de azaltabilmelidir. Böylece karyojenik bakterilerin ağız ortamındaki etkinliğinin azaltılması hedeflenir.⁽²¹⁵⁾ Probiyotik olarak adlandırılan birçok mikroorganizma vardır. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri en bilinen probiyotik bakterilerdir. Örneğin; peynirin minenin demineralizasyonunu önlediği ve remineralizasyonunu artırdığı bildirilmiştir. Çeşitli klinik çalışmalarda; probiyotik içeren süt, yoğurt ve peynirin düzenli tüketiminin; tükürük ve mikrobiyal dental plaktaki karyojenik bakteri sayısında azalmaya yardımcı olduğu gösterilmiştir. Farklı çalışmalarda, sakız veya pastillere katılan probiyotiklerin günlük kullanımlarının da tükürük içerisindeki *S. Mutans* sayısını azalttığı gösterilmiştir.^(215, 216)

12) Teobromin

Beyaz kristal bir toz olan teobromin (3,7-dimetilksantin), kakao (240 mg/fincan) ve çikolatadan (%1,89) kolayca temin edilebilen bir alkaloiddir. Bitter çikolatalarda (yaklaşık 10 g/kg) sütlü çikolatalara (1-5 g/kg) göre daha yüksektir. Yüksek kaliteli çikolata, düşük kaliteli çikolatadan daha fazla teobromin içerir. Kakao çekirdeğinin ortalama teobromin içeriği yaklaşık 20,3 mg/g'dir. Genel olarak, çikolatanın tüketimi diş çürüğü ile ilişkilendirilmiştir. Ancak, bir çok çalışma kakao tozu ve çikolatanın bazı çürük önleyici maddeler içerebileceğini de öne sürmektedir.⁽²¹⁷⁾

13) Poliamid

“**Poli amidoamin (PAMAM) dendrimerler;**” amelogeninlerin kendi kendine birleşme özelliğini taklit ederek benzer bir yapı oluşturmak ve hidroksiapatit kristallerinin sentezini kontrol etmek için organik bir şablon olarak kullanılan yapay proteinlerdir. Chen ve ark.ları⁽²¹⁸⁾ PAMAM-COOH dendrimerlerin, asitlenmiş mine yüzeyinde aynı yapıya, oryantasyona ve mineral faza sahip hidroksiapatit kristallerinin oluşumunu indüklemek üzere, organik bir kalıp olarak hareket ettiğini göstermişlerdir.

14) Kendiliğinden Birleşen Peptitler

“**Mine oluşumu,**” hücre dışı bir matriks içinde gerçekleşen protein aracılı bir biyomineralizasyon işlemidir. Mine biyomineralizasyonu sırasında ameloblastlar; iyi organize olmuş mine prizmalarını oluşturmak için, kristalleri yönlendirmek üzere amelogenin ve ameloblastin gibi proteinler salgırlar. Minede hidroksiapatitin ilk oluşumu; proteinden zengin jel benzeri bir matriks ortamında meydana gelmektedir. Matriksteki biyolojik makromoleküller zamanla parçalanır ve matriksten uzaklaştırılır. Artık canlılığını kaybeden mine, herhangi bir defekt ya da hasar karşısında kendini yenileyemez. Biyomimetik mineralizasyon, doğal mineralizasyon sürecini taklit eden bir yöntemdir. Fizyolojik koşullar altında mine benzeri apatit yapıların biyomimetik sentezi, doğal mineralizasyona alternatif bir yol olarak kabul edilir. Protein veya protein analogları, minenin biyomimetik mineralizasyonu için doğal proteinlerin işlevini taklit etmektedir. Peptitler en çok kullanılan protein analogudur.⁽²¹⁹⁾

Erken çürük lezyonlarının rejeneratif tedavisi için peptitler kullanılmaktadır. Erken çürük lezyonuna uygulanan peptit monomerleri; lezyonun yüzey altı mikro gözeneklerine dağılır ve yüksek iyonik kuvvet altında 3 boyutlu matriks (iskele) içerisinde kendiliğinden birleşir. Üç boyutlu matriks; tükürükten Ca^{+2} ve PO_4^{-3} çekerek de novo (yeniden, baştan) hidroksiapatit oluşumu için kalıp görevi görür. Mine ve dentin oluşumunu sağlayan biyomimetik mineralizasyonun tetiklenmesi için üç boyutlu matriksin oluşması gerekmektedir. Bu işlem, tedavi edilen lezyonun remineralizasyonunu sağlamak için birkaç hafta alır.⁽²⁰⁷⁾

Peptitlerle yapılan bazı in vitro çalışmalarda; asitlenmiş mine yüzeyine peptit çözeltisi uygulanması sonucu, yapay tükürükten Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonlarının

hidroksiapatit yüzeyine bağlandığı ve hidroksiapatit kristal boyutunu artırdığı gösterilmiştir.⁽²¹⁹⁾

Uygun çevresel koşullar altında; üç boyutlu iskeleler oluşturmak üzere kendi kendine birleşen peptitlerin; de novo hidroksiapatit çekirdeklenmesini gerçekleştirdiği ve diş gelişimi boyunca mine matriks proteinlerinin etkisini taklit eden mineralize doku rejenerasyonunu sağladığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar, erken dönemdeki çürük lezyonlarının tedavisinde tek bir peptit uygulamasının yararlı olabileceğini ve kendinden birleşen peptitlerin mineralize doku yenilenmesi ve onarımı için uygun materyaller olduğunu göstermektedir. Farklı konsantrasyonlarda peptit içeren ajanlar, diş yüzeyine Ca^{+2} iyonlarını çekerek, in situ mineral birikimini indükleyerek de novo hidroksiapatit oluşumunu sağlamaktadır. Peptit tedavisi, güvenli, non-invaziv ve hastalar için kabul edilebilir bir tedavi şeklidir. Ayrıca peptit tedavisi, "kavite açmadan doldurma" ('filling without drilling') yönteminden farklıdır. Biyomimetik bir peptidin kullanılması, mineralin kendisini yenileyerek doğal bir onarım gerçekleşmesini sağlamaktadır. Schlee ve ark.ları⁽²⁰⁸⁾ 3 aylık bir süre boyunca, mine yüzeyine uygulanan peptit ajanının yüzeyaltı mikroporlara yayıldığı ve küçük liflerden oluşan üç boyutlu bir iskele oluşturduğu ve bu iskelenin dişlerin gelişiminde bulunan proteinleri taklit ederek dişin yenilenmesini sağlamak için hidroksiapatit kristalizasyonunu desteklediğini ileri sürmüşlerdir. Yeni tanıtılan kendiliğinden birleşen peptitlerin; düz demineralize mine yüzeylerini remineralize etme kapasitesini değerlendiren in vitro bir çalışmada; peptit uygulanan örnekler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, peptit uygulanan örneklerin %93'ünde 8-12. haftadaki SEM görüntülerinde büyük remineralize bir alanın olduğu bildirilmiştir.⁽¹⁷⁹⁾

2.17 Mine Yüzeylerinin İncelenmesinde Kullanılan Yöntemler

1) Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ile Enerji Dağıtıcı X-Işını Spektrometresi (EDX)

Küçük miktarlardaki örneklerden düzgün sonuçlar elde etmek için hassas analitik yöntemler gereklidir. Uygun yöntem seçilirken, göz önünde bulundurulması gereken durum, seçilen yöntemde örneklerin zarar görmeden tekrar kullanılabilmesidir. Örneklerin zarar görmeden incelenebildiği yöntemlerden biri, enerji dağıtıcı X-ışını spektrometresi (EDX) ile taramalı elektron mikroskopudur (SEM). SEM-EDX aracılığıyla, nesneler morfolojileri ve elementel kompozisyonları göz önüne alınarak

incelenir.⁽²²⁰⁾ SEM, incelenen örneğin niteliği hakkında bilgi verirken; EDX örneğin niceliği hakkında bilgi vermektedir.⁽²²¹⁾ Ayrıca, elde edilen sonuçlar uygun kemometrik (Kemometri, veri tabanlı yollarla kimyasal sistemlerden bilgi alma bilimidir.) analiz yöntemleri kullanılarak değerlendirilebilir.⁽²²⁰⁾

SEM; görüntü ve örnek analizini birleştirebilme özelliğinde olması nedeniyle, günümüzde pek çok araştırma alanında kullanılmaktadır. SEM, en bilinen ve güçlü bir yüzey morfolojisi görüntüleme aracıdır. SEM; yüzeydeki yapıları, nano yapılardan makro yapılara kadar geniş bir aralıkta kolayca tanımlayabilir. Görüntü analizi teknikleriyle, elde edilen görüntülerin oluşum mekanizmaları hakkında bilgi sahibi olmak da mümkündür. Özellikle biyolojik örneklerin morfolojik yapılarını incelemek için, son yıllarda SEM teknolojisinde önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Biyolojik örneklerin doğal hallerini görüntülemek ve analiz etmek için vakum gerektiren SEM cihazlarının kullanımı oldukça zordur. Biyolojik örneklerin kurutulmasıyla SEM görüntülerinin elde edilmesi mümkündür. EDX, bir örneğin elementel analizini veya kimyasal kompozisyonunu elde etmek için kullanılan analitik bir tekniktir ve genellikle SEM'e entegre edilir. Ayrıca kantitatif element analizi ve farklı kompozisyonların 2 boyutlu element haritalarını elde etmek için kullanılır.⁽²²⁰⁾ Son 10 yılda, EDX ile bütünleşmiş SEM, biyolojik örneklerin morfolojisini ve bu morfolojideki yapıların kimyasal bileşimini hızlı ve doğru bir şekilde göstermek için kullanılmıştır.⁽²²²⁾

SEM-EDX sistemi;

- 🔧 Örneklerin element konsantrasyonunun doğrudan ölçümü (ağırlıkça>%0,1);
- 🔧 Be (Berilyum)'den U (Uranyum)'ya kadar geniş bir aralıktaki atomları ve bunların katyon ve anyonlarını ölçmek;
- 🔧 Minerallerin belirlenmesi;
- 🔧 Hızlı örnek değişimiyle zamandan tasarruf sağlayan verimli bir sistem olmak gibi bazı avantajlara sahiptir.⁽²²⁰⁾

SEM-EDX ayrıca, örneği iyonize etmek için elektronların enerjisine bağlı olarak, sadece örneğin yüzeyi değil, örneğin belirli bir derinliği hakkında da bilgi verir. SEM-EDX tekniği ile analiz edilen örneğin elementel bileşimini karakterize etmek için, elektron demeti tarafından bombardıman edilen örnekten yayılan X-ışınları kullanılarak yaklaşık 1µm kadar küçük yüzeyler ya da fazlar yarı-kantitatif olarak

analiz edilebilir. EDX ile nokta ve çizgi analizlerinin yanı sıra elementel haritalama yapmak da mümkündür.⁽²²²⁾

2) Transversal Mikroradyografi (TMR)

Transversal mikroradyografi (TMR), yapay olarak oluşturulan başlangıç mine lezyonlarında mineral miktarındaki değişimin tespitinde altın standart olarak kabul edilir. Yeni geliştirilen diğer çürük tespit yöntemlerinin karşılaştırılması ve doğrulanması için kullanılmıştır.⁽²²³⁻²²⁵⁾ Ancak, bu yöntemin bazı zorlukları vardır. Bunlardan ilki; bu yöntem, incelenecek örneğe zarar vermekte ve zaman almaktadır. 100 µm kadar ince bölümler hazırlanmalı ve ölçümlerin doğruluğunu sağlamak için bölümler çok düz olmalıdır. İkincisi, bir dentin lezyonunun orijinal yerini belirlemek zor olabilir çünkü dentin lezyonunun kuruması karakteristik dentin yüzeyinde büzülmeye neden olmaktadır.^(223, 226) Bu nedenle; doğru ölçüm yapabilmek zordur.

3) X Işını Toz Kırınımı (XRD)

XRD, bileşiklerin kristal yapısını belirlemek için kullanılır. Ayrıca, başka yollarla ölçülemeyen bileşiklerin niceliksel ve niteliksel analizine de izin verir. XRD ile yapısal analizin yanı sıra, kristal yapıların içeriği ve tane büyüklüğü de değerlendirilebilmektedir.

4) Polarize Işık Mikroskobu (POLMI)

POLMI, sert doku araştırmalarında yaygın olarak kullanılan nitel bir yöntemdir.⁽²²³⁾ Erozyon, yüzeyin asitlenmesi veya yüzey altı demineralizasyonu minenin mineral kaybına neden olabilmektedir. Minedeki başlangıç çürük lezyonlarının önemli özelliklerinden biri; iyi mineralize olmuş mine yüzeyinin altında, demineralize bir alanın varlığıdır. POLMI ile, doğal olarak oluşan beyaz nokta lezyonları dört bölgeye ayrılmıştır. Lezyon bölgesinin suya batırılmasından sonra, lezyonun yüzey bölgesi ve lezyon gövdesi belirgin hale gelmektedir ve negatif çift kırılmalı yüzey bölgesi %5'ten daha az gözenek hacmine sahip olmaktadır. Yarı saydam bölge ve karanlık bölge, çürük bölgelerin içine kinolin verilmesinden sonra polarize ışıktaki görülebilir. Bu bölgeler, incelenen doğal lezyonların çoğunda görülmüş ancak hepsinde bulunmamıştır.⁽²²⁷⁾ Mine örneklerinin polarize ışık altında değerlendirilmeleri; erken çürük lezyonlarının tespit edilmesinde, demineralizasyon veya remineralizasyon sonrası mine yapısındaki değişiklikleri açıklamakta faydalı olmuştur.⁽²²⁸⁾

5) Fokal Lazer Taramalı Mikroskop (CLSM)

Son zamanlarda CLSM, dişlerin yüzeyaltı alanlarının yıkıcı olmayan bir şekilde, üç boyutlu olarak mikroskobik tomografilerini elde etme yöntemi olarak kullanılmaktadır.⁽²²⁹⁻²³¹⁾ Konfokal prensip, odak dışı ışık alanlarından gelen rastgele ışıkların ortadan kaldırılmasına dayanır. Görüntüler, bir spotsız ışık kaynağı ($\text{çap} \pm 1 \mu\text{m}$) ile numunenin üzerinde taranarak ve odak içi düzlemden yansıyan ışığın kaydedilmesiyle elde edilir. Derinlemesine görüntüleme (tomografi), ardışık görüntüler dizisinin optik olarak xy düzlemi (yüzeye paralel optik bölüm) veya xz düzlemi (yüzeye dik optik bölüm) olarak kaydedilmesiyle mümkündür.⁽²²⁹⁾

6) X-Işını Taramalı Mikroradyografi (X-Ray Scanning Microradiography, Xsm)

XSM, geçirgen özellikteki katı cisimlerin difüzyon özelliklerinden yararlanılan yeni bir tekniktir. Absorpsiyon ölçümleri ile belirlenen konsantrasyonların optik tarama spektroskopik yöntemidir, fakat opak materyallerin porlarındaki sıvı kısmı incelemede de kullanılır. Bu teknik, mineralize dokulardaki iyonların ve moleküllerin lokal difüzyon katsayılarını ölçmek için geliştirilmiştir. Standart yöntemler ile numunedeki toplu değişiklikler incelenir, yerel farklılıklar hakkında bilgi vermez.⁽²³²⁾

7) Kantitatif Işık Etkili Floresans (QLF)

QLF, çürük ve sağlam mine arasında ayırım yapmak için dişlerin doğal floresansını kullanan bir tekniktir. QLF ile görüntülenen çürük bir noktanın floresans ışığının, çevre sağlam mineninkinden daha düşük olduğu gerçeğine dayanır. QLF, çevre sağlam mine ile ilgili olarak demineralize minenin floresans ışımalarının değişim yüzdesini ölçer ve doğrudan demineralizasyon sırasında kaybedilen mineral miktarı ile ilişkilendirilir.⁽²³³⁾

8) Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)

AFM, örneklerin yapısal karakterizasyonunu incelemek için tasarlanmış bir cihazdır. Üç boyutlu yüzey topografyasını çeşitli koşullar altında, yüksek uzaysal çözünürlükle görüntüleme imkanı sunar. AFM, örneğe zarar vermeden aynı örnekleri tedavi öncesi ve sonrası değerlendirme imkanı sunan bir tekniktir.⁽²³⁴⁾ Ayrıca AFM; minimum örnek hazırlığı gerektirmekte ve mine ve dentin erozyonunu incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır.⁽²³⁵⁾

9) Mikrosertlik testi

Mikrosertlik testleri, malzemelerin fiziksel özelliklerini incelemek ve dişlerin sertliğini ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.⁽²³⁶⁻²³⁸⁾ Bu yöntemin uygulanması kolay ve hızlıdır. Ayrıca bu yöntemde, incelenecek malzeme veya diş dokusunun küçük bir yüzeyi alanı yeterli olmaktadır. Mikrosertlik testinde; elmas çizici uç (vickers veya knoop) kullanılarak, örnek yüzeylerine belirli bir süre boyunca belirli miktarda yük uygulanmaktadır. Yük kaldırıldıktan sonra, örnek yüzeyinde oluşan girinti optik bir mikroskop ile görüntülenerek, köşegen uzunlukları ölçülmektedir. Sertlik miktarı; çizici ucun şekline bağlı olarak oluşan girinti alanı ve uygulanan yük arasındaki orana bağlıdır.⁽²³⁹⁻²⁴³⁾



3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması; Akdeniz Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı kliniğinde yürütülmüştür. Çalışma için gerekli etik kurul onayı, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 101 numaralı kararı ile 06/02/2019 tarihinde alınmıştır (Etik kurul onayı ek-1). Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından TSA-2019-4795 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

In vitro olarak yürütülen çalışma 2 basamakta tamamlanmıştır:

- ✚ Çalışmanın birinci kısmı (ön çalışma–pilot çalışma)
- ✚ Çalışmanın ikinci kısmı (kapsamlı çalışma)

3.1. Çalışmanın Birinci Kısmı (Ön Çalışma–Pilot Çalışma)

3.1.1. Dişlerin Toplanması

Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda fizyolojik ve ortodontik nedenlerle çekilmiş; çürük, restorasyon ve mineralizasyon bozukluğu bulunmayan sağlam süt ve daimi azı dişleri kullanılmıştır.

Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri:

- ✓ Çürük ve/veya restorasyonu olan
- ✓ Travmaya maruz kalan
- ✓ Herhangi bir malformasyonu bulunan ve
- ✓ Mineralizasyon bozukluğu bulunan dişler çalışmaya dahil edilmemiştir.

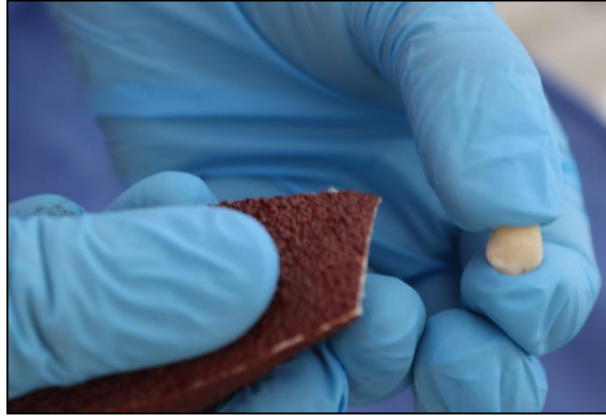
3.1.2. Ön Çalışma için Mine Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmada; süt ve daimi dişlerin kron ve kök kısımları, mine-sement sınırının hemen üzerinden elmas separe (Diamant Instruments, Horico, Berlin-Almanya) ile su soğutması altında birbirinden ayrılmıştır. Dişlerin kron pulpaları ekskavatör yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra, tüm dişler mesiodistal yönde 2 parçaya ayrılmıştır (Şekil 3.1). Mesiodistal yönde kesilerek hazırlanan tüm dişlerin bukkal yüzeyleri; F'den zengin mine dış yüzeyinin uzaklaştırılması, düzgün, pürüzsüz ve parlak bir mine yüzeyi elde etmek için, akan su altında silikon karbid kağıtlar ile zımparalanmıştır (Şekil 3.2). Her diş zımparalama yönünün tersi yönde bir kere daha

zımparalanarak mine yüzeyinde zımpara izi kalmamasına dikkat edilmiştir. Tüm dişler zımparalama işleminden sonra distile su ile yıkanmıştır. Yapışkan kağıt bantlar $5 \times 5 \text{ mm}^2$ 'lik bir alan oluşturacak şekilde kesilip, mine örnekleri üzerine yapıştırılarak çalışma alanı hazırlanmıştır (Şekil 3.3). Çalışma alanının dışında kalan mine yüzeylerine, aside dayanaklı şeffaf tırnak cilası 2 kat olarak uygulanmıştır. Ön çalışmada kullanılmak üzere toplam 44 örneğin yüzey hazırlıkları bu şekilde tamamlanmıştır. Dişler çalışma zamanına kadar %0,1'lik timol solüsyonunda bekletilmiştir.⁽²⁴⁴⁾



Şekil 3.1: Mine örneklerinin mesiodistal olarak 2 parçaya ayrılması



Şekil 3.2: Mine örneklerinin zımparalanması



Şekil 3.3: $5 \times 5 \text{ mm}^2$ 'lik çalışma alanlarına kağıtların yapıştırılması

3.1.3. Peptit Ajanlarının Hazırlanması

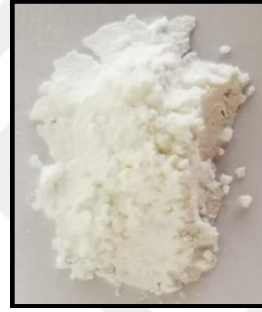
3.1.3.1. Peptit Sentezi

Moleküler biyoloji yöntemi kullanılarak Ca^{+2} 'a afinitesi en yüksek olan amino asit dizilimi belirlenmiştir. Ca^{+2} afinitesi en yüksek 3 farklı amino asit dizilimi ile peptit sentezi gerçekleştirilmiştir (GenScript, A.B.D) (Şekil 3.4-5). Peptit sentezinde Fmoc katı fazda peptit sentezi yöntemi kullanılmıştır.⁽²⁴⁵⁾

Sentezlenen 3 farklı peptit; peptit 1, peptit 2, peptit 3 olarak adlandırılıp sırasıyla P1, P2 ve P3 olarak kodlanmıştır. Firmanın peptitlerle birlikte gönderdiği ürün bilgilendirme kartında, peptitlerin %98,3'ten daha fazla saflık değerine sahip olduğu, asetat oranının %15'ten az olduğu, su oranının %5'ten az olduğu ve ortalama $9\pm0,5$ mg ağırlığında beyaz kristal toz formunda olduğu belirtilmiştir.



Şekil 3.4: Peptitlerin kutudaki görünümü



Şekil 3.5: Peptitlerin toz formundaki görünümü

3.1.3.2. Peptitlerin İçinde Çözüldüğü Jelin Hazırlanması

Kristal toz formda sentezlenen peptitlerin dış yüzeyine uygulanabilmesi zor olduğu için, peptitlerin yapısı bozulmayacak ancak dış yüzeyine rahat uygulanabilecek bir forma dönüştürülmesi gerekmektedir. Kimya bölümü ile yapılan görüşmeler sonucunda, peptitlerin sodyum karboksimetil selüloz içerisinde çözünmesine karar verilmiştir. Dereceli bir mezürde 99 ml distile su ölçülerek, behere aktarılmıştır. 1 gr sodyum karboksimetil selüloz hassas terazide (SHIMADZU ATX 224) tartılarak distile suya katılmıştır (Şekil 3.6). Oluşan karışımın; mekanik karıştırıcıda (Heidolph HEI-TORQUE 100) 400 rpm'de (revolutions per minute, dakikadaki devir sayısı) 4 saat süreyle karıştırılmasıyla jel oluşumu sağlanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.6: Çalışmada kullanılan hassas terazi



Şekil 3.7: Çalışmada kullanılan mekanik karıştırıcı

3.1.3.3. Peptitlerin Jel İçinde Çözünmesi

Hassas terazi (SHİMADZU ATX 224) kullanılarak her bir peptitten (P1, P2 ve P3), mililitresinde (ml) 200 ve 400 μ g (mikrogram) peptit olacak şekilde, peptitler jel içinde çözülmüştür. Peptitlerin hazırlanan jel içinde homojen bir şekilde dağılabilmesi için, peptitler vortekste (ONİLAB MX-S) 10 dk (dakika) süreyle karıştırılmıştır (Şekil 3.8). Daha sonra orbital karıştırıcıda (DLAB SK-0330-PRO) 6 saat süreyle 200 rpm’de karıştırılarak peptitlerin jelin içerisinde tamamen çözünmesi sağlanmıştır (Şekil 3.9).



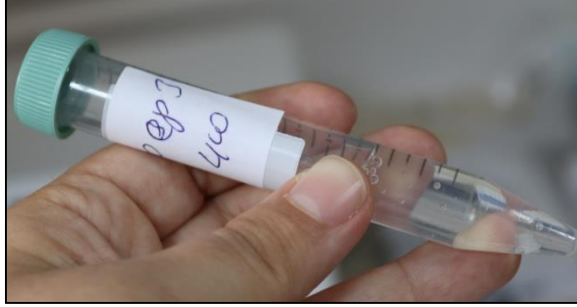
Şekil 3.8: Çalışmada kullanılan vorteks karıştırıcı



Şekil 3.9: Çalışmada kullanılan orbital karıştırıcı

3.1.3.4. Peptitlerin Saklanma Koşulları

Karıştırılarak jel haline getirilen peptitler özel tüplere yerleştirilmiştir (Şekil 3.10). Bilgilendirme kartında soğuk ortamda bulunmaları gerektiği belirtildiği için, peptitler çalışma zamanına kadar ve çalışma aralarında buzdolabında +4°C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.10: Tüplere konulan jel kıvamındaki peptitler

3.1.4. Ön Çalışma için Deney Gruplarının Oluşturulması

Deney grupları:

1. Farklı konsantrasyonlarda peptit uygulanan gruplar,
2. F uygulanan gruplar ve
3. Kontrol gruplarından oluşturulmuştur.

200 ve 400 µg/ml olarak 2 farklı konsantrasyonda hazırlanan 3 farklı peptidin, P1/200 (P1 peptidin 200 µg/ml’lık konsantrasyonu), P1/400 (P1 peptidin 400 µg/ml’lık konsantrasyonu), P2/200 (P2 peptidin 200 µg/ml’lık konsantrasyonu), P2/400 (P2 peptidin 400 µg/ml’lık konsantrasyonu), P3/200 (P3 peptidin 200 µg/ml’lık konsantrasyonu) ve P3/400 (P3 peptidin 400 µg/ml’lık konsantrasyonu) olarak hazırlanan 6 farklı konsantrasyonu süt ve daimi dişlere uygulanmıştır. F uygulaması, süt ve daimi dişler için ayrı ayrı yapılmıştır. Kontrol grubundaki süt ve daimi dişlere herhangi bir ajan uygulanmamıştır. Her bir peptit grubunda 3 mine örneği, F ve kontrol gruplarında 2 mine örneği olmak üzere toplam 44 mine örneği ile çalışılmıştır. Örnekler, gruplara rastgele dağıtılmıştır (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Ön çalışma kapsamında oluşturulan deney grupları

Deney grupları	Deney gruplarının kodları	Süt dişi örnek sayısı	Daimi diş örnek sayısı	Toplam örnek sayısı
Peptit grupları	P1/200	3	3	6
	P1/400	3	3	6
	P2/200	3	3	6
	P2/400	3	3	6
	P3/200	3	3	6
	P3/400	3	3	6
Florür grubu	F	2	2	4
Kontrol grubu	K	2	2	4
Toplam		22	22	44

3.1.5. Ön Çalışma Kapsamında SEM-EDX Analizinin Gerçekleştirilmesi

Çalışmadaki tüm örneklerde sağlıklı mine yüzeylerinde yapay çürük lezyonu oluşturulup, lezyon yüzeylerine rastgele bir biçimde peptit ve F uygulaması yapılmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir ajan uygulanmamıştır.

SEM-EDX analizleri her örnek için 3 farklı zaman diliminde gerçekleştirilmiştir:

1.Başlangıç SEM-EDX analizi

2.Demineralizasyon sonrası SEM-EDX analizi

3.pH siklusu sonrası SEM-EDX analizi

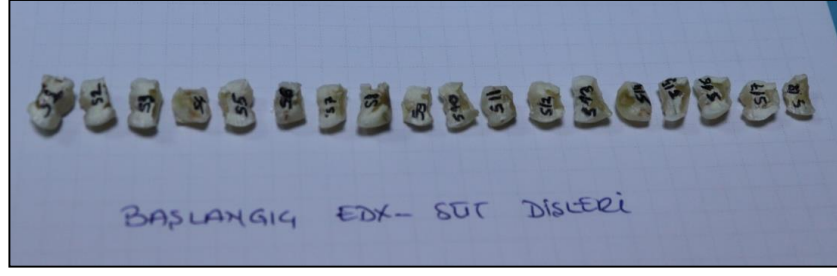
Mine yüzeyinde meydana gelen değişikliklerin değerlendirilebilmesi için; başlangıç SEM görüntüleri ve mine içeriğindeki elementel kompozisyon değişikliklerinin değerlendirilebilmesi için başlangıç EDX değerleri önemlidir.

3.1.5.1 Başlangıç SEM-EDX Analizi

SEM-EDX analizi; Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi'ne bağlı Üniversite-Sanayi-Kamu İşbirliği Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ÜSKİM) bulunan Mikroskobik Analiz Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Kimyasal solüsyonlar, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Anorganik Kimya Laboratuvarı'nda hazırlanmıştır.

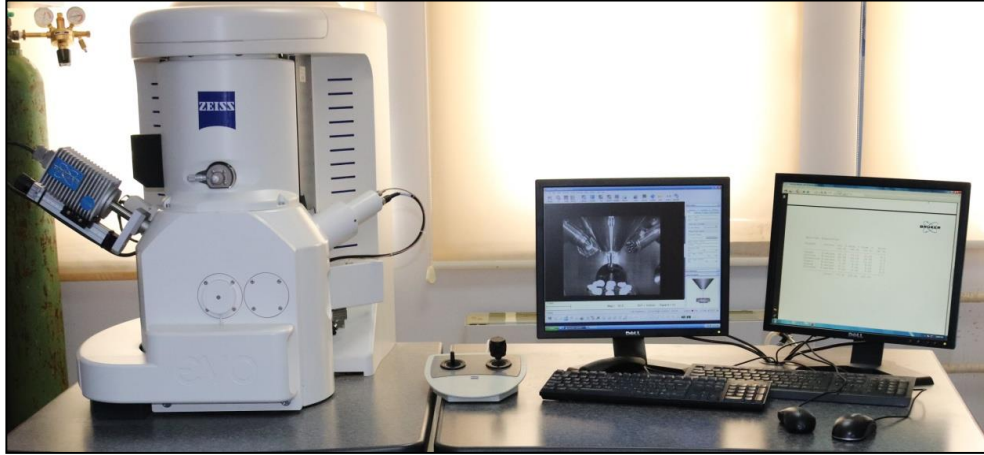
Peptit, F ve kontrol grubundaki 1'den 3'e kadar numaralandırılmış mine örnekleri distile su ile yıkanmıştır. Islak veya nemli örnekleri, SEM cihazının vakumlaması zaman almakta ve bu örnekler cihazın performansını düşürmektedir. Bu nedenle örneklerin kuru olmasına dikkat edilmiştir. Bu amaçla incelenecek mine örnekleri 24

saat önce distile sudan çıkarılmış, 37°C etüvde bekletilerek örneklerin kurumaları sağlanmıştır (Şekil 3.11).



Şekil 3.11: 24 saat kuru ortamda bekletilen süt dişi mine örnekleri

SEM (ZEISS EVO LS 10) ile tüm örneklerin başlangıç görüntüsü elde edilmiştir. SEM cihazına bağlı EDX (BRUKER) dedektörü ile başlangıç elementel kompozisyon analizi yapılmıştır (Şekil 3.12). Analizler; SEM’de SMARTSEM, EDX’de QUANTAX 200 yazılım programı kullanılarak yapılmıştır. SEM’de 150 ve 1500 kat büyütülerek elde edilen görüntüler kaydedilmiş ve bu görüntüler taranarak örneklerin EDX analizleri yapılmıştır. Ca^{+2} , C, Na, P, Mg, O ve Cl elementlerinin minede bulunma yüzdeleri EDX ile hesaplanmıştır. Analiz sonrası tüm mine örnekleri, içlerinde distile su bulunan ve üzerlerinde etiketle belirlenen kendi kaplarına tekrar konulmuştur.



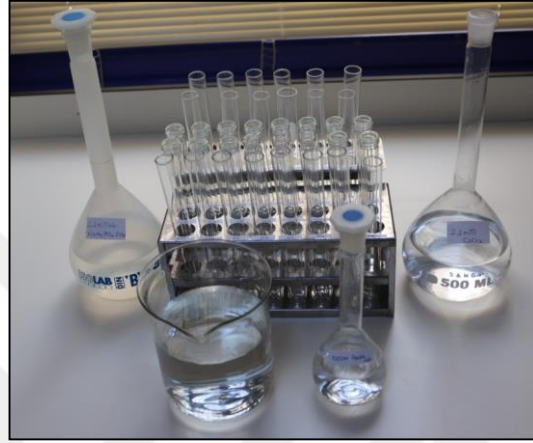
Şekil 3.12: Çalışmada kullanılan SEM-EDX cihazı

3.1.6. Başlangıç SEM-EDX Ölçümleri Yapılan Örneklerde Yapay Mine Lezyonlarının (Demineralizasyon) Oluşturulması

Sağlıklı mine yüzeylerinde yapay çürük oluşturmak için demineralizasyon solüsyonu hazırlanmıştır (Şekil 3.13).

Yapay çürük oluşturmak için hazırlanan demineralizasyon solüsyonu;

- ❖ 2,2 mM CaCl_2 (kalsiyum klorür)
- ❖ 2,2 mM NaH_2PO_4 (mono sodyum fosfat)
- ❖ 0,05 M asetik asit içermektedir. Hazırlanan çözeltinin pH'sı, pH ölçer striplerle ölçülerek, gerektiğinde 1,0 M KOH (potasyum klorür) katılarak pH 4,4'e ayarlanmıştır.⁽²⁴⁶⁾



Şekil 3.13: Yapay çürük oluşturmak için hazırlanan demineralizasyon solüsyonu

Her bir mine örneği için 10 ml olmak üzere 44 örnek için demineralizasyon solüsyonu her seferinde taze olarak hazırlanmıştır. Mine örneklerinin başlangıç SEM görüntüleri alınıp, EDX analizleri yapıldıktan sonra, her bir mine örneği kendi kaplarından çıkarılarak, yapay çürük oluşturmak amacıyla içerisinde 10 ml demineralizasyon solüsyonu bulunan cam tüplere konulmuştur. Cam tüpteki mine örnekleri etüvde 37°C 'de 4 gün boyunca bekletilmiştir (Şekil 3.14). Her 24 saatte bir kez, cam tüpler hafifçe çalkalanarak olası çökelme durumunun önüne geçilmiştir. 48 saat sonunda demineralizasyon solüsyonları değiştirilmiş, mine örnekleri ve cam tüpler distile su ile yıkanmış ve kurulanmıştır. Daha sonra dişlerin üzerine taze hazırlanmış demineralizasyon solüsyonu konulmuştur. Demineralizasyon solüsyonunda toplam 4 gün tutulan mine örnekleri 4. gün sonunda distile su ile yıkandıktan sonra, kanüllü puarla kurutularak demineralizasyon sonrası SEM-EDX analizlerinin yapılması için hazır hale getirilmiştir.



Şekil 3.14: Etüvde bekletilen mine örnekleri

3.1.7. Demineralizasyon Sonrası SEM-EDX Analizi

Demineralizasyon süresini tamamlayan mine örnekleri, demineralizasyon solüsyonundan çıkarılarak distile su ile yıkanıp, kurutulmuştur. SEM-EDX analizinde örneklerin kuru olması gerektiği için incelenecek grup, 24 saat boyunca etüvde (Nüve, Türkiye) bekletilmiştir. Başlangıç ölçümlerinde olduğu gibi, tüm örneklerin demineralizasyon sonrası 150 ve 1500 kat büyütmede SEM görüntüleri alınarak EDX analizleri yapılmıştır.

3.1.8. pH Siklusunda Kullanılan Demineralizasyon-Remineralizasyon Solüsyonlarının Hazırlanması

Ağız ortamında demineralizasyon ve remineralizasyon sürekli bir döngü halinde devam etmektedir. İn vitro çalışmalar, ağız ortamını taklit ettiği için oluşturulan yapay çürüklerin in vitro ortamda pH siklusu ile remineralize edilmesi amaçlanmıştır. pH siklusunda kullanılan demineralizasyon/remineralizasyon solüsyonu;

Demineralizasyon solüsyonu;

- ❖ 2,0 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (kalsiyum nitrat tetra hidrat)
- ❖ 2,0 mmol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (sodyum dihidrojen fosfat)
- ❖ 0,75 mM asetat tamponu
- ❖ 0,04 ppm F içermektedir. Hazırlanan çözeltinin pH'sı, pH ölçer striplerle ölçülerek, gerektiğinde 1,0 M KOH katılarak pH 4,7'ye ayarlanmıştır.⁽²⁴⁷⁾

Remineralizasyon solüsyonu;

- ❖ 1,5 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

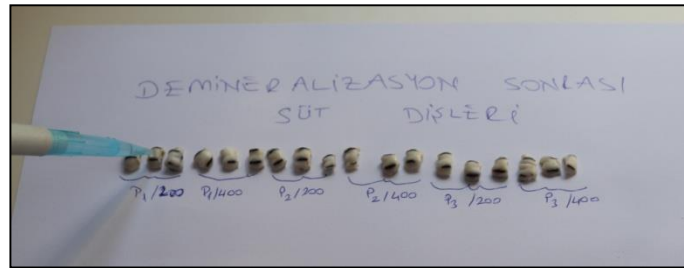
- ❖ 0,9 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,
- ❖ 150 mmol/L KCl
- ❖ 0,02 mol/L Tris tamponu
- ❖ 0,05 ppm F içermektedir. Hazırlanan çözeltinin pH'sı, pH ölçer striplerle ölçülerek, gerektiğinde 1,0 M KOH katılarak pH 7'ye ayarlanmıştır (Şekil 3.15).⁽²⁴⁷⁾



Şekil 3.15: pH siklüsü için hazırlanan demineralizasyon-remineralizasyon solüsyonları

3.1.9. Demineralize Mine Yüzeylerine Peptit Uygulanması

Peptit ajanları buzdolabından çıkarıldıktan sonra, mine yüzeylerine uygulanmadan önce olası bir çökelme durumuna karşı yavaşça çalkalanmıştır. Hazırlanan peptit ajanları peptit gruplarındaki demineralize mine yüzeylerine otomatik mikropipet yardımıyla uygulanmıştır (Şekil 3.16). Peptitlerin yüzey altına penetre olabilmeleri için, aplikatör aracılığıyla 4 dk boyunca dış yüzeyine uygulanmıştır (Şekil 3.17).



Şekil 3.16: Otomatik mikropipet yardımıyla örneklerin yüzeyine peptitlerin uygulanması



Şekil 3.17: 5x5 mm²'lik çalışma alanlarına peptit ajanlarının uygulanması

Peptit uygulanan örnekler, 24 saat boyunca nemli ortamda kalmaları gerektiği için desikatöre konulmuştur (Şekil 3.18-19). Mine örnekleri desikatöre konulduktan sonra, desikatöre beher içerisinde kaynamış su konulmuştur. Mine örneklerinin bu şekilde nemli bir ortamda kalmaları sağlanmıştır. Desikatörden çıkarılan örnekler, distile su altında yıkanıp kurutulmuştur. pH siklusu için hazırlanan demineralizasyon solüsyonu, cam tüplerdeki örneklerin üzerine 10'ar ml konulmuştur. Üç saat demineralizasyon solüsyonunda bekletilen örnekler, demineralizasyon solüsyonundan çıkarılarak distile su ile yıkanıp kurulanmıştır. Daha sonra örneklerin üzerine pH siklusu için hazırlanan remineralizasyon solüsyonu (her mine örneği için 10 ml) konulmuştur. Örnekler, 21 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonları her 2 günde bir kez taze olarak hazırlanıp değiştirilmiştir. pH siklusu sırasında örnekler 5 gün boyunca 3 saat demineralizasyon, 21 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. 2 gün boyunca sadece remineralizasyon solüsyonunda bekletilerek toplam 7 günde pH siklusu tamamlanmıştır.



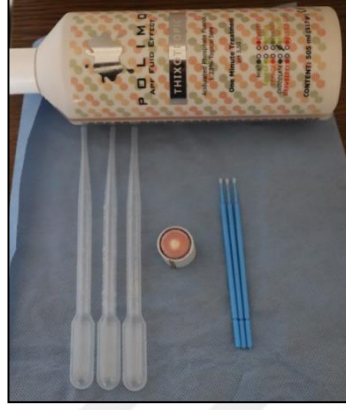
Şekil 3.18: Çalışmada kullanılan desikatör



Şekil 3.19: Desikatöre konulan mine örnekleri

3.1.10. Demineralize Mine Yüzeylerine F Uygulanması

Demineralizasyon süresi tamamlandıktan sonra, F grubundaki örnekler F ajanı (Imicryl, Poliomo, %1,23 Asidüle Fosfat Florür) aplikatörle 4 dk boyunca uygulanmıştır (Şekil 3.20).



Şekil 3.20: Çalışmada kullanılan F ajanı, plastik pipet, aplikatör ve mine örneği

3.1.11. pH Siklusu Sonrası SEM-EDX Analizi

pH siklusu tamamlanan mine örnekleri, distile su ile yıkanıp kurutulmuştur. Başlangıç ve demineralizasyon sonrası ölçümlerde olduğu gibi tüm örneklerin pH siklusu sonrası 150 ve 1500 kat büyütmede SEM görüntüleri alınarak EDX analizleri yapılmıştır.

3.2. Çalışmanın İkinci Kısım (Kapsamlı Çalışma)

Ön çalışmada etkinliği daha iyi bulunan P2 ve P3 peptitleri ile çalışmaya devam edilmiştir.

3.2.1. Kapsamlı Çalışma İçin Diş Sayılarının Belirlenmesi ve Deney Gruplarının Oluşturulması

3.2.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen Diş Sayılarının Belirlenmesi

Çalışmaya başlamadan önce, örneklem büyüklüğünü belirlemek amacıyla güç analizi yapılmıştır. 0,43 etki büyüklüğü, 0,05 hata payı ve 0,80 güç ile örneklem sayısı her grup için maksimum 22 olarak bulunmuştur. 0,05 hata payı ve 0,95 güç ile örneklem sayısı her grup için en az 3 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde her

grupta en az 10, en çok 22 diş bulundurmanın uygun olacağı tespit edilmiştir. Çalışmada her grupta 18 diş (n=18) olmasına karar verilmiştir.

3.2.1.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deney grupları:

1. Farklı konsantrasyonlarda peptit uygulanan gruplar,
2. F uygulanan gruplar ve
3. Kontrol gruplarından oluşturulmuştur.

İki farklı peptit grubu (P2 ve P3), konsantrasyonu 800 µg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır (P2/800: P2 peptidin 800 µg/ml’lık konsantrasyonu ve P3/800: P3 peptidin 800 µg/ml’lık konsantrasyonu). Ön çalışmaya benzer şekilde, F ve kontrol grupları da oluşturulmuştur. Süt ve daimi diş mine örnekleri oluşturulan gruplara rastgele dağıtılarak, deneyler gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2: Kapsamlı çalışmada oluşturulan SEM-EDX deney grupları

Deney grupları	Deney gruplarının kodları	Süt dişi örnek sayısı	Daimi dişi örnek sayısı	Toplam örnek sayısı
Peptit grupları	P2	18	18	36
	P3	18	18	36
Florür grubu	F	18	18	36
Kontrol grubu	K	18	18	36
Toplam		72	72	144

SEM-EDX Grupları:

1. P2/S : P2 peptit ajanı uygulanan süt dişi grubu
2. P2/D: P2 peptit ajanı uygulanan daimi dişi grubu
3. P3/S: P3 peptit ajanı uygulanan süt dişi grubu
4. P3/D: P3 peptit ajanı uygulanan daimi dişi grubu
5. F/S: Florür uygulanan süt dişi grubu
6. F/D: Florür uygulanan daimi dişi grubu
7. K/S: Süt dişi kontrol grubu
8. K/D: Daimi dişi kontrol grubu

(P2: Peptit 2, P3: Peptit 3, F: Florür, K: Kontrol, D: Daimi dişi, S: Süt dişi)

Tüm gruplarda 18 mine örneği olmak üzere toplam 144 örnek ile SEM-EDX analizi gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Kapsamlı Çalışma için Dişlerin Hazırlanması

Kapsamlı çalışmadaki dişler, ön çalışmada belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

3.2.3. Kapsamlı Çalışmadaki Dişlerin SEM-EDX Analizi

Tüm örneklerin başlangıç, demineralizasyon sonrası ve pH siklusu sonrası SEM görüntüleri alınmış ve EDX analizleri yapılmıştır. Dişlerin SEM-EDX analizi ön çalışmada yapıldığı gibi 3 aşamada (başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası) gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Kapsamlı Çalışmadaki Dişlerin Vickers Mikrosertlik Test Ölçümleri

3.2.4.1. Vickers Mikrosertlik Testi için Örneklerin Hazırlanması

Vickers mikrosertlik testinde kullanılacak örnekler, SEM-EDX analizi için hazırlanan örneklere benzer şekilde hazırlanmıştır.

Bukkal yüzeyleri zımparalan örnekler; özel olarak hazırlanmış kalıplar içerisine, kesim yüzeyleri alt tarafta olacak ve bukkal yüzeyleri açıkta kalacak biçimde, yere paralel olarak akrilik rezin (Meliodent, Birleşik Krallık) kullanılarak sabitlenmiştir (Şekil 3.21).



Şekil 3.21: Akrilik rezinlere sabitlenen mine örnekleri

Hazırlanan örneklerin cihazda yere paralel olmaması durumunda, cihaz tarafından diş yüzeyine uygulanan kuvvet diş yüzeyine eşit ve dengeli bir şekilde iletilememektedir. Bu sebeple örneklerin düz ve yere paralel olmasına dikkat edilmiştir. Her örnek için özel plastik kaplar temin edilmiştir. 1'den 18'e kadar diş numarası ve hangi gruba ait olduğu yazılı olan etiket, plastik kapların üzerine yapıştırılmıştır (Şekil 3.22). Dişler çalışma zamanına kadar %0,1'lik timol solüsyonunda bekletilmiştir.⁽²⁴⁴⁾



Şekil 3.22: Hazırlanan mine örnekleri kendi özel kaplarına yerleştirilmiştir.

3.2.4.2. Vickers Mikrosertlik Test Gruplarının Oluşturulması:

Deney grupları:

1. Farklı konsantrasyonlarda peptit uygulanan gruplar,
2. Peptit karışımı uygulanan gruplar,
3. F uygulanan gruplar ve
4. Kontrol gruplarından oluşturulmuştur.

İki farklı peptit grubu (P2 ve P3) ve eşit miktarda P2 ve P3 peptitlerinden oluşan karışım konsantrasyonu 800 µg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır (P2/800: P2 peptidin 800 µg/ml’lık konsantrasyonu, P3/800: P3 peptidin 800 µg/ml’lık konsantrasyonu ve P2+P3/800: P2+P3 peptitin 800 µg/ml’lık konsantrasyonu). SEM-EDX analizi için oluşturulan gruplara benzer şekilde, F ve kontrol grupları da oluşturulmuştur. Süt ve daimi diş mine örnekleri oluşturulan gruplara rastgele dağıtılarak, deneyler gerçekleştirilmiştir (Tablo-3.3).

Tablo 3.3: Kapsamlı çalışmada oluşturulan Vickers mikrosertlik testi deney grupları

Deney grupları	Deney gruplarının kodları	Süt dişi örnek sayısı	Daimi diş örnek sayısı	Toplam örnek sayısı
Peptit grupları	P2	18	18	36
	P3	18	18	36
	P2+P3	18	18	36
Florür grubu	F	18	18	36
Kontrol grubu	K	18	18	36
Toplam		90	90	180

Vickers Mikrosertlik Testi Grupları:

1. P2/S : P2 peptit ajanı uygulanan süt dişi grubu
2. P2/D: P2 peptit ajanı uygulanan daimi diş grubu
3. P3/S: P3 peptit ajanı uygulanan süt dişi grubu
4. P3/D: P3 peptit ajanı uygulanan daimi diş grubu
5. P2+P3/S : P2 ve P3 peptit ajanlarının karışımının uygulandığı süt dişi grubu
6. P2+P3/D : P2 ve P3 peptit ajanlarının karışımının uygulandığı daimi diş grubu
7. F/S: Florür uygulanan süt dişi grubu
8. F/D: : Florür uygulanan daimi diş grubu
9. K/S: Süt dişi kontrol grubu
10. K/D: Daimi diş kontrol grubu

(P2: Peptit 2, P3: Peptit 3, P2+P3: P2 ve P3 peptitleri karıştırılarak hazırlanan peptit, F: Florür, K: Kontrol, D: Daimi diş, S: Süt dişi)

Toplam 180 örnek; her grupta 18 mine örneği olacak şekilde, gruplara rastgele dağıtılarak Vickers mikrosertlik testi gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.3. Başlangıç Vickers Mikrosertlik Test Ölçümlerinin Yapılması

Vickers mikrosertlik testi; Afyon Kocatepe Üniversitesi'ne bağlı Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (TUAM) bulunan Mikrosertlik Ölçüm Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Yüzey mikrosertlik ölçümleri; HMV-2L ASSY model, (Shimadzu şirketi, Japonya) mikrosertlik cihazı kullanılarak, her örnek yüzeyine 15 sn süre ile 300 gr kuvvet uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.23-24). Ölçümler, birbirinden 100 µm uzaklıkta seçilen 5 farklı bölgede yapılmış ve ölçümlerin ortalamaları hesaplanmıştır. Yüzey mikrosertlik ölçümleri; çalışmanın başlangıcında, örnekler 4 gün demineralizasyon solüsyonunda bekletildikten sonra ve örnekler pH siklusu ile deney materyalleri uygulandıktan sonra olmak üzere, 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. Yüz seksen mine örneğine, her seferinde 5 ölçüm, 3 aşamada tekrarlanarak toplam 2700 ölçüm yapılmıştır. Elmas ucun diş yüzeyinde meydana getirdiği girintinin iz düşümü, mikrosertlik cihazına bağlı bilgisayar ekranında görüntülenmektedir. Oluşan görüntünün köşegen uzunlukları; bilgisayar aracılığıyla hesaplanarak, örneklerin sertlik değeri Vickers cinsinden elde edilmiştir (Şekil 3.25). Oluşan görüntünün, dörtgen tercihen eşkenar dörtgen şeklinde olması istenir. Oluşan iz düşümün kenar uzunlukları kısa ve birbirine ne kadar yakın ise;

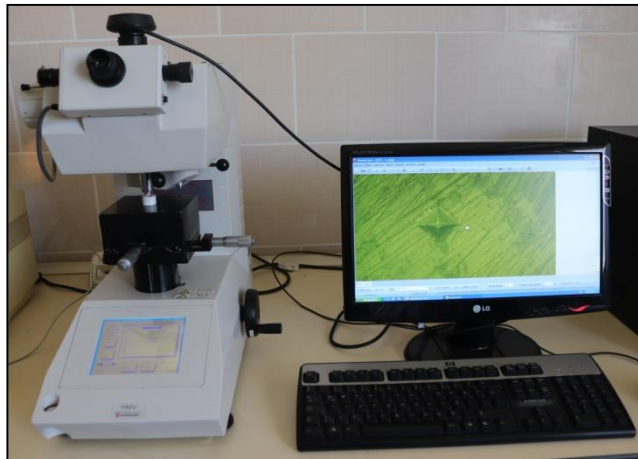
dişin sertliğinin o kadar yüksek olduğu söylenebilir. Ölçüm yapılan yerden bir daha ölçüm yapılmamasına dikkat edilmiştir.



Şekil 3.23: Çalışmada kullanılan mikrosertlik ölçüm cihazı



Şekil 3.24: Örneklerin mikrosertlik cihazında incelenmesi



Şekil 3.25: Mikrosertlik cihazındaki örneğin bilgisayar ekranında oluşan görüntüsü

3.2.4.4. Başlangıç Vickers Mikrosertlik Test Ölçümleri Yapılan Örneklerde Yapay Mine Lezyonlarının Oluşturulması

SEM-EDX analizinde mine yüzeyinde yapay çürük oluşturmak için hazırlanan demineralizasyon solüsyonu, Vickers mikrosertlik test grupları için de hazırlanmıştır. Dişler SEM-EDX analizinde olduğu gibi 4 gün boyunca demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Her 2 günde bir kez solüsyonlar taze olarak hazırlanmıştır.

3.2.4.5. Demineralizasyon Sonrası Vickers Mikrosertlik Test Ölçümleri

Vickers mikrosertlik testi için; demineralizasyon süresi tamamlanan mine örnekleri distile su ile yıkandıktan sonra, cihazın başlangıç ölçümlerindeki ayarları (her bir örnek yüzeyine 15 sn boyunca 300 gr) kullanılarak, demineralizasyon sonrası ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.6. pH Siklusunda Kullanılan Demineralizasyon-Remineralizasyon Solüsyonlarının Hazırlanması

pH siklusunda kullanılan demineralizasyon/remineralizasyon solüsyonu, SEM-EDX analiz ölçümlerinde hazırlandığı şekilde hazırlanmıştır.

3.2.4.7. Demineralize Mine Yüzeyine Peptit Uygulaması

Demineralize mine yüzeylerine, SEM-EDX analizlerinde olduğu gibi peptit uygulaması yapılmıştır.

3.2.4.8. Demineralize Mine Yüzeylerine F Uygulanması

Demineralize mine yüzeylerine, SEM-EDX analizlerinde olduğu gibi F jeli uygulaması yapılmıştır.

3.2.4.9. pH Siklusu Sonrası Vickers Mikrosertlik Test Ölçümleri

Vickers mikrosertlik testi için; pH siklusu tamamlanan mine örnekleri distile su ile yıkandıktan sonra, cihazın başlangıç ölçümlerindeki ayarları (her bir örnek yüzeyine 15 sn boyunca 300 gr) kullanılarak, pH siklusu sonrası ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.3. Sonuçların İstatistiksel Analizi

Elde edilen veriler SPSS paket programına (SPSS 18.00 for Windows, Chicago, IL, ABD) girilerek, tanımlayıcı istatistikler (minimum, maksimum, ortalama, standart

sapma vb.), güvenirlik analizi (ICC “Intra-class correlation coefficient” istatistiği) ve karşılaştırma testleri gerçekleştirilmiştir.

Nicel (kantitatif) verilerin karşılaştırmasında, parametrik koşulların sağlanması durumunda “Student T” testi, grupların tekrarlayan ölçümlerinde tek yönlü varyans analizi ve alt grup karşılaştırmalarında ise Tukey HSD oklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

Parametrik koşulların sağlanamadığı durumlarda, nitel (kalitatif) verilerin incelenmesinde ve grupların karşılaştırılmasında, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U, Friedman, Wilcoxon ve ki kare (χ^2) testleri kullanılmıştır.

Sonuçlar %95’lik güven aralığında, $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.



4.BULGULAR

Çalışmamızda; süt ve daimi azı dişleri üzerinde oluşturulan yapay mine lezyonlarına, sentezlenen farklı peptit ajanları ve F jeli uygulanmış; bu ajanların pH siklusu sonrası oluşturduğu etkiler, SEM-EDX analizi ve Vickers mikrosertlik testi ile değerlendirilmiştir.

4.1. Ön Çalışmaya ait SEM Görüntüleri ve EDX Bulguları:

Ön çalışma, toplam 44 adet mine örneği (22 süt ve 22 daimi mine örneği) ile gerçekleştirilmiştir.

4.1.1. Ön Çalışma Sonuçlarına ait EDX Bulgularının Değerlendirilmesi:

4.1.1.1. Peptit Grupları Arasında EDX Bulgularının Değerlendirilmesi

- ✚ P1 peptidin daimi diş mine örneklerinde Ca^{+2} miktarında artışa neden olmadığı; süt diş mine örneklerinde ise, P1/200 peptidin Ca^{+2} miktarında %2,58'lik artışa, P1/400 peptidin Ca^{+2} miktarında %15,835'lik artışa neden olduğu görülmüştür.
- ✚ P1/200 peptidin daimi diş mine örneklerinde P miktarında %2,58'lik artışa, P1/400 peptidin daimi diş mine örneklerinde P miktarında %4,57'lik artışa neden olduğu görülmüştür.
- ✚ P1/200 peptidin süt diş mine örneklerinde P miktarında artışa neden olmadığı, P1/400 peptidin süt diş mine örneklerinde P miktarında %15,395'lik artışa neden olduğu görülmüştür.
- ✚ P2/200 peptidin süt ve daimi diş mine örneklerinde Ca^{+2} miktarında artışına neden olmadığı görülmüştür.
- ✚ P2/200 peptit, daimi diş mine örneklerinde P miktarında artışa neden olmazken, süt diş mine örneklerinde P miktarında %2,69'luk artışa neden olduğu görülmüştür.
- ✚ P2/400 peptit, daimi diş mine örneklerinde Ca^{+2} miktarında %4,78'lik artışa neden olurken, süt diş mine örneklerinde %42,73'lük artışa neden olmuştur.
- ✚ P2/400 peptit, daimi diş mine örneklerinde P miktarında artışa neden olmazken, süt diş mine örneklerinde %28,88'lik artışa neden olmuştur.
- ✚ P3/200 peptit, daimi diş mine örneklerinde Ca^{+2} miktarında %23,34'lük artışa, süt diş mine örneklerinde %3,82'lik artışa neden olmuştur.

- ✚ P3/200 peptit, daimi diş mine örneklerinde P miktarında %24,53'lük artışa, süt diş mine örneklerinde %3,96'lık artışa neden olmuştur.
- ✚ P3/400 peptit, daimi diş mine örneklerinde Ca^{+2} miktarında %23,49'luk artışa neden olurken, süt diş mine örneklerinde artışa neden olmadığı görülmüştür.
- ✚ P3/400 peptit, daimi diş mine örneklerinde P miktarında %20,80'lik artışa neden olurken, süt diş mine örneklerinde artışa neden olmadığı görülmüştür.
- ❖ Süt diş mine örneklerinde en yüksek Ca^{+2} artışına neden olan grup %42,73'lük artışla P2-400'dür.
- ❖ Süt diş mine örneklerinde en yüksek P artışına neden olan grup %28,88'lik artışla P2-400'tür.
- ❖ Daimi diş mine örneklerinde en yüksek Ca^{+2} artışına neden olan grup %23,49'luk artışla P3-400 olup, P3-200'de %23,34'lük bir artış oranıyla benzer bir sonuç sergilemiştir.
- ❖ Daimi diş mine örneklerinde en yüksek P artışına neden olan grup %24,53'lük artışla P3-200 olup, P3-400'de %20,80'lik bir artış oranıyla benzer bir sonuç sergilemiştir (Şekil 4.1-2).

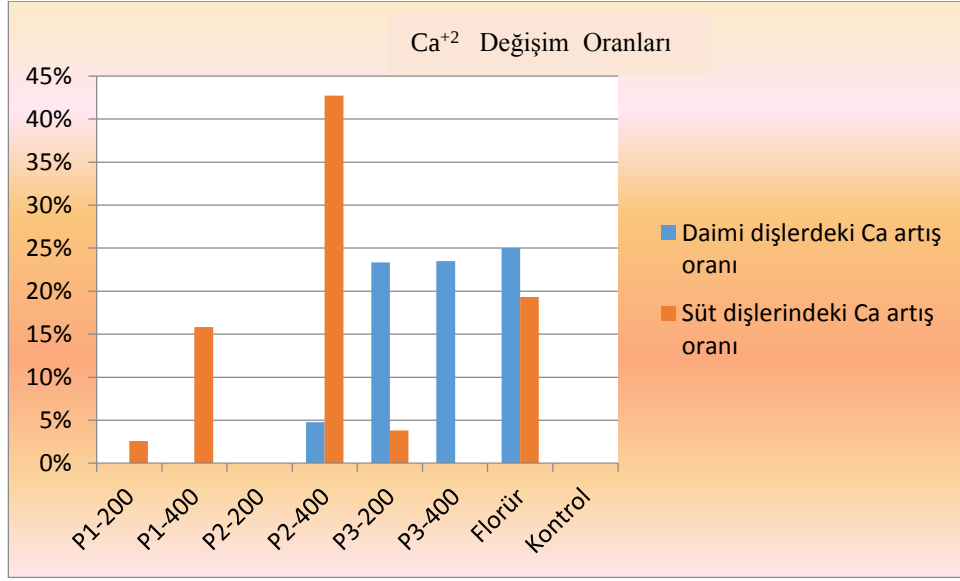
4.1.1.2. F Grupları Arasında EDX Bulgularının Değerlendirilmesi

- ✚ Daimi diş mine örneklerinde Ca^{+2} artışı %25,02
- ✚ Süt diş mine örneklerinde Ca^{+2} artışı %19,32
- ✚ Daimi diş mine örneklerinde P artışı %25,36
- ✚ Süt diş mine örneklerinde P artışı %15,31 olarak bulunmuştur (Şekil 4.1-2).

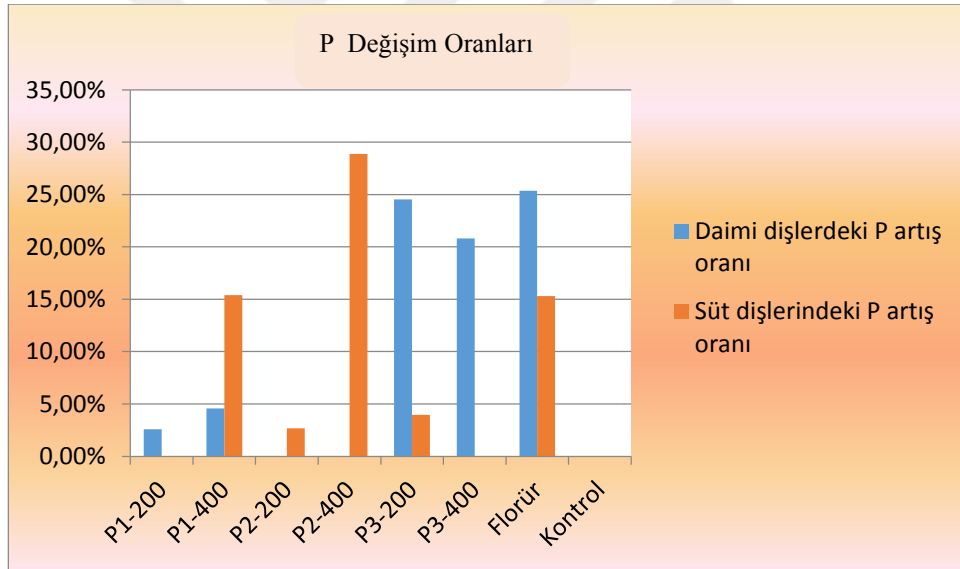
4.1.1.3. Kontrol Grupları Arasında EDX Bulgularının Değerlendirilmesi

- ❖ Süt ve daimi kontrol gruplarında Ca^{+2} ve P artışı meydana gelmemiştir (Şekil 4.1-2).

Tüm bu değerlendirmeler ışığında Ca^{+2} afinitesi daha iyi bulunan P2 ve P3 peptitlerinin daha yüksek konsantrasyonları hazırlanarak kapsamlı çalışma ile çalışmamıza devam edilmiştir.



Şekil 4.1: Ön çalışma sonuçlarına göre süt ve daimi diş mine örneklerinde Ca^{+2} değişim oranları

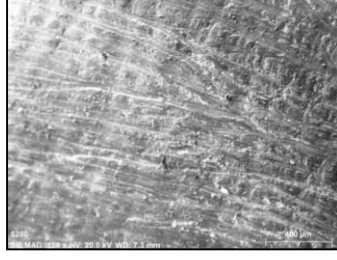


Şekil 4.2: Ön çalışma sonuçlarına göre süt ve daimi diş mine örneklerinde P değişim oranları

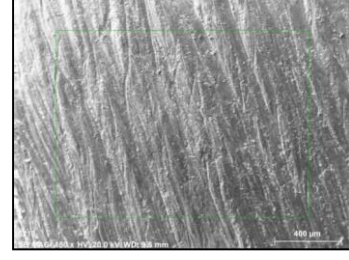
4.1.2. Ön Çalışmaya ait SEM Görüntüleri

Örneklerin SEM görüntüleri 150 ve 1500 kat büyütmede alınmıştır.

1) Başlangıç SEM görüntüleri şekil 4.3a ve şekil 4.3b’de gösterilmiştir.

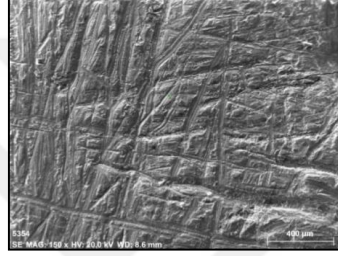


Şekil 4.3a: Daimi diş mine örneğine ait başlangıç SEM görüntüsü

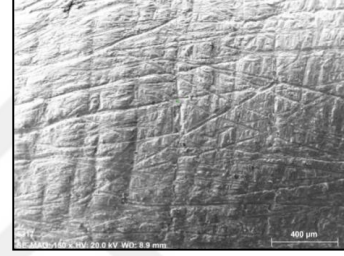


Şekil 4.3b: Süt dişi mine örneğine ait başlangıç SEM görüntüsü

2) Demineralizasyon sonrası SEM görüntüleri şekil 4.4a ve şekil 4.4b’de gösterilmiştir.

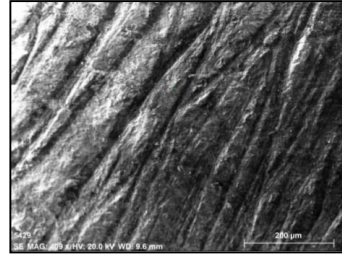


Şekil 4.4a: Daimi diş mine örneğine ait demineralizasyon sonrası SEM görüntüsü

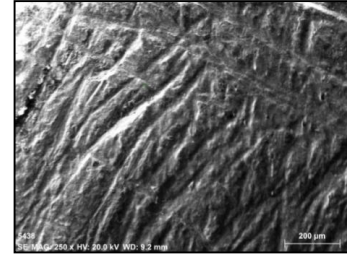


Şekil 4.4b: Süt dişi mine örneğine ait demineralizasyon sonrası SEM görüntüsü

3) pH siklüsü sonrası SEM görüntüleri şekil 4.5a ve şekil 4.5b’de gösterilmiştir.



Şekil 4.5a: Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü



Şekil 4.5b: Süt dişi mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü

4.2. Kapsamlı Çalışmaya ait SEM Görüntüleri ve EDX Bulguları:

4.2.1. Kapsamlı Çalışmaya ait EDX Bulguları:

Ca⁺² için EDX bulguları:

✓ P3 Ca⁺² Süt Dişi Grubu

P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış, kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artıştan fazladır, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile, P2 ve F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile, P3 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile; P2, F ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

✓ P3 Ca⁺² Daimi Diş Grubu

P3 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile; P2, F ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile; P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile; F ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış, P3 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artıştan fazladır, ancak aradaki fark anlamlı değildir.

✓ P2 Ca⁺² Süt Dişi Grubu

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış, F uygulanan süt ve daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artıştan fazladır, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile, P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış; P3 grubundaki daimi dişlerden fazladır, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış, kontrol grubundaki süt ve daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artıştan istatistiksel olarak fazladır (sırasıyla; p:0,001 ve p:0,006).

✓ P2 Ca⁺² Daimi Diş Grubu

P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış, kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artıştan fazladır (p: 0,038).

P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile, P3 ve F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile, P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış ile, P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki artış, F ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerindeki

artıştan fazladır. F grubuyla istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla birlikte, kontrol grubu ile aradaki fark anlamlıdır ($p \leq 0,05$).

✓ **Florür Ca^{+2} Süt Dişi Grubu**

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerindeki artış, F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artıştan fazladır, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerindeki artış ile P3 ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış ile F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış ile; P3 ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış, F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artıştan fazladır, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

✓ **Florür Ca^{+2} Daimi Diş Grubu**

F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerindeki artış ile; P3, P2 ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış ile; F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış ile; P3 ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış, F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artıştan fazladır, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

✓ **Kontrol Ca^{+2} Süt Dişi Grubu**

P2 grubundaki süt ve daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerindeki artış ile kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır (sırasıyla; p: 0,001 ve p: 0,005).

F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış, kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artıştan fazladır, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış ile, kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 ve F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış, kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artıştan fazladır, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

✓ **Kontrol Ca^{+2} Daimi Diş Grubu**

P2 grubundaki süt ve daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış ile, kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır (sırasıyla; p: 0,006 ve p: 0,038).

P3 ve F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış, kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artıştan fazladır, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış ile, kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 ve F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artış, kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerindeki artıştan fazladır, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P için EDX bulguları:

➤ P3 P Süt Dişı Grubu

P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile; P2, F ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, P3 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile; P3, P2, F ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

➤ P3 P Daimi Diş Grubu

P3 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile; P2, F ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, P3 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P3 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile; P2, F ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

➤ P2 P Süt Dişı Grubu

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile; P3, F ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, P2 daimi grubundaki dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile; P3, F ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

➤ **P2 P Daimi Diş Grubu**

P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile P3, F ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, P2 grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

P2 grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, P3, F ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

➤ **Florür P Süt Dişi Grubu**

F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerindeki artış ile P3, P2 ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, P3, P2 ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

➤ **Florür P Daimi Diş Grubu**

F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerindeki artış ile, P3, P2 ve kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, P3, P2 ve kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

➤ **Kontrol P Süt Dişi Grubu**

Kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile P3, P2 ve F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyonları sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, P3, P2 ve F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

➤ **Kontrol P Daimi Diş Grubu**

Kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile P3, P2 ve F grubundaki daimi dişlerin remineralizasyonları sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, kontrol grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kontrol grubundaki daimi dişlerin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış ile, P3, P2, kontrol ve F grubundaki süt dişlerinin remineralizasyon sonrası P değerlerindeki artış arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kapsamlı çalışmaya ait EDX bulgularının p değerleri tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: EDX analiz sonuçlarının p değerleri tablosu

Gruplar	P3CaSüt	P3CaDaimi	P3PSüt	P3PDaimi	P2CaSüt	P2CaDaimi	P2PSüt	P2PDaimi	FlorürCaSüt	FlorürCaDaimi	FlorürPSüt	FlorürPDaimi	KontCaSüt	KontCaDaimi	KontPSüt	KontPDaimi
P3CaSüt		1	0,00	0,00	0,906	0,996	0,00	0,00	0,998	1	0,00	0,00	0,272	0,666	0,00	0,00
P3CaDaimi	1		0,00	0,00	0,313	0,688	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	0,877	0,994	0,00	0,00
P3PSüt	0,00	0,00		1	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	1
P3PDaimi	0,00	0,00	1		0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	1
P2CaSüt	0,906	0,313	0,00	0,00		1	0,00	0,00	0,165	0,367	0,00	0,00	0,001	0,006	0,00	0,00
P2CaDaimi	0,996	0,688	0,00	0,00	1		0,00	0,00	0,472	0,745	0,00	0,00	0,005	0,038	0,00	0,00
P2PSüt	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00		1	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	0,996
P2PDaimi	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1		0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	1
FlorürCaSüt	0,998	1	0,00	0,00	0,165	0,472	0,00	0,00		1	0,00	0,00	0,967	1	0,00	0,00
FlorürCaDaimi	1	1	0,00	0,00	0,367	0,745	0,00	0,00	1		0,00	0,00	0,836	0,99	0,00	0,00
FlorürPSüt	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00		1	0,00	0,00	1	1
FlorürPDaimi	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1		0,00	0,00	1	1
KontCaSüt	0,272	0,877	0,00	0,00	0,001	0,005	0,00	0,00	0,967	0,836	0,00	0,00		1	0,00	0,00
KontCaDaimi	0,666	0,994	0,00	0,00	0,006	0,038	0,00	0,00	1	0,99	0,00	0,00	1		0,00	0,00
KontPSüt	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00		1
KontPDaimi	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	0,996	1	0,00	0,00	1	1	0,00	0,00	1	

Remineralizasyon sonrası Ca/P Oranları:

Ca ve P değerleri Ca/P oranına dönüştürüldüğünde;

- ✚ P2 süt dişi grubundaki Ca/P oranı 2,11 iken, P2 daimi diş grubundaki Ca/P oranı 2,157 olarak hesaplanmıştır.
- ✚ P3 süt dişi grubundaki Ca/P oranı 1,99 iken, P3 daimi diş grubundaki Ca/P oranı 2,036 olarak hesaplanmıştır.
- ✚ F süt dişi grubundaki Ca/P oranları 1,91 iken, F daimi diş grubundaki Ca/P oranları 1,988 olarak hesaplanmıştır.
- ✚ Kontrol süt dişi grubundaki Ca/P oranları 1,845 iken, kontrol daimi diş grubundaki Ca/P oranları 1,962 olarak hesaplanmıştır.
- ✚ P2, P3, F ve kontrol gruplarındaki daimi dişlerin Ca/P oranları, süt dişlerinin Ca/P oranlarından daha yüksek bulunmuştur.

Demineralize süt ve daimi dişlerin remineralizasyondan sonra Ca/P oranında artış yüzdesi tablo 4.2 ve 4.3’te gösterilmiştir. Tüm süt ve daimi diş grupları için deney sonuçlarına ait ortalama Ca^{+2} ve P değerleri tablosu tablo 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.2: Demineralize daimi dişlerin remineralizasyondan sonra Ca/P oranında artış yüzdesi

Gruplar	Demineralize daimi dişlerde remineralizasyondan sonra Ca/P oranında artış yüzdesi
P3 Daimi Diş Grubu	22,60%
P2 Daimi Diş Grubu	20,10%
F Daimi Diş Grubu	15,70%
Kontrol Daimi Diş Grubu	8,20%

Tablo 4.3: Demineralize süt dişlerinin remineralizasyondan sonra Ca/P oranında artış yüzdesi

Gruplar	Demineralize süt dişlerinde remineralizasyondan sonra Ca/P oranında artış yüzdesi
P3 Süt Dişi Grubu	1,50 %
P2 Süt Dişi Grubu	19,80 %
F Süt Dişi Grubu	2,60 %
Kontrol Süt Dişi Grubu	0

Tablo 4.4: Tüm daimi diş grupları için deney sonuçlarının ortalama Ca^{+2} değerleri

Gruplar	Başlangıç Ca^{+2} değeri	Demineralizasyon sonrası Ca^{+2} değeri	Remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değeri
P3 Daimi Diş Grubu	20,39±4,51	16,10±3,23	21,35±4,83
P2 Daimi Diş Grubu	21,76±2,45	18,87±1,34	23,88±5,01
F Daimi Diş Grubu	22,68±6,44	16,42±3,58	21,44±4,30
Kontrol Daimi Diş Grubu	25,46±5,09	19,91±3,97	19,82±3,90

Tablo 4.5: Tüm süt diş grupları için deney sonuçlarının ortalama Ca^{+2} değerleri

Gruplar	Başlangıç Ca^{+2} değeri	Demineralizasyon sonrası Ca^{+2} değeri	Remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değeri
P3 Süt Dişi Grubu	22,19±4,75	20,46±5,42	22,39±3,40
P2 Süt Dişi Grubu	22,44±3,91	16,65±2,88	24,48±6,67
F Süt Dişi Grubu	24,73±5,31	18,65±4,43	21,01±4,20
Kontrol Süt Dişi Grubu	25,40±4,72	20,73±2,75	19,18±3,32

Tablo 4.6: Tüm daimi diş grupları için deney sonuçlarının ortalama P değerleri

Gruplar	Başlangıç P değeri	Demineralizasyon sonrası P değeri	Remineralizasyon sonrası P değeri
P3 Daimi Diş Grubu	10,63±1,67	9,69±1,57	10,48±1,77
P2 Daimi Diş Grubu	12,43±1,66	10,50±1,06	11,06±2,48
F Daimi Diş Grubu	11,47±2,11	9,56±1,45	10,78±1,43
Kontrol Daimi Diş Grubu	12,41±1,91	10,94±1,76	10,10±1,46

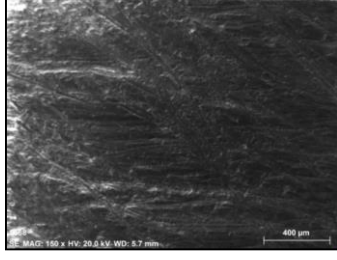
Tablo 4.7: Tüm süt diş grupları için deney sonuçlarının ortalama P değerleri

Gruplar	Başlangıç P değeri	Demineralizasyon sonrası P değeri	Remineralizasyon sonrası P değeri
P3 Süt Dişi Grubu	11,42±2,03	10,39±2,41	11,21±1,01
P2 Süt Dişi Grubu	11,74±1,43	9,45±1,72	11,58±1,87
F Süt Dişi Grubu	12,54±1,88	10,00±1,44	11,00±1,51
Kontrol Süt Dişi Grubu	11,86±1,43	10,55±1,05	10,39±1,06

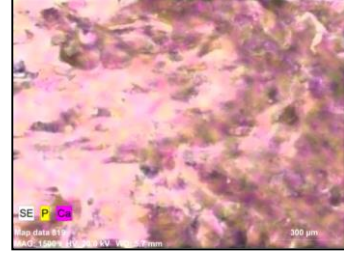
4.2.2. Kapsamlı Çalışmaya ait SEM Görüntüleri

Mine örneklerinin başlangıç, demineralizasyon sonrası ve pH siklusu sonrası 150 ve 1500 kat büyütme SEM görüntüleri alınmıştır. SEM görüntülerinde; örneklerin morfolojik farklılıkları ve her aşamadan sonra meydana gelen morfolojik değişiklikleri incelenmiştir.

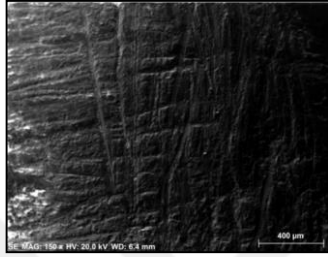
- 1) Daimi ve süt diş mine örneklerinin 150 ve 1500 kat büyütmedeki başlangıç SEM ve elemental haritalama görüntülerinde; sağlam mine yüzeyi görülmektedir (Şekil 4.6a-b, Şekil 4.7a-b).



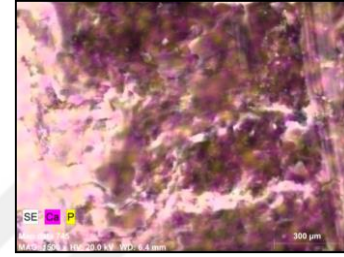
Şekil 4.6a: Daimi diş mine örneğine ait başlangıç SEM görüntüsü



Şekil 4.6b: Daimi diş mine örneğine ait başlangıç elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

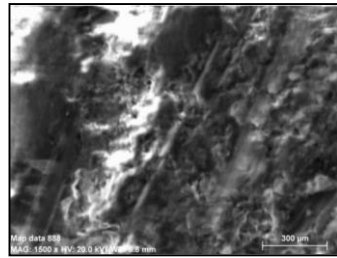


Şekil 4.7a: Süt diş mine örneğine ait başlangıç SEM görüntüsü

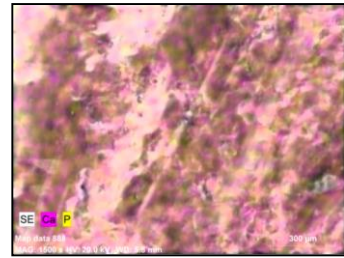


Şekil 4.7b: Süt diş mine örneğine ait başlangıç elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

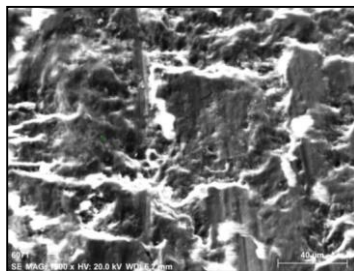
- 2) Daimi ve süt diş mine örneklerinin, demineralizasyon sonrası 150 ve 1500 kat büyütmede SEM ve elemental haritalama görüntüleri alınmıştır. Mine yüzeyinde demineralizasyon alanlarının oluştuğu ve yüzeyin oldukça poröz bir yapıya sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.8a-b, Şekil 4.9a-b).



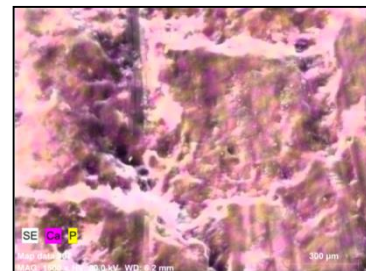
Şekil 4.8a: Daimi diş mine örneğine ait demineralizasyon sonrası SEM görüntüsü



Şekil 4.8b: Daimi diş mine örneğine ait demineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü



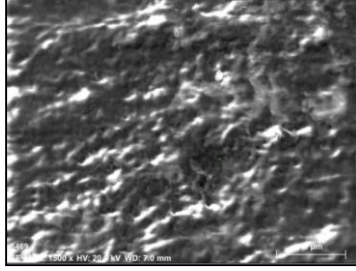
Şekil 4.9a: Süt diş mine örneğine ait demineralizasyon sonrası SEM görüntüsü



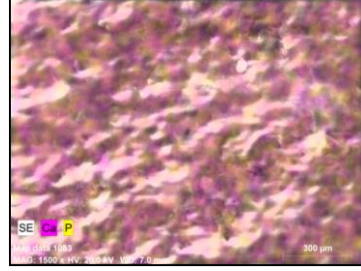
Şekil 4.9b: Süt diş mine örneğinin demineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

3) Deney materyali uygulandıktan sonra, pH siklusüne tabi tutulan mine örneklerinin SEM ve elemental haritalama görüntülerinde;

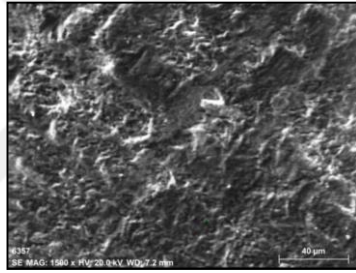
✚ P2 peptit grubundaki örneklerin, pH siklusu sonrası alınan 1500 kat büyütmedeki görüntülerinde, mineral birikimi olduğu görülmüştür (Şekil 4.10a-b, Şekil 4.11a-b).



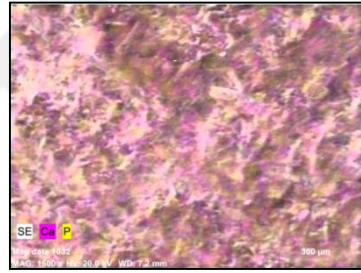
Şekil 4.10a: Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü



Şekil 4.10b: Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

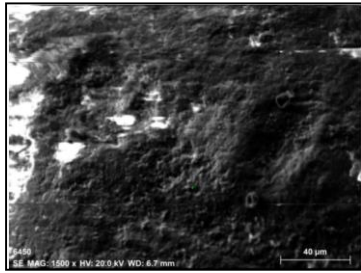


Şekil 4.11a: Süt dişi mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü

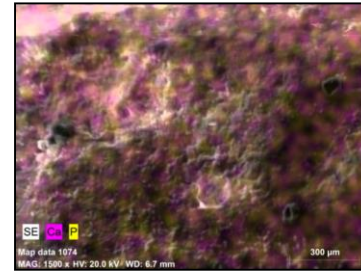


Şekil 4.11b: Süt dişi mine örneğinin remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

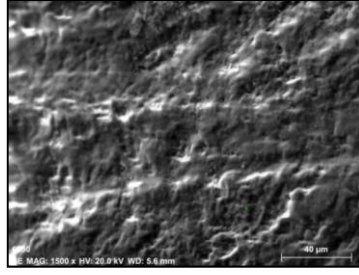
✚ P3 peptit grubundaki dişlerin pH siklusu sonrası alınan 1500 kat büyütmedeki görüntülerinde, mine yüzeylerinde mineral birikimi olduğu görülmüştür (Şekil 4.12a-b, Şekil 4.13a-b).



Şekil 4.12a: Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü



Şekil 4.12b: Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

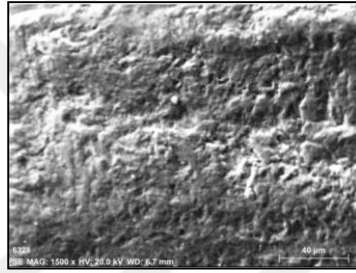


Şekil 4.13a: Süt dişi mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü

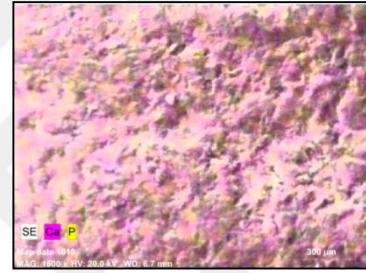


Şekil 4.13b: Süt dişi mine örneğinin remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

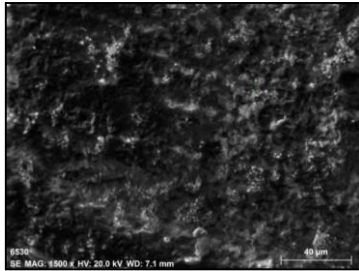
✚ Florür grubundaki dişlerin pH siklusu sonrası alınan 1500 kat büyütmedeki görüntülerinde, demineralize mine yüzeyleri mineral birikimi olduğu görülmüştür (Şekil 4.14a-b, Şekil 4.15a-b).



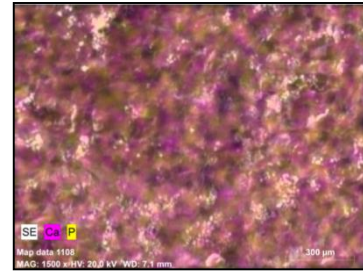
Şekil 4.14a: Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü



Şekil 4.14b: Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

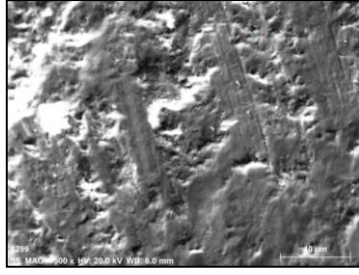


Şekil 4.15a: Süt dişi mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü

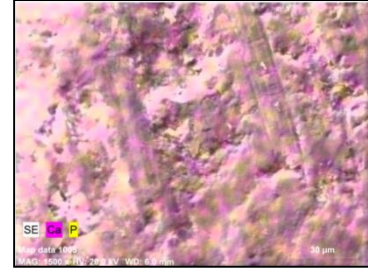


Şekil 4.15b: Süt dişi mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

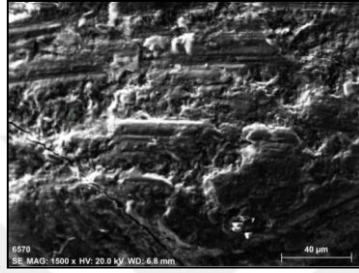
✚ Kontrol grubundaki örneklerin 1500 kat büyütmedeki görüntüsünde, yüzey morfolojisinin demineralizasyon sonrası mine yüzey morfolojisi ile benzer olduğu görülmüştür (Şekil 4.16a-b, Şekil 4.17a-b).



Şekil 4.16a: Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü



Şekil 4.16b: Daimi diş mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü



Şekil 4.17a: Süt dişi mine örneğine ait remineralizasyon sonrası SEM görüntüsü



Şekil 4.17b: Süt dişi mine örneğine ait remineralizasyon sonrası elemental haritalama sonucu SEM görüntüsü

4.2.3. Vickers Mikrosertlik Test Bulguları

Çalışmamızda; başlangıç mikrosertlik değerlerinin demineralizasyon sonrası mine mikrosertlik değerlerinden daha yüksek olduğu, ancak tüm gruplar arasında başlangıç ve demineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p \leq 0,05$).

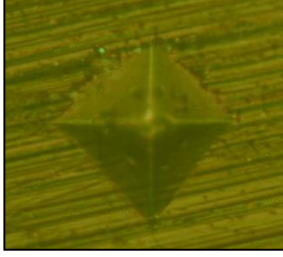
1. P2 Daimi Diş Grubu

P2 daimi diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları ile, P3 daimi diş grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik test sonuçları arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

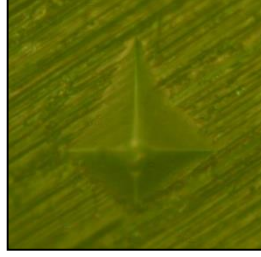
P2 süt ($p:0,00$), P3 süt ($p:0,00$), P2+P3 daimi ($p:0,00$), F daimi ($p:0,00$), F süt ($p:0,00$), ve P2+P3 süt dişi ($p:0,023$) gruplarındaki örneklerin Vickers mikrosertlik dereceleri, P2 daimi diş grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik derecelerine göre daha yüksektir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

P2 daimi diş grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik derecesi, kontrol grubundaki örneklerin (süt ve daimi) Vickers mikrosertlik derecesinden anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur ($p \leq 0,05$).

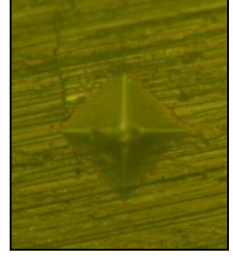
P2 daimi diş grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.18a, şekil 4.18b ve şekil 4.18c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.18a: P2 daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.18b: P2 daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.18c: P2 daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

2. P2 Süt Dişi Grubu

P2+P3 daimi diş ($p: 0,00$) grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik dereceleri, P2 süt dişi grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik derecelerine göre daha yüksektir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

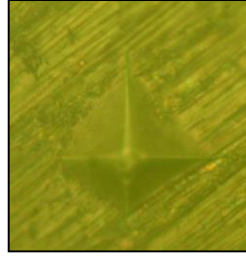
P2 süt dişi grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik dereceleri; P2 daimi ($p:0,00$), P3 daimi ($p: 0,00$), P2+P3 süt ($p:0,001$), kontrol süt ($p:0,00$) ve kontrol daimi diş ($p: 0,00$) grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik derecelerine göre daha yüksektir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p \leq 0,05$).

P2 süt dişi grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları ile, P3 süt ($p:0,905$), florür daimi ($p:0,619$) ve F süt dişi ($p:0,996$) gruplarındaki örneklerin Vickers mikrosertlik test sonuçları arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

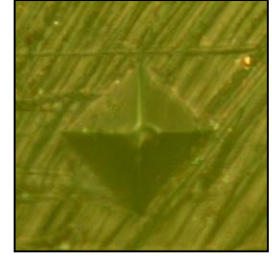
P2 süt dişi grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.19a, şekil 4.19b ve şekil 4.19c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.19a: P2 süt dişi grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.19b: P2 süt dişi grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.19c: P2 süt dişi grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

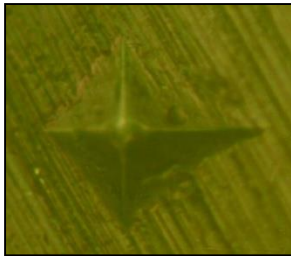
3. P3 Daimi Diş Grubu

P3 daimi diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları ile, P2 daimi diş grubundaki örneklerin ve P2+P3 süt dişi grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik test sonuçları arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

P2 süt ($p:0,00$), P3 süt ($p:0,00$), P2+P3 daimi ($p:0,00$), F daimi ($p:0,00$), F süt dişi ($p:0,00$) gruplarındaki örneklerin Vickers mikrosertlik dereceleri; P3 daimi diş grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik derecelerine göre daha yüksektir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

P3 daimi diş grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik derecesi, kontrol grubundaki örneklerin (süt ve daimi) mikrosertlik derecesinden anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur ($p \leq 0,05$).

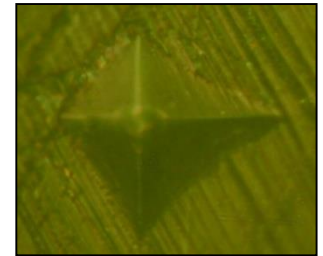
P3 daimi diş grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.20a, şekil 4.20b ve şekil 4.20c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.20a: P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.20b: P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.20c: P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

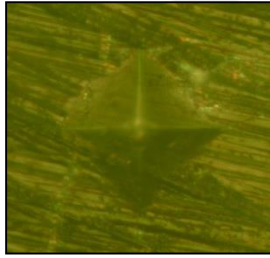
4. P3 Süt Dişı Grubu

P3 süt dişı grubundaki örneklerin mikrosertlik derecesi; P2 daimi (p:0,00), P3 daimi (p:0,00), P2+P3 süt (p:0,003), kontrol daimi (p:0,00) ve kontrol süt dişı (p:0,00) grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik derecelerine göre daha yüksektir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

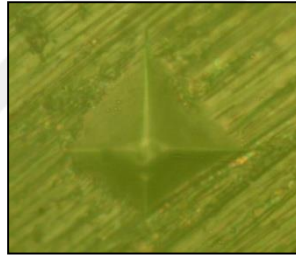
P2+P3 daimi (p:0,103) ve F daimi diş (p:1,00) grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik dereceleri; P3 süt dişı grubundaki örneklerin mikrosertlik derecesine göre daha yüksektir. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

P3 süt dişı grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları ile, P2 süt, P2+P3 süt ve florür süt dişı grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik test sonuçları arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

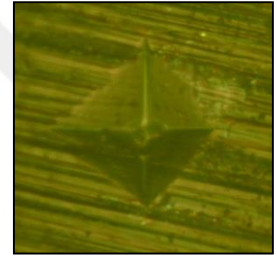
P3 süt dişı grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.21a, şekil 4.21b ve şekil 4.21c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.21a: P3 süt dişı grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm



Şekil 4.21b: P3 süt dişı grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

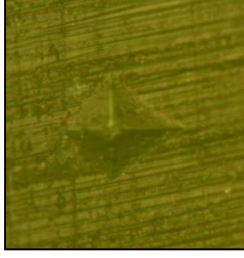


Şekil 4.21c: P3 süt dişı grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

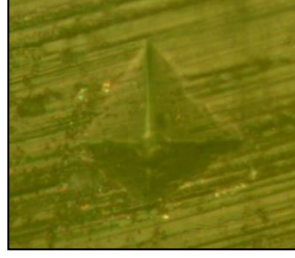
5. P2+P3 Daimi Diş Grubu:

P2+P3 daimi diş grubundaki dişlerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları; tüm süt ve daimi diş deney gruplarının remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçlarına göre daha yüksektir. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

P2+P3 daimi diş grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.22a, şekil 4.22b ve şekil 4.22c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.22a: P2+P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.22b: P2+P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.22c: P2+P3 daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

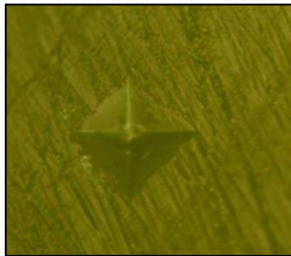
6. P2+P3 Süt Dişi Grubu:

P2+P3 süt dişi grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları; P2 daimi ($p:0,023$), kontrol daimi ($p:0,00$) ve kontrol süt dişi ($p:0,00$) gruplarının remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçlarına göre daha yüksektir. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

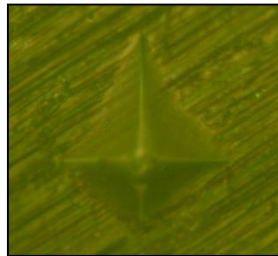
P2 süt ($p:0,001$), P2+P3 daimi ($p:0,00$), F daimi ($p:0,00$), F süt dişi ($p:0,00$) gruplarının remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları; P2+P3 süt dişi grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik derecesine göre daha yüksektir. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

P2+P3 süt dişi grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları, P3 daimi ve süt dişi grupları ile benzer bulmuştur.

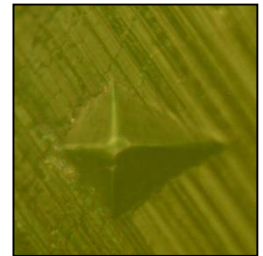
P2+P3 süt dişi grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.23a, şekil 4.23b ve şekil 4.23c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.23a: P2+P3 süt dişi grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.23b: P2+P3 süt dişi grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.23c: P2+P3 süt dişi grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

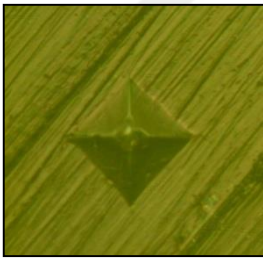
7. Florür Daimi Diş Grubu

P2+P3 daimi diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları; F daimi diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası vickers mikrosertlik test sonuçlarına göre daha yüksektir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p \leq 0,05$).

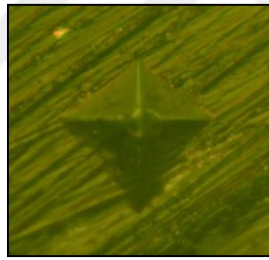
F daimi diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları; P2 daimi ($p:0,00$), P3 daimi ($p:0,00$), P3 süt ($p:0,025$), P2+P3 süt ($p:0,00$), kontrol daimi ($p:0,00$) ve kontrol süt dişi ($p:0,00$) grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası vickers mikrosertlik test sonuçlarına göre daha yüksektir.

P2 süt ve F süt dişi grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları ile, F daimi diş grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik test sonuçları arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

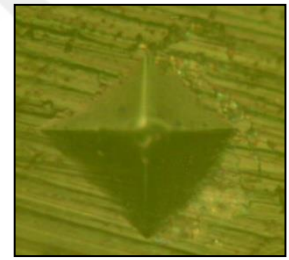
F daimi diş grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.24a, şekil 4.24b ve şekil 4.24c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.24a: Florür daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.24b: Florür daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.24c: Florür daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

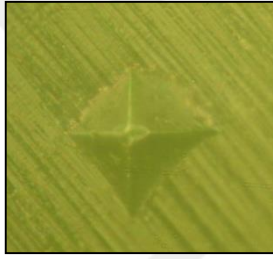
8. Florür Süt Dişi Grubu

P2+P3 daimi diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları; F süt dişi grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçlarına göre daha yüksektir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p \leq 0,05$).

P2 süt, P3 süt ve F daimi diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları ile, F süt diş grubundaki örneklerin Vickers mikrosertlik test sonuçları arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

F süt diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçları; P2 daimi ($p:0,00$), P3 daimi ($p:0,00$), P2+P3 süt ($p:0,00$), kontrol daimi ($p:0,00$) ve kontrol süt diş ($p:0,00$) grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik test sonuçlarına göre daha yüksektir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p\leq 0,05$).

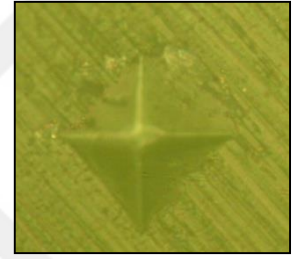
F süt diş grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.25a, şekil 4.25b ve şekil 4.25c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.25a: Florür süt diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.25b: Florür süt diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



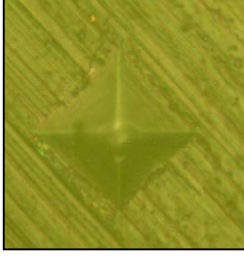
Şekil 4.25c: Florür süt diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

9. Kontrol Daimi Diş Grubu

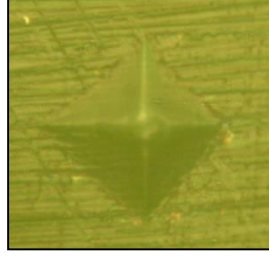
Kontrol daimi diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası vickers mikrosertlik test sonuçları ile, kontrol süt diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası vickers mikrosertlik test sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

Kontrol süt diş grubu dışındaki tüm deney gruplarında, remineralizasyon sonrası vickers mikrosertlik dereceleri, kontrol daimi diş grubundan elde edilen sonuçlardan anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p\leq 0,05$).

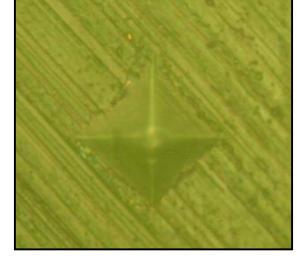
Kontrol daimi diş grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.26a, şekil 4.26b ve şekil 4.26c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.26a: Kontrol daimi diş grubuna ait mine örneğinin başlangıç Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.26b: Kontrol daimi diş grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

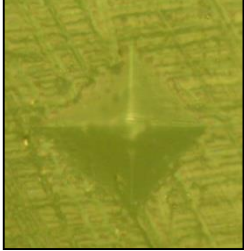


Şekil 4.26c: Kontrol daimi diş grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası Vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

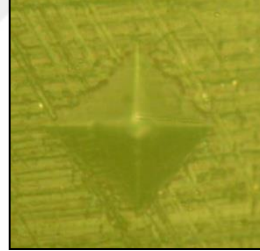
10. Kontrol Süt Diş Grubu

Kontrol süt dişi grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası vickers mikrosertlik test sonuçları ile, kontrol daimi diş grubundaki örneklerin remineralizasyon sonrası vickers mikrosertlik test sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

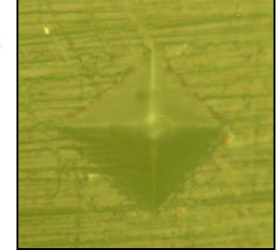
Kontrol süt diş grubuna ait mine örneklerinin Vickers mikrosertlik izdüşüm görüntüsü şekil 4.27a, şekil 4.27b ve şekil 4.27c’de gösterilmiştir.



Şekil 4.27a: Kontrol süt dişi grubuna ait mine örneğinin başlangıç vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.27b: Kontrol süt dişi grubuna ait mine örneğinin demineralizasyon sonrası vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü



Şekil 4.27c: Kontrol süt dişi grubuna ait mine örneğinin remineralizasyon sonrası vickers mikrosertlik testi izdüşüm görüntüsü

Vickers mikrosertlik test sonuçlarının p değerleri tablosu tablo 4-8’de gösterilmiştir.

Tablo 4-8: Vickers mikrosertlik test sonuçlarının p değerleri tablosu

Gruplar	P2Daimi	P2Süt	P3Daimi	P3Süt	P2+P3Daimi	P2+P3Süt	FlorürDaimi	FlorürSüt	KontDaimi	KontSüt
P2Daimi		0,00	1	0	0,00	0,023	0,00	0,00	0,00	0,001
P2Süt	0,00		0,00	0,905	0,00	0,001	0,619	0,996	0,00	0,00
P3Daimi	1	0,00		0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00
P3Süt	0,00	0,905	0,00		0,00	0,103	0,025	0,354	0,00	0,00
P2+P3Daimi	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P2+P3Süt	0,023	0,001	0,15	0,103	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00
FlorürDaimi	0,00	0,619	0,00	0,025	0,00	0,00		0,987	0,00	0,00
FlorürSüt	0,00	0,996	0,00	0,354	0,00	0,00	0,987		0,00	0,00
KontDaimi	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,969
KontSüt	0,001	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,969	

4.2.3.1. Yüzey Mikrosertlik İyileşme Bulguları:

Her grup için mine örneklerinin yüzey mikrosertlik iyileşme (%SMHR) yüzdeleri hesaplanmış ve gruplar birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Yüzey mikrosertlik iyileşme yüzdeleri, Amaechi ve ark.larının çalışmalarında kullanılan formüle göre hesaplanmıştır.⁽²⁴⁸⁾

$$\% SMH = 100x[(REM - DEM) \div DEM]$$

1. P2 Daimi Diş Grubu İyileşme Bulguları:

P2 süt, P3 süt, P2+P3 daimi, F daimi ve F süt dışı gruplarının iyileşme bulguları, P2 daimi diş grubunun iyileşme bulgusundan daha iyi bulunmuş olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

2. P2 Süt Diş Grubu İyileşme Bulguları:

P2 süt dışı grubunun iyileşme bulgusu; P2 daimi, P3 daimi, P2+P3 süt, kontrol daimi ve kontrol süt dışı grubunun iyileşme bulgularından daha iyi bulunmuştur, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

3. P3 Daimi Diş Grubu İyileşme Bulguları:

P2 süt, P3 süt, P2+P3 daimi, F daimi, F süt dışı gruplarının iyileşme bulguları, P3 daimi diş grubunun iyileşme bulgusundan daha iyi bulunmuştur, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. P3 daimi grubunun iyileşme bulguları, süt ve daimi kontrol gruplarının iyileşme bulgularından daha iyi bulunmuştur, aradaki fark anlamlıdır (p≤0,05).

4. P3 Süt Dişı Grubu İyileşme Bulguları:

P3 süt dişı grubunun iyileşme bulgusu; P2 daimi, P3 daimi, P2+P3 süt, kontrol daimi ve kontrol süt dişı grubunun iyileşme bulgularından daha iyi bulunmuştur, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

5. P2+P3 Daimi Diş Grubu İyileşme Bulguları:

P2+P3 daimi diş grubunun iyileşme bulgusu; P2 daimi, P3 daimi, P2+P3 süt, kontrol daimi ve kontrol süt dişı grubunun iyileşme bulgularından daha iyi bulunmuştur, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

6. P2+P3 Süt Dişı Grubu İyileşme Bulguları:

P2 süt, P3 süt, P2+P3 daimi, F daimi ve F süt dişı gruplarının iyileşme bulguları, P2+P3 süt dişı grubunun iyileşme bulgusundan istatistiksel olarak anlamlı derecede iyi bulunmuştur. P2+P3 süt dişı grubunun iyileşme bulgusu, süt ve daimi kontrol gruplarının iyileşme bulgularından daha iyi bulunmuştur, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

7. Florür Daimi Diş Grubu İyileşme Bulguları:

F daimi diş grubunun iyileşme bulgusu; P2 daimi, P3 daimi, P3+P2 süt, kontrol daimi ve kontrol süt dişı grubunun iyileşme bulgularından istatistiksel olarak anlamlı derecede iyi bulunmuştur.

8. Florür Süt Dişı Grubu İyileşme Bulguları:

F süt dişı grubunun iyileşme bulgusu; P2 daimi, P3 daimi, P2+P3 süt, kontrol daimi ve kontrol süt dişı grubunun iyileşme bulgularından istatistiksel olarak anlamlı derecede iyi bulunmuştur.

9. Kontrol Daimi Diş Grubu İyileşme Bulguları:

P2 süt, P3 süt, P2+P3 daimi, P2+P3 süt, F daimi ve F süt dişı gruplarının iyileşme bulguları, kontrol daimi diş grubunun iyileşme bulgularından istatistiksel olarak daha anlamlıdır.

10. Kontrol Süt Dişı Grubu İyileşme Bulguları:

P2 süt, P3 süt, P2+P3 daimi, F daimi ve F süt dışı gruplarının iyileşme bulguları, kontrol süt dışı grubunun iyileşme bulgularından istatistiksel olarak daha anlamlıdır.

Yüzey mikrosertlik iyileşme yüzdelerinin p değerleri tablosu tablo 4-9'da gösterilmiştir.

Tablo 4-9: Yüzey mikrosertlik iyileşme yüzdelerinin p değerleri tablosu

Gruplar	P2Daimi	P2Süt	P3Daimi	P3Süt	P2+P3Daimi	P2+P3Süt	FlorürDaimi	FlorürSüt	KontDaimi	KontSüt
P2Daimi		0,00	0,854	0,00	0,00	0,136	0,00	0,00	0,00	0,00
P2Süt	0,00		0,00	1,00	0,725	0,00	1,00	0,968	0,00	0,00
P3Daimi	0,854	0,00		0,00	0,00	0,964	0,00	0,00	0,00	0,00
P3Süt	0,00	1,00	0,00		0,86	0,00	1,00	0,905	0,00	0,00
P2+P3Daimi	0,00	0,725	0,00	0,86		0,00	0,797	0,80	0,00	0,00
P2+P3Süt	0,136	0,00	0,964	0,00	0,00		0,00	0,00	0,01	0,01
FlorürDaimi	0,00	1,00	0,00	1,00	0,797	0,00		0,943	0,00	0,00
FlorürSüt	0,00	0,968	0,00	0,905	0,80	0,00	0,943		0,00	0,00
KontDaimi	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00		0,066
KontSüt	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,066	

5.TARTIŞMA

“Diş çürüğü”, diş yüzeyi ile plak sıvısı arasındaki demineralizasyon-remineralizasyon dengesinin demineralizasyon lehine bozulması sonucunda, diş yüzeyinden mineral kaybına neden olan dinamik bir olay olarak tanımlanmaktadır. Demineralizasyon başladığı zaman bakteriler tarafından üretilen asit; mine dokusu içerisinde mikro kanallar oluşturur, bu kanallardan kaybedilen mineral, minenin optik özelliklerini değiştirdiği için mine opak bir görünüme sahip olur. Bu durum “beyaz nokta lezyonu” olarak adlandırılır. Beyaz nokta lezyonlarının kavite oluşumuna kadar ilerlememesi için remineralizasyon ajanları ile mine yapısının güçlendirilmesi gerekmektedir. “Remineralizasyon”; çürük veya farklı nedenlerden dolayı mine dokusundan kaybedilen Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve diğer iyonların mine yüzeyinde tekrar birikmesi olarak tanımlanmaktadır. Demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsü, tükürük ve plak doygunluğu ile belirlenmektedir. Ağız sıvılarında bulunan Ca^{+2} ve F konsantrasyonlarının artırılması ile başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu gerçekleştirilebilmektedir^(249, 250).

Günümüzde remineralizasyon amacıyla pek çok materyal kullanılıyor olmasına rağmen; bazı remineralizasyon ajanlarındaki eksiklikler veya kısıtlamalar araştırmacıları yeni materyal arayışına yönlendirmiştir. Özellikle altın standart olarak kabul edilen F uygulamalarında dahi; fazla F maruziyeti sonucunda florozis gelişme riski, F uygulaması sonrasında yüzeyde remineralizasyona bağlı olarak gizli çürük oluşumu ve en önemlisi de F’ ün sert ve yumuşak dokularda birikiyor olması nedeniyle ebeveynler endişelenmeye başlamışlardır.^(34, 251)

Günümüzde; hasar görmüş veya hastalıklı dental dokuların biyolojik olarak benzer dokular ile değiştirildiği, rejeneratif tıp temelli dental yaklaşımların benimsendiği ve reparatif tedavilerden rejeneratif tıp ve diş hekimliğine devam eden bir geçiş süreci yaşanmaktadır. Peptitlerin son yıllarda pek çok alanda başarılı bir şekilde kullanılıyor olması araştırmacıları peptitlerin tıpta ve diş hekimliğinde reparatif ve rejeneratif tedavilerde kullanımı konusunda araştırma yapmaya yönlendirmiştir. Çalışmalar bu şekilde başlamış olup, halen devam etmektedir. Dentin dokusunun rejenerasyonu veya farmakolojik bir yolla iyileşebildiği gösterilmiş olup ancak hücresiz olan minenin rejeneratif tedavisi henüz klinik olarak gösterilememiştir.⁽²⁵²⁾ Bu nedenle; biyomimetik diş onarımı için kolay uygulanabilen, hızlı gelişen mine benzeri biyomineralize doku elde etmek için, mine defektlerinin onarımı ile ilgili daha fazla

araştırma yapılması gereklidir. Çalışmamızda yeni geliştirilen peptit ajanı ile; daha önce kullanılan remineralizasyon ajanlarının dezavantajlarını ortadan kaldırarak biyouyumlu, kullanımı kolay, başlangıç çürük lezyonlarının ilerlemesinin durdurulmasına katkı sağlayacak yeni bir remineralizasyon ajanının geliştirilmesi amaçlanmış olup, yapılacak olan in vivo çalışmalara ışık tutması, böylece çocukların hem ağız ve diş sağlığına hem de genel sağlığına katkıda bulunulması hedeflenmiştir.

Çalışmamızda; yeni geliştirilen peptit ajanının, süt ve daimi diş minesinde remineralizasyon etkinliği değerlendirilerek, geleneksel remineralizasyon ajanı F⁺ye karşı etkinliği karşılaştırmalı olarak in vitro koşullarda değerlendirilmiştir.

Çalışmanın materyal-metodu ve bulgularının tartışılması kısmı 2 kısımda ele alınmıştır:

5.1.Materyal-Metodun Tartışılması

5.2.Bulguların Tartışılması

5.1.Materyal-Metodun Tartışılması

Diş çürüğü ile ilgili çok sayıda in situ ve in vivo çalışma yapılmasına rağmen, in vitro çalışmalar karyoloji araştırmalarında en sık kullanılan yöntemdir. İn vitro çalışmalarda; pH siklus modellerinde, diş dokuları (mine veya dentin) demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarında belirli sürelerde bekletilmektedir. Demineralizasyon-remineralizasyon çalışmaları, demineralizasyon sırasında oluşan mineral kaybı ve remineralizasyon sırasında meydana gelen mineral kazancının mekanizmalarını taklit etmek için tasarlanmıştır.⁽²⁵³⁾

İn vitro çalışmaların;

- 🚦 Yüksek düzeyde bilimsel kontrol sağlaması,
- 🚦 Sonuçlarının daha düşük değişkenlik göstermesi,
- 🚦 Deney ortamının sürekli kontrol altında olması,
- 🚦 Daha küçük örnek boyutu gerektirmesi, in vitro çalışmaların avantajları arasında sayılabilir.

pH siklus modellerinde elde edilen yanıt değişkenliklerinin, in vivo çalışmalardan daha hassas olduğu belirtilmiştir. pH siklus modelleri; yapay çürük oluşum sürecinin ve remineralizasyon ajanlarının çürük önleyici etkisinin, oluşum mekanizmalarının

anlaşılmasına yardımcı olmaktadır.⁽²⁵⁴⁾ Bu nedenle pH siklus modelleri; araştırmacılara in vivo çalışmaları uygun şekilde tasarlama konusunda güven verecek yeterli nicel veri oluşumunu kolaylaştırmaktadır.⁽²⁵⁵⁾ Bununla birlikte, tüm in vitro çalışmalarda olduğu gibi, pH siklus modelleri de bazı kısıtlamalara sahiptir.⁽²⁵³⁾

- ✚ İn vitro çalışmalarda kullanılan yapay ağız sistemleri; bakteriyel biyofilmler ve yapay tükürük kullanıldığında bile çürük gelişimine yol açan karmaşık intraoral koşulları tamamen taklit edemezler.
- ✚ pH siklus modelleri; in vivo ortamda olduğu gibi diş yüzey alanı/çözelti oranı veya tükürük / plak sıvısı bileşimini taklit edemezler, çünkü farklı oral yüzeyler farklı hacimlerde ve kombinasyonlardaki tükürük tarafından yıkanmaktadır.⁽²⁵⁶⁾
- ✚ İn vitro çalışmalarda; dişlerin ve deney koşullarının seçimi ile ilgili ve in vivo koşullarda meydana gelmesi beklenenden çok daha hızlı meydana gelen demineralizasyon-remineralizasyon süreçleri ile ilgili hatalar olabilir.⁽²⁵⁴⁾
- ✚ İn vitro çalışmalarda, oral kavitede topikal olarak kullanılan ürünler tam olarak taklit edilemezler. Diş macunları fırçalama sırasında tükürük ile seyrettilerek bir bulamaç haline gelmektedir, bu sebeple F alımı ve reaktivitesi in vivo çalışmalarda in vitro çalışmalardan daha düşük çıkmaktadır. Bu da F alımının arttırılmasına yönelik geliştirilen formülasyonların, çürük önleme potansiyellerinin yanlış değerlendirilmesine yol açabilmektedir.⁽²⁵⁶⁾

pH siklus çalışmalarından elde edilen veriler ile, remineralizasyon ajanlarının klinik kullanımlarının değerlendirilmesi amaçlandığından, tüm bu sınırlamalar göz önünde bulundurulmalıdır.⁽²⁵³⁾

Çalışmamızda; yeni sentezlenen peptit zincirlerinin süt ve daimi diş minesinde remineralizasyona etkisi, mine yüzeyindeki Ca^{+2} ve P miktarındaki değişiklikler incelenerek değerlendirilmiştir.

Yapay mine lezyonu oluşturmak için in vitro çalışmalarda, insan ve hayvan dişleri kullanılmıştır.^(191, 223) Bizim çalışmamızda çekilmiş insan dişlerinin kullanılmasına karar verilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce, amelogenezis sonunda ortaya çıkan prizmasız mine tabakasını kaldırmak için, dişler silikon karbid kağıtlar ile zımparalanmıştır. Prizmasız mine tabakası, daimi dişlerin yüzeyinde daha az sıklıkla

bulunmaktadır. Prizmasız minenin çiğneme sırasında yavaş yavaş aşındığı, ancak aşınmayan yüzeylerde hala prizmatik mine tabakasının korunduğu bilinmektedir.

Elkassas ve ark.ları⁽²²¹⁾ çalışmalarında; farklı diş tipleri ve diş bölgelerindeki minelerin yüzey tabakalarındaki doğal varyasyonları gidermek, örnekleri standardize etmek için düz ve pürüzsüz yüzeyler kullanmışlardır. Dişlerdeki bu farklılığın asit karşısında farklı çözünmelere neden olabileceği düşünüldüğü için, mine yüzeyleri pürüzsüz hale getirilmiştir. Mine yüzeyinin hazırlanmasının diğer nedeni; mikrosertlik değerlendirmelerinin doğru yapılabilmesi için düz ve pürüzsüz yüzeylere ihtiyaç duyulmasıdır.^(204, 221)

Mikro sertlik testi; sert diş dokularının mineral içeriğindeki değişiklikler hakkında dolaylı bilgi veren, basit ve makul derecede güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Vickers yüzey mikro sertlik testi, çeşitli laboratuvar çalışmalarında dolaylı bir şekilde mineral içerik değerlendirme yöntemi olarak kullanılmıştır.^(221, 257-259)

5.2.Bulguların Tartışılması

Başlangıç mine lezyonlarının, çeşitli remineralizasyon ajanları (F, CPP-ACP vs.) kullanılarak noninvaziv yöntemlerle tedavisi mümkündür. Ancak, bu ajanlar doğal sürece benzer matriks aracılı mineralizasyon elde etmekte yetersiz kalmaktadırlar. Matriks aracılı mineralizasyon ile minenin rejenerasyonunu sağlayan kendi kendine birleşen bir peptit olan P₁₁-4 geliştirilmiştir. Kısa zincirli peptitlerden oluşan P₁₁-4; hücre dışı matrikse benzeyen üç boyutlu bir iskele oluşturarak, bir araya gelme ve mine rejenerasyonunu teşvik etme özelliğine sahiptir.^(260, 261)

Kirkham ve ark.ları⁽¹²⁾ tarafından yapılan in vitro bir çalışmada; yapay mine lezyonlarına uygulanan kendi kendine birleşen peptit P₁₁-4' ün, pH siklusu sonrasında, TEM analizlerinde mineral kazanımını kolaylaştırdığı böylece P₁₁-4' ün biyomimetik mine mineralizasyonu sağladığı ilk kez bildirilmiştir. Çalışmamızda; hem EDX hem de Vickers sonuçları değerlendirildiğinde, yeni geliştirilen peptit P2'nin başlangıç mine lezyonlarında remineralizasyon amaçlı kullanılabileceği düşünülmektedir.

Sindhura ve ark.ları⁽²⁶¹⁾ yaptıkları çalışmada, yapay olarak oluşturulan 24 adet mine lezyonunda P₁₁-4 ve CPP-ACP'nin remineralizasyon etkinliğini SEM-EDX analizi ile değerlendirmişlerdir. Örneklerin; başlangıç, demineralizasyon sonrası ve

remineralizasyon sonrası yüzey yapısını ve elemental kompozisyonunu değerlendirmek ve karşılaştırmak için SEM-EDX analizi yapmışlardır. Remineralizasyon etkinliğini değerlendirmek için; 1 hafta, 1 ay ve 3 ay aralıklarla SEM-EDX analizi yapılmıştır. P₁₁- 4 grubunda; Ca/P oranı 1.hafta ölçümlerinde başlangıç ölçümlerinden düşük olmasına rağmen, 1.ay ve 3.ay ölçümleri başlangıç ölçümlerine göre daha yüksek bulunmuştur. 3.ay ölçümleri ise başlangıç ölçümlerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. CPP-ACP grubunda ise; Ca/P oranı 1.hafta ölçümlerinde başlangıç ölçümlerinden daha yüksek olmasına rağmen, 1. ve 3.ay ölçümlerinde 1.hafta ölçümlerinden daha az artış olduğu görülmüştür. Tüm ölçümlerde Ca/P oranındaki artış, başlangıç değerlerinden daha yüksek bulunmuştur. P₁₁- 4'ün; CPP- ACP'ye kıyasla başlangıç mine lezyonlarında daha yüksek Ca/P oranına sahip olduğu bildirilmiş, ayrıca P₁₁- 4'ün mine yüzeyinde düzgün mineral birikimi ile yüksek remineralizasyon özelliği gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır.⁽²⁶¹⁾ Bizim çalışmamızda yeni geliştirilen peptit zincirlerinin hem süt hem de daimi dişler üzerinde remineralizasyon etkinliği EDX ile incelenmiş; süt dişlerinde P2 peptidin, P3 peptitten ve F'den daha yüksek Ca/P artışına neden olduğu bulunmuştur. Daimi dişlerde P2 uygulaması ile F uygulaması arasında Ca⁺² miktarını artırma açısından fark olmadığı belirlenmiştir. (sırasıyla; 23,88±5,01-21,44±4,30)

Alkilzy ve ark.ları,⁽²⁶²⁾ daimi 1. büyük azı dişlerinde başlangıç çürükleri olan 5 yaşından büyük çocuklar üzerinde randomize kontrollü tek kör bir çalışma yapmışlardır. Deney grubuna P₁₁- 4+F vernik uygulaması, kontrol grubuna ise sadece F vernik uygulaması yapmışlardır. Mine lezyonlarını; başlangıç, tedaviden 3 ve 6 ay sonra, lazer floresans, görsel analog skala, Uluslararası Çürük Tespit ve Değerlendirme Sistemi (ICDAS) ve Nyvad çürük aktivite kriterleri açısından değerlendirmişlerdir. P₁₁- 4+F vernik uygulamasının; altın standart olarak kabul edilen F'den başlangıç çürüklerinin ilerlemesini durdurma açısından daha etkili olduğunu bulmuşlardır.⁽²⁶²⁾

Bizim çalışmamızda, EDX sonuçlarına göre; süt dişlerinde P2 uygulamasının F'den daha fazla Ca⁺² miktarını arttırdığı görülmüştür (sırasıyla; 24,48±6,67-21,01±4,20). Daimi dişlerde ise, P2 ve F arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu durumun süt dişlerinin organik içeriğinin daha fazla olmasından ve peptitlerin yapıya daha kolay katılmasından olabileceğini düşünmekteyiz.

Ceci ve ark.ları,⁽²⁶³⁾ 30 keser diş üzerinde yaptıkları çalışmada mine örneklerini 6 gruba ayırmışlardır. P₁₁-4'ün remineralizasyon etkinliğini AFM ve SEM ile değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, alkolsüz içekte bekletilen mine örnekleri ile, alkolsüz içekte bekletildikten sonra P₁₁-4 uygulanan mine örnekleri arasında ve alkolsüz içekte bekletilen mine örnekleri ile, iki alkolsüz içecek arasında P₁₁-4 uygulanan mine örnekleri arasında remineralizasyon açısından istatistiksel olarak farklılık olduğunu belirtmişlerdir. Bu bilgiler doğrultusunda; P₁₁-4'ün başlangıç mine lezyonları üzerinde, remineralizasyon etkisinin doğrulandığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda süt ve daimi diş mine örnekleri üzerindeki başlangıç mine lezyonlarına uygulanan peptitlerin, mine yüzeylerinde oluşturduğu Ca⁺² birikim alanlarının varlığı, SEM görüntülerinde elemental haritalama yöntemiyle gösterilmiştir.

Suda ve ark.ları,⁽²⁶⁴⁾ kendi kendine birleşen peptit P₁₁-4'ün mine remineralizasyonu üzerindeki etkisini dikkate alarak, P₁₁-4'ün (Curodont Repair, Credentis, Almanya) erozyonu önleyici etkisini ultrasonik ölçümler kullanarak değerlendirmişlerdir. Sığır dişlerinden elde edilen mine örnekleri, her biri 6 örnekten oluşan 4 gruba ayrılmış ve 28 gün boyunca her gruba farklı uygulamalar yapılmıştır. Kontrol grubundaki mine örnekleri yapay tükürükte bekletilmiştir. CR grubundaki mine örneklerine sadece Curodont Repair uygulanmış, NCRA (Curodont Repair uygulanmamış, sadece asit uygulaması yapılan grup) grubundaki örnekler sadece portakal suyunda bekletilmiş ve CRA (Curodont Repair ve asit uygulaması yapılan grup) grubundaki örneklere, portakal suyunda bekletilmeden önce Curodont uygulanmıştır. Örneklerde ultrasonik hızın (UV) yayılma süresi ölçülmüş; ölçülen her mine yüzeyinin ultrastrüktürel incelemesi, alan emisyonlu SEM kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm örneklerde ortalama UV değerleri, ilk erozyon maruziyetinden sonra azalmıştır. NCRA grubundaki UV değerleri zamanla daha da azalmış, CR ve CRA gruplarındaki UV değerleri artmış olarak bulunmuştur. CR ve CRA gruplarında, deney sonunda UV'de erozyondan önceki başlangıç değerinden önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. SEM görüntülerinde; CR ve CRA gruplarında asit uygulaması sonucu minedeki değişim, benzer morfolojik özelliklere sahiptir. Araştırmacılar, sığır mineleri üzerinde yaptıkları in vitro çalışmanın sonucunda; mine matriks türevlerinin ve kendi kendine birleşen peptitlerin, eroziv lezyonlara uygulanmasının, erozyonun ilerlemesini önleyebileceği ve remineralizasyonu teşvik edebileceği sonucuna

vardıklarını, ancak bu yaklaşımı doğrulamak için in vivo koşullarda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, insan ve sığır minesinin genetik, çevresel ve beslenme farklılıkları nedeniyle aynı olmadığını kabul etseler de, sığır dişlerinden büyük miktarda örnek alınmasının daha kolay olması ve sığır dişlerinin insan dişlerinden daha homojen bir kompozisyona sahip olmalarından dolayı çalışmalarında sığır alt kesici dişlerini tercih ettiklerini bildirmişlerdir. Sığır dişlerinin kullanılmasının bir başka nedeni; insan ve sığır dişlerindeki lezyonlarda mineral dağılım özelliklerinin neredeyse farksız olmasıyla beraber, sığır dişlerinin daha fazla örneğin hazırlanmasına izin veren büyük boyutlara sahip olması şeklinde açıklanmıştır. Çalışmamızda süt ve daimi insan dişleri, hazırlanan demineralizasyon solüsyonuna konularak yapay mine lezyonları elde edilmiştir. Elde edilen yapay mine lezyonlarına, peptit uygulamasından sonra Vickers mikrosertlik test sonuçları değerlendirildiğinde; P2+P3 peptidin daimi dişlerde P2, P3 ve F'den daha fazla mikrosertlik değerini arttırdığı bulunmuştur.

Süt dişlerine P2 ve P3 peptitlerinin tek başına uygulaması sonucu elde edilen mikrosertlik değerinin, süt dişlerine P2+P3 uygulaması sonucu elde edilen mikrosertlik değerinden fazla olduğu bulunmuştur. P2 ve P3 arasında, daimi dişlerde Vickers mikrosertlik test sonuçları açısından fark bulunmazken, süt dişlerinde P2'nin P3'ten daha fazla mikrosertlik değerine neden olduğu bulunmuştur.

Kamal ve ark.ları,⁽²⁶⁵⁾ 60 mine örneğini randomize olarak 6 gruba ayırdıktan sonra, biri kontrol grubu olmak üzere diğer gruplara deney materyallerini (kendiliğinden birleşen peptit, CPP-ACPF, F) uygulayıp pH siklusuna tabi tutmuşlardır. Deney materyallerinin etkinliğini Vickers mikrosertlik testi ve SEM-EDX analizi ile değerlendirmişlerdir. Remineralizasyondan sonra yüzey mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir artış olduğunu bildirmişlerdir ($p \leq 0,05$). Yüzey mikrosertlik değerleri gruplara göre çoktan aza doğru sırasıyla; kendiliğinden birleşen peptit+CPP-ACPF, kendiliğinden birleşen peptit+F, kendiliğinden birleşen peptit, F ve CPP-ACPF uygulaması şeklinde iken, en düşük yüzey mikrosertlik değeri ise yapay tükürükte bekletilen mine örneklerinde bulunmuştur. Kendiliğinden birleşen peptit + F ile kendiliğinden birleşen peptit+CPP-ACPF arasında ve F ile CPP-ACPF arasında mikrosertlik değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını (sırasıyla; $p=0,99$, $p=0,96$), diğer tüm gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca kendiliğinden birleşen peptit+CPP-

ACPF ve kendiliğinden birleşen peptit+F grupları hariç, tüm gruplarda 1.hafta ile 4.hafta sonundaki remineralizasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu bildirmişlerdir. Kendiliğinden birleşen peptit+CPP-ACPF ve kendiliğinden birleşen peptit+F grupları arasında ise 1.hafta ile 4.hafta remineralizasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; tüm deney gruplarındaki mine örnekleri, kontrol grubundaki mine örnekleri ile karşılaştırıldığında, deney gruplarındaki mine lezyonlarının remineralizasyonunun ve artmış yüzey mikrosertliğinin önemli ölçüde daha fazla olduğu bildirilmiştir. Remineralizasyon ajanları beraber kullanıldığında, tamamlayıcı bir etki oluşturarak; her bir remineralizasyon ajanının tek başına kullanıldığı zaman ortaya çıkan remineralizasyon etkisine kıyasla daha yüksek remineralizasyon potansiyelinin olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde, tüm deney gruplarının remineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. P2+P3 peptidin daimi dişlerde oluşturduğu mikrosertlik değeri, P2 ve P3 peptitlerinin tek başına uygulanmasından daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda ilk defa kullanılan peptitlerin, remineralizasyona olan etkileri tek başlarına değerlendirilmiş olup, daimi dişlerde en etkili peptidin P3, süt dişlerinde en etkili peptidin P2 olduğu belirlenmiştir. Bu aşamadan sonra, etkili peptidin farklı remineralizasyon ajanları ile kombine etkisi yapılacak olan yeni çalışmalarla değerlendirilmek üzere planlanmıştır.

Kamal ve ark.ları,⁽²⁶⁵⁾ aynı çalışmada, örneklerin SEM analiz sonuçlarını değerlendirdiğinde; mine yüzeylerinin başlangıçta sağlam, homojen, pürüzsüz bir görünüme sahip olduğunu; demineralizasyon sonrası, mine yüzeylerinde gözeneklerin arttığını, pürüzlü bir yüzey olduğunu ve prizma korlarının çözünmesinin bir sonucu olarak mine yüzeyinin balık pulu veya bal peteği görünümüne sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da; Kamal ve ark.larının⁽²⁶⁵⁾ çalışmasına benzer şekilde, başlangıç da alınan 500 ve 1500 kat büyütmedeki SEM görüntülerinde mine yüzeyinin düzgün ve homojen bir görünüme sahip olduğu, demineralizasyon sonrası ise 500 ve 1500 kat büyütmedeki SEM görüntülerinde mine yüzeyinde porözitenin arttığı görülmüştür.

Demineralizasyondan sonra yapay tükürükte bekletilen kontrol grubu örneklerinde; 1. hafta ve 4. haftaki SEM görüntülerinde belirgin bir morfolojik değişiklik

görülmeyeceği bildirilmiştir. Remineralizasyondan sonra, deney grupları kontrol grubu ile kıyaslandığında; deney grubundaki mine yüzeylerinde, gözenekler ve mine kusurlarında gözle görülür bir azalma olduğu ve mine yüzeylerinde kristal yoğunluğunun arttığı bildirilmiştir.

Araştırmacılar, kendiliğinden birleşen peptit, kendiliğinden birleşen peptit+F, kendiliğinden birleşen peptit+CPP-ACPF gruplarında, remineralizasyondan 1 hafta sonra belirgin olan ve 4 hafta sonra oldukça belirginleşen remineralizasyon paterni oluştuğunu ve prizmatik mine yapısındaki defektlerin, mineral birikimi sonucu tıkanması ile; demineralizasyon sonrası meydana gelen balık pulu görünümünün ortadan kalktığını bildirmişlerdir. F ve CPP-ACPF grupları ile kıyaslandığında; kendiliğinden birleşen peptit, kendiliğinden birleşen peptit+F, kendiliğinden birleşen peptit+CPP-ACPF gruplarında daha düz bir mine yüzeyi elde edildiği bildirilmiştir. F ve CPP-ACPF gruplarında; 4.hafta sonunda elde edilen remineralizasyon paterninin, 1 hafta sonra elde edilen remineralizasyon paternine kıyasla daha iyi olduğu bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda; EDX sonuçları değerlendirildiğinde; P2 peptidin süt dişi minesindeki Ca^{+2} miktarını artırma açısından F'den daha iyi olduğu bulunmuştur. Daimi dişlerde Ca^{+2} miktarını artırma açısından, P2 ve F arasında fark olmadığı görülmüştür.

Erişilebilir kaynaklardan yapılan literatür taramasında peptit içerikli remineralizasyon ajanlarının süt dişi ve daimi diş minesine uygulanıp birbiri ile kıyaslandığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamız bu yönüyle ilk defa yapılan bir çalışma olup, peptit uygulaması sonrası süt ve daimi diş minesindeki Ca^{+2} artışıındaki farklılıkların nedeninin şu sebeplerden dolayı olduğu düşünülmüştür:

- 1) Süt dişlerindeki inorganik içeriğin düşük olmasına bağlı olarak minenin daha geçirgen bir yapıya sahip olması
- 2) Demineralizasyon işlemi sonrasında süt dişlerinin daha poroz bir yapıya dönüşmesi
- 3) Süt dişlerinin mine kalınlıkları, daimi diş mine kalınlıklarının yaklaşık yarısı kadar olması,
- 4) Süt dişi minesinde aprizmatik tabaka kalınlığının daimi dişe göre daha kalın olması

- 5) Süt dişlerinde çalışma öncesi zımparalama işlemi yapılmasına rağmen hala mine yüzeyinde aprizmatik tabaka kalabilir, bu da süt dişi minesinin daha pöroz bir yapı olarak kalmasına neden olabilir.
- 6) Süt ve daimi diş minelerinin erüpsiyon sonrası maturasyon sürelerinin farklı olmasının, hem demineralizasyon hem de remineralizasyon süreçlerinde etkili olduğu düşünülmüştür.

Gonzalez ve ark.ları⁽²⁶⁶⁾ yaptıkları sistematik derleme sonucunda, süt dişlerinde remineralizasyon ajanlarının etkilerinin tam olarak belirlenemediği ve süt dişlerinde remineralizasyon ajanların klinik yararlılığını doğrulamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir.

Brunton ve ark.ları⁽²⁶⁷⁾ Sınıf V beyaz nokta lezyonları olan 15 sağlıklı bireye tek bir P₁₁-4 uygulaması yapmış ve 180 gün boyunca hastalarda meydana gelebilecek yan etkiler ve beyaz nokta lezyonlarının klinik görünümelerini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar; çalışmalarını mine biyomineralizasyonu sırasındaki süreçleri taklit etmek için tasarlamış ve çalışmalarının başlangıç mine lezyonlarının potansiyel rejeneratif tedavisi için P₁₁-4' ün kullanıldığı ilk klinik güvenlik çalışması olduğunu vurgulamışlar ve P₁₁-4 uygulamasının hastalar için güvenli ve kabul edilebilir noninvaziv bir tedavi olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bununla birlikte, bunun bir etkinlik denemesi olmadığını ve bu çalışmadan elde edilen verileri kontrol grubu ya da herhangi bir ajan (topikal F uygulaması gibi) ile karşılaştıramayacaklarını belirtmişlerdir. P₁₁-4 ile tedavi edilen hastaların 11'inde yan etki görülmüş ve bunlardan sadece iki hastada meydana gelen yan etkilerin uygulama protokolü ile ilgili olabileceği bildirilmiştir. Bu hastaların birinde geçici diş hassasiyeti, diğer hastada çalışma sırasında tüm hastalara kullandırılan ağız gargarasına karşı oluşan duyarlılıktan kaynaklanan yan etkilerin meydana geldiği bildirilmiştir. Diğer hastalarda meydana gelen yan etkilerin hiçbirinin çalışma ile ilgili olmadığını düşündüklerini bildirmişlerdir.

P₁₁-4 ile yapılan tedavinin, 30 gün sonra lezyon büyüklüğünde ($p=0,002$) önemli ölçüde azalma meydana getirdiği, belirgin bir şekilde ilerlemiş olan lezyonların ilerlemesini durdurduğu ve durmuş çürüklerin remineralizasyonunu sağladığı gösterilmiştir ($p<0,001$). Otuzuncu günde, başlangıç durumu ile kıyaslandığında oldukça anlamlı bir iyileşme olduğu belirtilmiştir ($p<0,001$). Sonuçlar, erken çürük

lezyonlarının P₁₁₋₄ ile tedavisinin güvenli olduğunu ve tek bir p11-4 uygulamasının dahi mine yüzeyaltı dokularında mineral birikimini teşvik ederek önemli mine rejenerasyonunu sağladığını göstermiştir. Bizim çalışmamız ise, yapılacak olan in vivo çalışmalar için başlangıç niteliğinde olup, etkili olan peptitlerin klinik güvenliğinin yapılacak olan ileri çalışmalarla ortaya konulması planlanmıştır.

Hedge ve ark.ları⁽²⁶⁸⁾ çalışmalarında; 90 daimi büyük azı dişini, biri kontrol grubu olmak üzere randomize bir şekilde 6 gruba ayırmışlardır. Her grupta 15 mine örneği bulunan 5 deney grubuna; 7, 14, 21, 28 ve 35 gün boyunca günde 2 kez 3 dakika süre ile CPP-ACP uygulamışlardır. Yapay olarak oluşturulan mine yüzey altı lezyonlarında CPP-ACP'nin remineralizasyon potansiyelini SEM-EDX ile kantitatif olarak değerlendirmişlerdir. Her grup için sağlam, demineralize ve remineralize minede Ca⁺² ve P miktarının ağırlıkça bulunma yüzdeleri EDX analizi ile hesaplanmıştır. Ca⁺² ve P içeriği, elde edilen veriler kullanılarak her grup için Ca/P oranlarına dönüştürülmüştür. Tüm gruplarda sağlam mine örneklerinin Ca/P oranları ile demineralize mine örneklerinin Ca/P oranlarının karşılaştırılması sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Remineralizasyondan sonra deney gruplarının ortalama Ca/P oranlarını karşılaştırmış ve 35. günde Ca/P oranlarının 1,93±0,02 arttığını bildirmişlerdir. Yedinci günden 35. güne kadar ortalama Ca/P oranındaki bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu vurgulamışlardır. Böylece tüm çalışma gruplarının demineralize ve remineralize örneklerinde Ca/P oranları arasında oldukça anlamlı sonuçlar ortaya çıktığı görülmüştür. SEM görüntüleri incelendiğinde CPP-ACP uygulanan mine örneklerinin morfolojilerinde küçük değişiklikler olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda, Hedge ve ark.larının⁽²⁶⁸⁾ çalışmalarına benzer şekilde; peptit ve F gruplarının remineralizasyon sonrası SEM görüntüleri incelendiğinde, mine yüzeyinde Ca⁺² birikim alanlarının varlığına bağlı olarak küçük morfolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da; remineralizasyon sonrası Ca/P oranının artış yüzdesi daimi dişlerde en fazla P3 peptidinde, sonra sırasıyla P2 peptit ve F gruplarında bulunurken; süt dişlerinde ise en fazla artış P2 peptidinde, sonra sırasıyla F ve P3 peptidinde bulunmuştur. P2, P3, F ve kontrol grubundaki daimi dişlerin Ca/P oranı, süt dişlerinin Ca/P oranından daha yüksek bulunmuştur.

Shaik ve ark.ları⁽²⁶⁹⁾ ortodontik sebeplerle çekilmiş 78 premolar dişi, her grupta 26 diş olacak şekilde randomize olarak 3 gruba ayırmışlardır. 1. grubu Vantej (diş

macunu, Hindistan), 2. grubu CPP-ACP, 3. grubu Icon grubu olarak belirlemişlerdir. Her gruba uygulanan remineralizasyon ajanının etkinliği EDX analizi ile belirlenmiştir. Demineralizasyondan sonra örneklerle 3 farklı remineralizasyon ajanı (Vantej, CPP-ACP, Icon) uygulanmıştır. Remineralizasyondan sonra, Ca/P oranları karşılaştırıldığında gruplar arasında önemli farklılıklar olduğu bildirilmiştir. Başlangıç değerleri ile kıyaslandığında; CPP-ACP'de %32,7, Vantej'de %9,8 oranında artan remineralizasyon potansiyeli belirlenmiştir. Icon uygulamasından sonra ise, sağlam mine örneklerine kıyasla remineralizasyon potansiyelinde % 2,1 azalma olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada; demineralizasyon sonrası mine örneklerinin remineralize edilmesiyle mine örneklerinin sadece başlangıç değerlerini geri kazanmakla kalmayıp, aynı zamanda CPP-ACP ve Vantej kullanılarak remineralizasyon sonrası mineral içeriğinde bir artış olduğu gösterilmiştir. CPP-ACP, remineralizasyon açısından Vantej'den daha avantajlı olmasına rağmen, Vantej'in avantajı olarak; diş macunu formunda olduğu için hastaların uyumunun kolay olması ve maliyet etkinliği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda; EDX sonuçlarına göre P2 peptidin hem süt hem de daimi diş gruplarının Ca/P oranı, P3 peptidin daimi diş gruplarının Ca/P oranından yüksek bulunmuştur.

Manoharan ve ark.ları⁽²⁷⁰⁾ çalışmalarında, yapay olarak oluşturulan mine yüzey altı lezyonları üzerinde CPP-ACPF ve Novamin'in remineralizasyon potansiyelini SEM-EDX kullanarak kantitatif olarak karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmalarında ortodontik amaçla çekilen 70 çürüksüz premolar diş kullanmışlardır. 70 diş; kontrol grubunda 10, CPP-ACPF ve Novamin grubunda 30'ar diş olacak şekilde randomize olarak 3 gruba ayrılmıştır. CPP-ACPF ve Novamin grupları da kendi içinde tekrar randomize bir şekilde 3 alt gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki dişler, herhangi bir remineralizasyon ajanı uygulanmadan 21 gün boyunca yapay tükürükte bekletilmiştir. CPP-ACPF ve Novamin grubundaki 3 alt gruba 7, 14, ve 21 gün boyunca remineralizasyon ajanları günde 2 kez olmak üzere 3 dk boyunca uygulanmıştır. Dişlerin başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası SEM-EDX analizleri yapılmıştır. Remineralizasyon sonrası ölçümler; 7., 14. ve 21. günde olmak üzere ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Farklı gruplardaki mine yüzeylerinin başlangıç SEM görüntülerinin, sağlam mineye ait düzenli bir prizma görünümüne sahip olduğu gösterilmiştir. Mine kristalleri homojen bir şekilde düzenlenmiştir. Demineralize mine yüzeyinde gözenek oluşumu,

mine yüzeyinde çöküntü ve düzensizliklere yol açmıştır. 7 günlük remineralizasyondan sonra CPP- ACPF grubunda mine yüzeyinde az miktarda birikinti oluşmuştur. 14.günün sonunda ise interprizmatik maddeler belirginleşmiş ve yüzeyde amorf kristaller oluşmuştur. Remineralizasyonun 21.gününün sonunda ise, CPP- ACPF grubunda mine prizmaları ve prizmatik maddeler mikrofotoğraflarda fark edilebilir olmuş ve kalsifiye birikinti alanlarının daha belirgin olduğu bulunmuştur. Novamin grubunda, 7 günlük remineralizasyon uygulamasından sonra demineralize minede, CPP- ACPF grubuna göre daha az homojen olan birkaç birikinti alanı görülmektedir. 14.günün sonunda prizmatik sınırlar boyunca remineralizasyon alanları görülmüştür. Novamin grubunda 21 günlük remineralizasyondan sonra, mine yüzeyindeki gözenekli alanlara dağılmış bol miktarda mineralleşmiş birikinti alanları görülmüştür. Çalışmamızda peptit ve F gruplarının remineralizasyon sonrası SEM görüntüleri değerlendirildiğinde; mine yüzeylerinde farklı bölgelerde mineralize birikinti alanlarının varlığı görülmüştür. Bununla birlikte bizim çalışmamızda; Manoharan ve ark.larının⁽²⁷⁰⁾ (kaynağa gerek var) çalışmalarına benzer şekilde farklı zaman dilimlerinde remineralizasyon ajanı uygulaması yapılarak tekrarlayan uygulamaların etkinliği değerlendirilebilir.

Babaji ve ark.ları⁽²⁷¹⁾ yaptıkları çalışmada; ortodontik sebeplerle çekilmiş premolar dişlerden 168 mine örneği elde etmişlerdir. Tüm mine örneklerinde 3mmx3mm boyutlarında yapay mine lezyonları oluşturulmuş ve kendi kendine birleşen peptit P₁₁-4 ve CPP-ACP'nin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi ve karşılaştırılması için örnekler 5 gün boyunca remineralizasyon solüsyonlarında bekletilmişlerdir. P₁₁-4 grubundaki örnekler 5 dk boyunca %37'lik fosforik asit uygulandıktan sonra, örnekler distile su ile yıkanıp kurutulmuştur. Tüm mine örneklerine 6 dk boyunca P₁₁-4 remineralizasyon ajanı uygulanmıştır. CPP-ACP grubundaki tüm örnekler CPP-ACP ajanı uygulandıktan sonra 5 dk boyunca beklenilmiştir. İki gruptaki mine örnekleri remineralizasyon solüsyonlarına konulmuş ve remineralizasyon solüsyonları her 2 haftada 1 kez değiştirilmiştir. İki gruptaki mine örneklerinin; 2., 6. ve 12. hafta olmak üzere belirli aralıklarla SEM-EDX analizi ile elementel kompozisyon içerikleri değerlendirilmiştir.

Ca⁺² ve P'nin ağırlıkça yüzdeleri EDX analizi ile hesaplanıp, Ca/P oranları bulunmuştur. Ağırlıkça ortalama Ca⁺² yüzdesi; başlangıçta, 2., 6. ve 12. haftada EDX analizi ile değerlendirilmiştir. P₁₁-4 grubunun başlangıç Ca⁺² ortalama değeri

62,12±1,24'den 12.hafta sonunda 67,36±2,14'ye çıkmıştır. Bununla birlikte, başlangıç P ortalama değeri 37,16±2,52'den 12.haftada 35,72±2,11'e gerilemiştir. P₁₁₋₄ grubunda Ca/P oranında artış olduğu bulunmuştur.

CPP-ACP grubunun başlangıç ağırlıkça ortalama Ca⁺² yüzdesi 64,18±1,52 iken, 12. haftada 66,01±2,03'e yükselmiştir. Başlangıç ağırlıkça ortalama P yüzdesi, başlangıçta 37,34±2,23'ten 12.haftada 35,04±2,02'ye gerilemiştir. Ca/P oranında önemli artış olduğu görülmüştür.

Araştırmacılar, her iki grubu karşılaştırdıklarında 2., 6. ve 12. haftalarda Ca/P oranında anlamlı bir fark olduğunu gözlemlemişlerdir. Kendi kendine birleşen peptit P₁₁₋₄'ün yüzey altı lezyon gövdesine difüze olarak daha organize fibrillerle birleşmesi sonucu, diş minesinin doğal biyomineralizasyonunu taklit ederek yüzey altı hacminin mineralizasyonunu kolaylaştırdığı ve yeni oluşan hidroksiapatitler tarafından oluşturulan iskelenin lezyon gövdesinde kaldığı bildirilmiştir. Babaji ve ark.larının⁽²⁷¹⁾ çalışmalarına benzer şekilde; bizim çalışmamızda da, EDX sonuçları değerlendirildiğinde, peptit gruplarında başlangıç değerlerine göre remineralizasyon sonrası Ca⁺² değerlerinde artma, P değerlerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak Ca/P oranında artış meydana geldiği görülmüştür.

Bizim çalışmamızda; süt dişlerinde P2 peptit grubundaki dişlerin başlangıç Ca⁺² değeri 22,44±3,91 iken, remineralizasyon sonrası Ca⁺² değeri 24,48±6,67'ye yükselmiştir. P değerlerindeki azalma ise F grubunda belirgin olup, başlangıç P değeri 12,54±1,88'den 11,00±1,51'e gerilemiştir.

Keskin ve ark.ları⁽²⁷²⁾ 50 adet çekilmiş 3.büyük azı dişlerini, 1.grup kontrol, 2.grup 500 ppm NaF, 3.grup CPP-ACP, 4.grup Emdogain (EMD) ve 5.grup CPP-ACP+EMD olacak şekilde 5 gruba ayırmışlardır. Tüm örneklerin başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası SEM-EDX analizleri yapılmıştır. Demineralizasyon sonrası tüm gruplar arasında ortalama atomik Ca/P yüzdeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Remineralizasyondan sonra, kontrol grubu hariç tüm gruplarda ortalama atomik Ca/P yüzdesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu bildirilmiştir. Remineralizasyondan sonra en yüksek Ca/P yüzdesi grup 5'te, en düşük Ca/P yüzdesi grup 1'de elde edilmiştir. Remineralizasyon sonrası gruplar arası ortalama Ca/P yüzdeleri karşılaştırıldığında; en yüksekten en aza doğru grup 5, grup 2, grup 3,

grup 4 ve grup 1 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda, remineralizasyondan sonra en yüksek Ca/P artış yüzdesi daimi diş grupları arasında sırasıyla; P3 peptit, P2 peptit, F ve kontrol grupları şeklindedir. Ca/P artış yüzdesi süt dişi grupları arasında ise, sırasıyla; P2 peptit, F, P3 peptit ve kontrol grupları şeklindedir. SEM görüntülerini tedavi gruplarına göre değerlendirdiklerinde, kontrol gruplarında bulunan küçük parçacık ve çatlakların mine yüzey altında çözünmüş Ca^{+2} ve P iyonlarından kaynaklanabileceğini düşünmüşlerdir. NaF ve CPP-ACP+EMD grubunda mine prizmalarının yapısında küçük gözenekler ve yoğun bir birikim tabakasının olduğu bildirilmiştir. CPP-ACP+EMD grubunun NaF grubuna göre daha az gözenekli bir yapıya sahip olduğu bildirilmiştir. CPP-ACP grupları ve EMD gruplarında, yama benzeri yapılar açıkça görülürken, bazı genişlemiş gözenekler de gözlenmiştir. NaF grubunda CaF_2 birikiminin gözlemlendiği bildirilmiştir.

Sonuç olarak; araştırmacılar, CPP-ACP ve EMD'nin birlikte kullanımının, kar-zarar ilişkisini ve remineralizasyon aktivitesini maliyet açısından değerlendirmek, uygulama sıklığına ilişkin standart bir prosedür oluşturmak ve ağız-diş sağlığı ve genel sağlık durumundaki olası etkileri değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda, peptit ve F'yi tek başına kullanarak remineralizasyona olan etkisini değerlendirmiş olup; peptit ve F'nin birlikte kullanımının remineralizasyon etkinliğinin değerlendirilmesi için yapılacak olan in vitro ve in vivo araştırmalara çalışmamızın yol göstereceği kanaatindeyiz.

Soares ve ark.ları ⁽²⁷³⁾ çalışmalarında, yapay çürük lezyonları üzerinde CPP-ACPF, biyoaktif cam (BAG), F ile zenginleştirilmiş hidroksiapatit jeli ve kendi kendine birleşen peptit P_{11-4} 'ün remineralizasyon kapasitelerini değerlendirmişlerdir. Altmış mine örneği; 5 gruba (1 kontrol, 4 deney grubu) ayrılarak 30 günlük pH siklüsü uygulamasından sonra remineralizasyon ajanlarının etkinliğini yüzey mikrosertlik testi (SMH) ve SEM analizi ile değerlendirmişlerdir. Başlangıç SMH değerlerinin, demineralizasyon sonrası SMH değerlerinden istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. Remineralizasyon sonrası en yüksek SMH değerleri, CPP-ACPF grubu hariç diğer deney gruplarından önemli ölçüde farklı olarak kendi kendine birleşen peptit P_{11-4} 'e ait olduğu belirlenmiştir. CPP-ACPF ve BAG arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir. En az yüzey remineralizasyon miktarının, F ile zenginleştirilmiş hidroksiapatit jeline ait olduğu bulunmuştur. SMH iyileşme yüzdesi tüm deney grupları için hesaplanmıştır. En yüksek yüzey iyileşme yüzdesi

%62,06 ile kendi kendine birleşen peptit P₁₁-4 grubunda, %48,41 ile ardından CPP-ACPF grubunda, %28,75 BAG grubunda ve %15,30 F ile zenginleştirilmiş hidroksiapatit jel grubunda kaydedilmiştir. Mevcut çalışmanın sınırlamaları dahilinde, kendi kendine birleşen peptit P₁₁-4' ün remineralizasyon kapasitesi, diğer remineralizasyon ajanlarından önemli derecede farklı bulunmuştur. P₁₁-4 ve CPP-ACPF grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmese de, kendi kendine birleşen peptidin mine lezyonlarında daha etkili remineralizasyon sağladığı görülmüştür. Kendi kendine birleşen peptit P₁₁-4 ile elde edilen remineralizasyon potansiyelinin en yüksek olduğu, ardından sırasıyla CPP-ACPF, BAG ve F ile güçlendirilmiş hidroksiapatit jelinde olduğu gözlenmiştir.

Bizim çalışmamızda; P2 süt dişi grubunun mikrosertlik iyileşme bulgusu; P2+P3 süt ve kontrol süt gruplarının iyileşme bulgularından daha iyi bulunmuştur, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. P2+P3 daimi grubunun iyileşme bulgusu; P2 daimi, P3 daimi ve kontrol daimi gruplarının iyileşme bulgularından daha iyi bulunmuştur, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Çalışmamızın Vickers mikrosertlik test sonuçları değerlendirildiğinde; daimi mine örneklerinde en yüksek mikrosertlik değerleri P2+P3 peptit grubunda, süt dişlerinde ise P2 peptit grubunda ölçülmüştür.

Kamal ve ark.ları⁽²⁷⁴⁾ yaptıkları başka bir çalışmada; biyomimetik kendi kendine birleşen peptit P₁₁-4'ün remineralizasyon etkinliğini, CPP-ACPF ve F sağlayan sistemlerle karşılaştırarak değerlendirmeyi amaçlamışlardır. 40 adet çekilmiş molar dişlerin bukkal yüzeylerinde yapay mine lezyonları oluşturmuşlardır. Dişler; kontrol grubu, F verniği, CPP-ACPF verniği, kendi kendine birleşen peptit grubu olmak üzere her grupta 10 diş olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrılmıştır. Tüm örnekler günlük olarak hazırlanan yapay tükürükte bekletilmiştir. SMH değerleri; başlangıçta, demineralizasyondan sonra ve 1 hafta ve 4 hafta yapay tükürükte bekletildikten sonra ölçülmüştür. İstatistiksel olarak en yüksek ortalama SMH değerleri sırasıyla; kendi kendine birleşen peptit, ardından F ve CPP-ACPF iken en düşük ortalama SMH değeri yapay tükürükte bulunmuştur. Ancak F ve CPP-ACPF arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Tüm grupların 4 hafta yapay tükürükte bekletildikten sonraki remineralizasyon değerlerinin, 1 hafta yapay tükürükte bekletilen gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek ortalama SMH değerlerine sahip olduğu bulunmuştur. Yapay tükürükte bekletilen kontrol grubu için; demineralizasyon ile 1 hafta yapay tükürükte bekletilme arasında ve 1 hafta ve 4

hafta yapay tükürükte bekletilme arasında remineralizasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı belirtilmiştir. Remineralizasyon ajanları, demineralize yüzeye penetre olacak Ca^{+2} ve P iyonlarını serbest bırakarak veya çekerek etki ederler. Daha sonra kaybolan hidroksiapatit yapısını yeniden inşa ederek, kristal büyümesi ile kristal boşluklarına iyon birikimini başlatırlar. Bu durum, remineralizasyonun zamana bağlı bir süreç olduğunu göstermektedir.

Stoleriu ve ark.ları⁽²⁷⁵⁾ biyomimetik kendi kendine birleşen peptit P₁₁-4'ün, başlangıç beyaz nokta lezyonları ve kahverengi lezyonlar üzerindeki remineralizasyon etkisini mikrosertlik testi ile değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında proksimal yüzeylerinde başlangıç beyaz nokta ve kahverengi lezyonu bulunan 10'ar adet daimi azı dişi kullanılmıştır. Lezyonların dış yüzeyinin yarısı negatif kontrol bölgesi olarak değerlendirilmek üzere self adeziv kompozit rezin ile örtülmüştür. Lezyonların diğer yarısına Curodont™ Repair (Credentis AG, Windisch, İsviçre -Lot CH180525) haftada 2 kez olmak üzere 8 hafta boyunca uygulanmıştır. Dişin diğer aproksimal yüzeyi ise pozitif kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Her bir diş mesiodistal olarak iki parçaya ayrılmıştır. Mine örneklerinin SMH değeri, dijital mikrosertlik test cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Horizontal diş kesitlerinde, her mine örneğinin belirlenen 6 bölgesine mikrosertlik testi yapılmıştır. İlk bölge (A1), mine dış yüzeyinin 25 µm'nin altında, ikinci bölge (A2) 75 µm altında, üçüncü bölge (A3) 125 µm, dördüncü bölge (A4) 175 µm, beşinci bölge (A5) 225 µm ve altıncı bölge (A6) ise 275 µm altındadır. Her bölgeden 3 ölçüm yapılmıştır. Örneklerin her bir bölgesi için, SMH değeri 3 ölçümün ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Her bir bölgenin son SMH değeri, 10 mine örneğinin ortalaması alınarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda, her örnekten başlangıçta, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası 5'er ölçüm yapılmış ve yüzey mikrosertlik değeri 5 ölçümün ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

Beyaz nokta lezyonlarının ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde; hem negatif kontrol hem de çalışma gruplarında SMH değerlerinin, A1 bölgesinden A6 bölgesine doğru arttığı görülmüştür. Çalışma gruplarının SMH değerleri, bölgeden bağımsız olarak negatif kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. En düşük SMH değeri negatif kontrol A1 bölgesinde, en yüksek SMH değeri çalışma grubu A6 bölgesinde kaydedilmiştir. Altı araştırma bölgesinin tamamında; negatif kontrol ve çalışma gruplarındaki SMH değerleri, pozitif kontrol grubundaki SMH değerlerinden daha

düşük bulunmuştur. Kahverengi lezyonların ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde; hem negatif kontrol hem de çalışma gruplarında SMH değerlerinin A1 bölgesinden A6 bölgesine doğru arttığı belirtilmiştir. Çalışma gruplarının SMH değerleri, bölgeden bağımsız olarak negatif kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. En düşük SMH değeri, negatif kontrol A1 bölgesinde, en yüksek SMH değeri çalışma grubu A6 bölgesinde kaydedilmiştir. Kahverengi lezyonların her bir bölgesinin yüzey mikrosertlik değeri, beyaz nokta lezyonlarının her bir bölgesinin yüzey mikrosertlik değerinden yüksek bulunmuştur. Mine yüzeyine monomerik yapıdaki peptit uygulandığında, çürük lezyon gövdesine yayılarak 3 boyutlu bir fiber matriks oluşturur. Fiber matriks; Ca^{+2} , PO_4^{-3} birikimi için yüzey alanı oluşturmakta ve tükürük tarafından sağlanan doğal remineralizasyon mekanizmalarını desteklemektedir.^(12, 249, 276)

Brunton ve ark.ları⁽²⁷⁷⁾ yaptıkları çalışmada; düşük viskoziteye sahip P₁₁₋₄'ün beyaz nokta lezyonlarındaki mikro gözeneklere nüfuz ederek, kendi kendine birleşme sürecini tetikleyebileceğini ve minerallerin birikmesi gereken yeri belirleyen biyoaktif bir iskele oluşturabileceğini göstermiştir. P₁₁₋₄ peptit uygulanan bölgeler ile tedavi edilmemiş bölgeler karşılaştırıldığında, P₁₁₋₄ uygulanan bölgelerde mikrosertlik değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Yapay çürük lezyonlarında P₁₁₋₄ peptit uygulamasından sonra mine sertliğindeki artışı Soares ve ark.larının⁽²⁷³⁾ çalışmalarındaki ile aynıdır. Peptitin; hidroksiapatit kristallerinin çekirdeklenmesini sağlayarak biyomimetik mineralizasyonu indüklemesi daha sonra minenin yeniden sertliğini kazanması SEM analizi ile gösterilmiştir. Jablonski-Momeni A ve ark.ları,⁽²⁷⁸⁾ kendi kendine birleşen peptit P₁₁₋₄'ün uygulandığı örneklerin %93'ünde, SEM analizi ile mine yüzeyinin remineralizasyonunu gösteren geniş alanların varlığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları; çürük lezyonlarının mine yüzeyinden 25 µm uzaklıkta başladığını belirten Schmidlin ve ark.larının⁽²⁰⁵⁾ çalışmalarındaki sertlik değerlendirme protokolüne göre değerlendirilmiştir.⁽²⁷⁵⁾

Schmidlin ve ark.ları⁽²⁷⁵⁾ kendi kendine birleşen peptitlerin yapay çürük lezyonlarına uygulanması ile, lezyonun daha derin tabakalarında bile minenin yeniden sertleşmesini sağladıklarını belirtmişlerdir. Stoleriu ve ark.ları çalışmalarında, mine yüzeyinden özellikle 175 µm, 225 µm ve 275 µm derinliklerdeki lezyonların sertlik değerlerinde artış olmasına rağmen, sertlik değerlerinin sağlam mine değerlerini yakalayamadıklarını bildirmişlerdir.

Brunton ve ark.larının⁽²⁷⁷⁾ yaptığı bu çalışmada servikal bölgede yeni başlayan çürük lezyonlarına uygulanan P₁₁-4 kendiliğinden birleşen peptidin etkinliğini değerlendirmişlerdir. Tedaviden sonraki ilk 8 gün içinde lezyonların renginde belirgin bir değişiklik gözlenmiş ve tedaviden 30 gün sonra lezyon boyutu ve lezyondaki ilerlemenin önemli ölçüde iyileştiği bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, tek bir uygulamadan 6 ay sonra lezyon boyutu ve lezyonda meydana gelen iyileşmenin korunduğuna işaret etmişlerdir. P₁₁-4'ün, kaviteleşmemiş başlangıç proksimal çürük lezyonlarının tedavisindeki klinik performansı Schlee M.⁽²⁷⁹⁾ ve ark.tarafından gösterilmiştir. Tedaviden 12 ay sonra, başlangıç lezyonlarının görsel değerlendirilmeleri sonucunda, lezyonların gerilediği görülmüştür. Görsel, radyografik ve dijital analizlerin sonuçları değerlendirildiğinde; çürük lezyonlarının % 71'inde gerileme olduğu, lezyonların %0,14' ünün değişmediği ve %0,14'ünün ilerlediği görülmüştür. Yayınlanan ilk klinik çalışmada, P₁₁-4 matriksi etrafında mineral birikiminin 3-6 ay içinde ortaya çıktığı öne sürülmüştür.⁽²⁷⁷⁾

Schlee M. ve ark.ları⁽²⁷⁹⁾ çalışmalarının 12 aylık takip sonuçlarını değerlendirdiklerinde; başlangıç çürük lezyonlarının tedavisinde kullanılan P₁₁-4'ün, başarısı ve güvenilirliği ile ilgili önceki çalışmaların verilerini doğruladıklarını ve tamamladıklarını bildirmişlerdir.

Başka bir klinik çalışmada, daimi azı dişlerindeki başlangıç oklüzal çürük lezyonlarına uygulanan P₁₁-4'ün etkinliği görsel inceleme ve lazer floresans ile değerlendirilmiştir. Üç ve altı aylık kontrollerde çürük lezyonlarında gerileme olduğu gözlemlenmiştir.⁽¹⁰⁾ P₁₁-4'ün rejenerasyon mekanizmasının tükürük tarafından sağlanan doğal remineralizasyona bağlı olması nedeniyle, tükürük miktarı (tükürük akış hızı) ve kalitesi (mineral içeriği, pH) gibi faktörler tedaviye bireysel yanıtın oluşturulmasında son derece önemlidir. Stoleriu ve ark.ları⁽²⁷⁵⁾ çalışmalarında, Ca⁺² ve P iyon konsantrasyonu ve pH değeri için sabit parametreler sağladığı için yapay tükürük kullanımını tercih etmişlerdir. Peptitlerin yeni başlayan çürük lezyonlarının tedavisinde etkinliğini değerlendirmek için gelecekte in vivo çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. Beyaz nokta ve kahverengi çürük lezyonlarında remineralizasyon ajanı olarak kendi kendine birleşen peptitlerin kullanılmasının, lezyonların tüm katmanlarında lezyonların sertliğini önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir.

Doberdoli ve ark.larının⁽²⁸⁰⁾ 2020 yılında yaptıkları çalışmalarında; monomerik kendi kendine birleşen peptit P₁₁-4'ün, kaviteleşmemiş okluzal çürüklerin tedavisinde F verniği veya polimerik kendi kendine birleşen peptit matriksi (ev tipi uygulama) ile birlikte kullanıldığında P₁₁-4'ün etkinliğindeki değişimi değerlendirmişlerdir. Randomize kontrollü klinik çalışma, 90 çocuk ve adölesan ile yapılmıştır. 1. gruba; başlangıçta ve 180. günde P₁₁-4 ve 2 kez F verniği uygulaması, 2. gruba, başlangıçta P₁₁-4 ve haftada 2 kez polimerik kendi kendine birleşen peptit matriksi (ev tipi uygulama) uygulaması ve kontrol grubuna, başlangıçta ve 180. günde F vernik uygulaması yapılmıştır. Çürük ilerleme durumu; lazer floresans, Nyvad çürük aktivite testi, ICDAS-II kriterleri ve araştırmacıların değerlendirmeleri ile ölçülmüştür. Lazer floresans değerlerinin, kontrol grubunda artış gösterdiği, 1. ve 2. çalışma gruplarında ise düştüğü belirtilmiştir. Çalışmanın sonunda (360 gün) ICDAS-II kriterleri değerlendirildiğinde; 1.grupta %6,7 ve 2.grupta %20,0 çürük miktarında kısmi gerileme, kontrol grubunda %23,3 ise kısmi ilerleme olduğu belirtilmiştir. Nyvad çürük aktivite sonuçları değerlendirildiğinde; çalışma gruplarının kontrol grubuna kıyasla daha yüksek çürük inaktivasyonu sağladığı görülmüştür (p = 0,002). Bu çalışma, F verniğiyle birlikte veya haftada iki kez kendi kendine birleşen peptit matriksi ile birlikte uygulanan P₁₁-4' ün, sadece F verniğine kıyasla, başlangıç mine lezyonları için üstün bir tedavi seçeneği olduğunu göstermektedir.

Hsu ve ark.ları⁽²⁸¹⁾ çalışmalarında DSS-8 peptit (aspartat-serin-serin dizisinin sekizli tekrarından oluşan peptit) solüsyonunun sağlam ve demineralize minenin remineralizasyonuna etkisini, sertlik ve elastik modülünü ölçerek değerlendirmişlerdir. İlk olarak, sağlam minenin DSS-8 peptit solüsyonunda remineralizasyonu sağlandıktan sonra mine sertliğinin 4,42 Gpa (gigapaskal)'dan 2,37 Gpa'ya azaldığı gösterilmiştir. Bununla birlikte sağlam minenin, DSS-8 peptit içermeyen solüsyonda remineralizasyonu sağlandığında, minenin sertlik değeri 4,42 Gpa'dan 4,21 Gpa'ya küçük bir azalma gösterdiği bildirilmiştir. Sağlam minenin elastik modülünün, DSS-8 peptit ile remineralizasyonu sağlandıktan sonra 86,90 Gpa'dan 35,12 Gpa'ya düştüğü ancak, DSS-8 peptit içermeyen solüsyonda remineralizasyonu sağlandığında ise elastik modülünün 86,90'dan 66,53 Gpa'ya düştüğü bildirilmiştir. Bu nedenle, remineralizasyon solüsyonuna DSS-8 peptidinin eklenmesinin, minenin mekanik ve elastik özelliklerini geliştirmediği ve minerallerin

diş yüzeyine bağlanmasını olumsuz etkilediği, böylece doğal mineye göre daha düşük sertlik ve elastik modülüne sahip minenin oluştuğu bildirilmiştir. Araştırmacılar; DSS-8 peptidinin demineralize mine üzerindeki etkisini değerlendirmek için, sağlam minenin demineralizasyonu sağlandıktan sonra, demineralize mine örneğini DSS-8 peptit içeren remineralizasyon solüsyonunda bekletmişlerdir. Demineralizasyon işlemi ile sertlik değeri 0,32 Gpa'ya düşen mine örneğinin DSS-8 peptit içeren remineralizasyon solüsyonunda sertlik değerinin 0,79 Gpa'ya yükseldiği bildirilmiştir. Buna karşılık, DSS-8 peptit içermeyen remineralizasyon solüsyonunda bekletilen minenin sertliği 0,66 Gpa olarak bildirilmiştir. Demineralizasyon işlemi ile elastik modül değeri 27,25 Gpa'ya düşen mine örneğinin DSS-8 peptit içeren remineralizasyon solüsyonunda elastik modül değerinin 42,29 Gpa'ya yükseldiği bildirilmiştir. Buna karşılık, DSS-8 peptit içermeyen remineralizasyon solüsyonunda bekletilen minenin elastik modülü 29,71 Gpa'ya yükseldiği olarak bildirilmiştir.

Bu çalışma ile, remineralizasyon tedavilerinin, demineralize minenin mekanik ve elastik özelliklerini etkili bir şekilde iyileştirdiği, ancak sağlıklı mine için aynı özellikleri gösteremediği, bu durumun, doğal ve demineralize mine yüzeyleri arasındaki yüzey pürüzlülüğü ve DSS-8 peptidini bağlama afinitesindeki farklılıktan kaynaklanıyor olabileceği ileri sürülmüştür.

Shafiei ve ark.ları⁽²⁸²⁾ çalışmalarında hidroksiapatit kristallerinin kendiliğinden birleşmesini ve LRAP'ın yapay mine lezyonlarının remineralizasyonu üzerindeki etkisini AFM, TEM, SAED (seçilmiş alan elektron kırınımı) ve SMH ile incelemişlerdir. Çalışmalarında %98 saflıkta N ve C-terminal aminoasitleri içermeyen sentetik domuz LRAP' ı (GL Biochem Ltd., Şangay, Çin) kullanmışlardır.

Proteinler, hidroksiapatit kristallerinin büyümesini hızlandırmak veya engellemek için kristal yüzeylerine bağlanabilmektedirler.⁽²⁸³⁾ Bu çalışmada, peptit tedavisinden sonra yüzey mikrosertliğinde iyileşme olduğu bildirilmiştir. Literatürde, LRAP'ın hidroksiapatit kristal yüzeyine tutunduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.^(284, 285)

Bir peptit segmentinin hidroksiapatit kristal yüzeylerine bağlanabilmesi, peptit segmentlerinin yüklerinin sayısına ve konumuna bağlıdır. Negatif yüklü segmentler, yüzeydeki Ca^{+2} iyonlarını şelatlayarak Ca^{+2} 'ya bağlanma için yüksek afinite

gösterirken, pozitif veya nötr peptit segmentleri hidroksiapatite daha az bağlanmaktadır.⁽²⁸⁶⁾ Bu nedenle, LRAP hidroksiapatit yüzeyine bağlanmışsa, peptit dizisindeki asidik amino asitlerin (aspartik asit ve glutamik asit) fazla olması beklenen bir durumdur. Benzer şekilde Kirkham ve ark.⁽¹²⁾, peptit ile tedavi edilmiş mine örneklerinde artmış Ca^{+2} ve PO_4^{-3} alımını bildirmişlerdir. Ayrıca, LRAP ve amelogenin Ca^{+2} iyonlarına bağlanma konusunda karşılaştırıldığında; LRAP'ın yaklaşık 6,4 kat daha fazla Ca^{+2} afinitesine sahip olduğu bildirilmiştir.⁽²⁸⁷⁾ Bu nedenle LRAP' ın, Ca^{+2} iyonları için amelogeninden daha etkili bir rezervuar görevi görebildiği ve biyomimetik remineralizasyon sistemi için daha etkili olabildiği gösterilmiştir.⁽²⁸⁸⁾

Araştırmacılar bu çalışmada, demineralizasyon sonucunda açıkta kalan hidroksiapatit kristallerinin LRAP içeren remineralizasyon çözeltisine batırıldığında, Ca^{+2} iyonlarının mine kristalleri üzerine yapıştığını ve kristal büyümesinin c-ekseni yönünde gerçekleştiğini bildirilmişlerdir. Asitlenmiş mine yüzeyine LRAP uygulanması mine kristallerinin düzenli bir şekilde yeniden büyümesine yol açmıştır. Bu çalışma, önleyici ve invaziv olmayan terapötik uygulamalarda minenin biyomimetik remineralizasyonunu desteklemek için LRAP yüzey tedavisinin kullanılabileceğini göstermektedir. LRAP üretimi, tam uzunluktaki amelogenin üretimi ile karşılaştırıldığında daha az maliyetlidir. Bu çalışmaların sonuçları gelecekte klinik kullanım için umut verici görünmektedir.

Hosseini ve ark.ları⁽²⁸⁹⁾ yaptıkları çalışmalarında; yapay mine lezyonlarına LRAP uygulanması sonucunda mine yüzeyindeki değişiklikleri, mikro-odak x-ışını bilgisayarlı tomografi (μCT) kullanarak LRAP' ın remineralizasyon üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Sığır dişleri kullanılarak hazırlanan mine örnekleri, 7 gün boyunca demineralizasyon çözeltisinde bekletilerek yapay lezyonlar oluşturulmuştur. Mine örnekleri distile su ile yıkanmış ardından 30 dakika boyunca 60 veya 120 $\mu\text{g mL}^{-1}$ LRAP çözeltisi bulunan su ile yıkanmıştır.

LRAP uygulamasından sonra, mine örnekleri 37°C'de 5 veya 10 gün boyunca yapay tükürük içerisinde bekletilmiştir. LRAP uygulandıktan sonra, mineral kazancı miktarı (%dΔZ), lezyon derinliğindeki kısmi değişiklikler (%dLD) ve LRAP' ın lezyonların remineralizasyonu üzerindeki etkisini değerlendirmek için μCT kullanılmıştır. Peptit tedavisi, mine yüzeyindeki mineral birikimini engelleyerek

lezyon boyunca minerallerin dağılımını sağlamıştır. Bu çalışma ile yapay mine lezyonlarının LRAP ile tedavisinin in vitro remineralizasyon paternini iyileştirebileceği ve düzenleyebileceği gösterilmiştir.⁽²⁸⁹⁾

Doğan ve ark.ları⁽²⁹⁰⁾ yaptıkları in vitro çalışmada; doğal bir protein olan amelogeninden türetilen küçük peptitlerin, hasarlı mine üzerinde mineral tabakası oluşturmak için kullanılabileceğini göstermişlerdir. Yapay mine lezyonlarında remineralizasyon gerçekleştirmek için her grupta 5 mine örneği olacak şekilde 6 grup oluşturulmuştur. 1. gruba herhangi bir tedavi uygulanmamış, 2. gruba sadece Ca^{+2} ve PO_4^{-3} uygulaması, 3. gruba 1100 ppm F uygulaması, 4. gruba 20000 ppm F uygulaması, 5. gruba 1100 ppm F ve peptit uygulaması ve 6. gruba sadece peptit uygulaması yapılmıştır. Mine örnekleri, SEM-EDX ve TEM ile analiz edilmiştir. Sertlik ve elastik modülü ile mine örneklerinin mekanik özellikleri değerlendirilmiştir. Onbeş aminoasit uzunluğunda amelogenin türevi bir peptit olan shADP5 ile iyonik konsantrasyonlarda hazırlanan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} solüsyonu kullanılarak, yapay mine lezyonlarının remineralizasyonunu sağlamak için doğal, hücresiz, biyomimetik bir model geliştirilmiştir. Remineralizasyon sonrası mine yüzeylerinde; hidroksiapatit kristallerinin oluştuğu gösterilmiştir.

Bu çalışma aynı zamanda, biyomineralizasyon sağlayan peptit varlığında F' nin diş yüzeyine iletilmesini ve düşük F konsantrasyonlarında bile F iyonlarının remineralize tabakaya dahil edilmesini sağladığını göstermiştir. Peptit ve F' nin günlük dental ürün formülasyonlarında birlikte kullanılabileceği ileri sürülmüştür.

Araştırmacılar çalışmanın sonucunda; biyomimetik diş tedavisi için, uygulaması kolay, hızlı büyüyen mine benzeri biyomateryal bir doku elde etmek için mine kusurlarının onarımı ile ilgili daha fazla araştırma yapılmasının gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Gelecekteki çalışmalar, ileri remineralizasyon teknolojisini ve klinik olarak uygulanabilir peptit sistemlerini (örn., F içeren veya içermeyen jeller veya macunlar) kullanarak in vivo koşullar altında, mekanik ve kimyasal sağlamlık ve alttaki diş dokusuna tutunmayı sağlayan uygulamaları içermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yeni geliştirilen bir peptit zincirinin süt ve daimi diş minesinde remineralizasyona etkisinin in vitro koşullarda incelendiği çalışmamızda şu sonuçlara varılmıştır;

1) Moleküler biyoloji yöntemi kullanılarak Ca^{+2} afinitesi belirlenen aminoasitler ile sentezlenen peptitlerin; süt ve daimi diş mine yüzeylerinde Ca^{+2} miktarını artırması, sentezlenen peptitlerin remineralizasyon amacıyla kullanılabileceği ve geliştirilebileceği konusunda bizim için umut verici bir gelişme olmuştur.

2) Remineralizasyon sonrası EDX sonuçları değerlendirildiğinde;

- ✚ Peptit gruplarındaki mine örnekleri ile kontrol gruplarındaki mine örnekleri, Ca^{+2} açısından karşılaştırıldığında, peptit gruplarındaki mine örneklerinin daha yüksek Ca^{+2} değerine sahip olduğu görülmüştür.
- ✚ Peptit gruplarında; remineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerinin, demineralizasyon sonrası Ca^{+2} değerlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür.
- ✚ P2 peptidin, P3 peptitten ve F' den süt dişlerinde Ca^{+2} miktarını artırma açısından daha etkili olduğu görülmüştür.
- ✚ P2 peptidin süt dişlerinde Ca^{+2} miktarını artırma açısından florürden daha etkili olması, P2 peptidin süt dişlerinin remineralizasyonunda kullanılabileceği konusunda fikir vermektedir.
- ✚ Daimi dişlerde P2 peptit uygulaması ile F uygulaması arasında mine yüzeylerinde Ca^{+2} miktarını artırma açısından fark olmamakla birlikte P2 peptidin daha etkili olduğu görülmüştür. Daimi dişlerde mine yüzeylerinde Ca^{+2} miktarını artırma açısından P3 peptiti ile F arasında fark olmadığı görülmüştür.

3) Remineralizasyon sonrası Vickers sonuçları değerlendirildiğinde;

- ✚ Peptit gruplarındaki mine örnekleri ile kontrol gruplarındaki mine örnekleri, mikrosertlik açısından değerlendirildiğinde; peptit gruplarındaki mine örneklerinin mikrosertlik değerlerinin, kontrol grubundaki mine örneklerinin mikrosertlik değerinden fazla olduğu görülmüştür.

- ✚ Peptit gruplarında remineralizasyon sonrası mine örneklerinin mikrosertlik değerlerinin, demineralizasyon sonrası mine örneklerinin mikrosertlik değerinden fazla olduğu görülmüştür.
- ✚ Daimi dişlerde P2 ve P3 peptidi ayrı ayrı uygulamak yerine P2+P3 şeklinde uygulamak örneklerin SMH değerini artırma açısından daha etkili bulunmuştur.
- ✚ Süt dişlerinde P2 ve P3 peptidi ayrı ayrı uygulamak SMH değerini artırma açısından P2+P3 şeklinde uygulamaktan daha etkili bulunmuştur.
- ✚ F uygulaması süt dişlerinde P2+P3' ten daha etkili iken, daimi dişlerde P2+P3 uygulaması F uygulamasından daha etkili bulunmuştur.
- ✚ Peptitlerin süt dişlerinde daimi dişlere göre daha etkili olduğu bulunmuştur.
- ✚ Daimi dişlerde P3 uygulaması P2 uygulamasından daha etkili bulunmuştur, ancak aradaki fark anlamlı bulunmamıştır. Süt dişlerinde ise P2 peptidin P3 peptitten daha etkili olduğu bulunmuştur.
- ✚ Daimi dişlerde F uygulaması P2 ve P3 uygulamasından daha etkili bulunmuştur.
- ✚ Süt dişlerinde F uygulaması P2 uygulaması ile aynı etkinliği göstermiştir.
- ✓ P2 peptidin, hem EDX hem de Vickers sonuçlarına göre süt dişlerinde en etkili peptit olduğu bulunmuştur.
- ✓ Daimi dişlerde ise P2+P3 peptidinin etkili olduğu tespit edilmiştir.

Bu bilgiler ışığında; yeni geliştirilen peptit zincirlerinin süt ve daimi diş başlangıç mine lezyonlarının tedavisinde remineralizasyon amacıyla kullanılabileceği ve F jel uygulamalarına alternatif olarak geliştirilebileceği kanaatindeyiz. Ancak, yeni sentezlenen peptit zincirlerinin başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu üzerine etkinliğinin kesin olarak belirlenebilmesi için daha çok sayıda in vivo ve in vitro çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Featherstone J, Chaffee B. The evidence for caries management by risk assessment (CAMBRA®). *Advances in dental research*. 2018;29(1):9-14.
2. Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. *American journal of orthodontics*. 1982;81(2):93-8.
3. Boersma J, Van der Veen M, Lagerweij M, Bokhout B, Prahl-Andersen B. Caries prevalence measured with QLF after treatment with fixed orthodontic appliances: influencing factors. *Caries research*. 2005;39(1):41-7.
4. Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand KR, Effenberger S. Caries management: science and clinical practice/[edited by] Hendrik Meyer-Lueckel, Sebastian Paris, Kim R. Ekstrand; managing editor Susanne Effenberger, with contributions by Mohammad Alkilzy...[et al.]: Stuttgart; Thieme; 2013.
5. Weatherell J, Deutsch D, Robinson C, Hallsworth A. Assimilation of fluoride by enamel throughout the life of the tooth. *Caries research*. 1977;11(Suppl. 1):85-115.
6. Reynolds E, Walsh L. Additional aids to the remineralisation of tooth structure. 2005.
7. Marinho V. Cochrane reviews of randomized trials of fluoride therapies for preventing dental caries. *European Archives of Paediatric Dentistry*. 2009;10(3):183-91.
8. Altenburger MJ, Gmeiner B, Hellwig E, Wrbas K-T, Schirrmeyer JF. The evaluation of fluorescence changes after application of casein phosphopeptides (CPP) and amorphous calcium phosphate (ACP) on early carious lesions. *American journal of dentistry*. 2010;23(4):188-92.
9. Divaris K, Preisser J, Slade G. Surface-specific efficacy of fluoride varnish in caries prevention in the primary dentition: results of a community randomized clinical trial. *Caries research*. 2013;47(1):78-87.
10. Alkilzy M, Santamaria R, Schmoekel J, Splieth C. Treatment of carious lesions using self-assembling peptides. *Advances in dental research*. 2018;29(1):42-7.
11. Aggeli bA, Bell M, Boden N, Keen J, Knowles P, McLeish T, et al. Responsive gels formed by the spontaneous self-assembly of peptides into polymeric β -sheet tapes. *Nature*. 1997;386(6622):259.
12. Kirkham J, Firth A, Vernals D, Boden N, Robinson C, Shore R, et al. Self-assembling peptide scaffolds promote enamel remineralization. *Journal of dental research*. 2007;86(5):426-30.
13. Tamerler C, Sarikaya M. Molecular biomimetics: genetic synthesis, assembly, and formation of materials using peptides. *Mrs Bulletin*. 2008;33(5):504-12.
14. Robinson C, Kirkham J, Shore RC. Dental enamel formation to destruction: CRC press; 2017.
15. Berkovitz BK, Moxham BJ, Linden RW, Sloan AJ. Master Dentistry Volume 3 Oral Biology E-Book: Oral Anatomy, Histology, Physiology and Biochemistry: Elsevier Health Sciences; 2010.
16. Zachrisson BU, Skogan Ö, Höymyhr S. Enamel cracks in debonded, debanded, and orthodontically untreated teeth. *American journal of orthodontics*. 1980;77(3):307-19.
17. Walker B, Makinson O, Peters M. Enamel cracks. The role of enamel lamellae in caries initiation. *Australian dental journal*. 1998;43(2):110-6.
18. White S, Luo W, Paine M, Fong H, Sarikaya M, Snead M. Biological organization of hydroxyapatite crystallites into a fibrous continuum toughens and controls anisotropy in human enamel. *Journal of dental research*. 2001;80(1):321-6.
19. Zaharia A, Muşat V, Anghel EM, Atkinson I, Mocioiu O-C, Buşilă M, et al. Biomimetic chitosan-hydroxyapatite hybrid biocoatings for enamel remineralization. *Ceramics International*. 2017;43(14):11390-402.

20. Nanci A. Ten Cate's Oral Histology-E-Book: Development, Structure, and Function: Elsevier Health Sciences; 2017.
21. ÖZBEK E, GEDİKLİ S, DEMİRCİ UDT. Dişin Embriyolojik Gelişimini Düzenleyen Sinyal Molekülleri. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi. 2012;2012(2):217-23.
22. Ritter AV. Sturdevant's art & science of operative dentistry-e-book: Elsevier Health Sciences; 2017.
23. LeGeros R. 6. Calcium Phosphates in Enamel, Dentin and Bone. Calcium phosphates in oral biology and medicine. 15: Karger Publishers; 1991. p. 108-29.
24. Page RC, Baab DA. A New Look at the Etiology and Pathogenesis of Early-Onset Periodontitis: Cementopathia Revisited. Journal of periodontology. 1985;56(12):748-51.
25. Giacaman R, Perez V, Carrera C. Mineralization processes in hard tissues: Teeth. Biomineralization and Biomaterials: Elsevier; 2016. p. 147-85.
26. Paul Casamassimo HF, Dennis McTigue, Arthur Nowak. Infancy through Adolescence 2012.
27. Smith C. Ameloblasts: secretory and resorptive functions. Journal of dental research. 1979;58(2_suppl):695-707.
28. Kallenbach E. Fine structure of secretory ameloblasts in the kitten. American Journal of Anatomy. 1977;148(4):479-511.
29. Weinstock A, Leblond C. Elaboration of the matrix glycoprotein of enamel by the secretory ameloblasts of the rat incisor as revealed by radioautography after galactose-3H injection. The Journal of Cell Biology. 1971;51(1):26-51.
30. BULUT AC, TÜRKOĞLU Ö. Diş aşınmalarının etiyolojisi, prevalansı ve patogenezi. Turkish Journal of Clinics and Laboratory. 9(2):137-43.
31. Simmer JP, Hu JCC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. Journal of dental education. 2001;65(9):896-905.
32. Qamar Z, Rahim Z, Chew HP, Fatima T. Influence of trace elements on dental enamel properties: A review. The Journal of the Pakistan Medical Association. 2017;67(1):116-20.
33. Rujitanapanich S, Kumpapan P, Wanjanoi P. Synthesis of hydroxyapatite from oyster shell via precipitation. Energy Procedia. 2014;56:112-7.
34. Demir UD. materials and technologie.
35. Roy S, Basu B. Mechanical and tribological characterization of human tooth. Materials Characterization. 2008;59(6):747-56.
36. Daculsi G, Kerebel B. High-resolution electron microscope study of human enamel crystallites: size, shape, and growth. Journal of ultrastructure research. 1978;65(2):163-72.
37. Garnett J, Dieppe P. The effects of serum and human albumin on calcium hydroxyapatite crystal growth. Biochemical Journal. 1990;266(3):863.
38. Lin CP, Douglas WH, Erlandsen SL. Scanning electron microscopy of type I collagen at the dentin-enamel junction of human teeth. Journal of Histochemistry & Cytochemistry. 1993;41(3):381-8.
39. Imbeni V, Kruzic J, Marshall G, Marshall S, Ritchie R. The dentin–enamel junction and the fracture of human teeth. Nature materials. 2005;4(3):229.
40. Orams H. An examination of the prism core, prism sheath and interprismatic substance using the electron microscope. Australian dental journal. 1966;11(2):93-104.
41. White SN, Paine ML, Luo W, Sarikaya M, Fong H, Yu Z, et al. The dentino-enamel junction is a broad transitional zone uniting dissimilar bioceramic composites. Journal of the American Ceramic Society. 2000;83(1):238-40.
42. Massler M, Schour I. Growth of the child and the calcification pattern of the teeth. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 1946;32(9):495-517.
43. Franklin DL, Severs N, Katchburian E. Development of the distal end and Tomes' processes of ameloblasts observed by freeze-fracture and ultrathin section electron microscopy. Journal of anatomy. 1991;174:103.

44. Garant PR, Garant P. Oral cells and tissues: Quintessence Publishing Company Chicago; 2003.
45. Wang R, Weiner S. Strain–structure relations in human teeth using Moiré fringes. *Journal of biomechanics*. 1997;31(2):135-41.
46. Whittaker D. Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. *Archives of oral biology*. 1982;27(5):383-92.
47. Kodaka T, Nakajima F, Higashi S. Structure of the so-called ‘prismless’ enamel in human deciduous teeth. *Caries research*. 1989;23(5):290-6.
48. Scott J. Nasmyth’s membrane. *Irish Journal of Medical Science (1926-1967)*. 1951;26(7):334-7.
49. Margolis H, Beniash E, Fowler C. Role of macromolecular assembly of enamel matrix proteins in enamel formation. *Journal of dental research*. 2006;85(9):775-93.
50. Landis WJ, Burke GY, Neuringer JR, Paine MC, Nanci A, Bai P, et al. Earliest enamel deposits of the rat incisor examined by electron microscopy, electron diffraction, and electron probe microanalysis. *The Anatomical Record*. 1988;220(3):233-8.
51. Diekwisch TG, Berman BJ, Gentner S, Slavkin HC. Initial enamel crystals are not spatially associated with mineralized dentine. *Cell and tissue research*. 1995;279(1):149-67.
52. Fincham A, Moradian-Oldak J, Simmer J. The structural biology of the developing dental enamel matrix. *Journal of structural biology*. 1999;126(3):270-99.
53. Bartlett JD, Simmer JP, Xue J, Margolis HC, Moreno EC. Molecular cloning and mRNA tissue distribution of a novel matrix metalloproteinase isolated from porcine enamel organ. *Gene*. 1996;183(1-2):123-8.
54. Hatakeyama J, Fukumoto S, Nakamura T, Haruyama N, Suzuki S, Hatakeyama Y, et al. Synergistic roles of amelogenin and ameloblastin. *Journal of dental research*. 2009;88(4):318-22.
55. Eastoe J. Enamel protein chemistry-past, present and future. *Journal of dental research*. 1979;58(2_suppl):753-64.
56. Sire JY, Delgado S, Fromentin D, Girondot M. Amelogenin: lessons from evolution. *Arch Oral Biol*. 2005;50(2):205-12.
57. Le TQ, Gochin M, Featherstone JD, Li W, DenBesten PK. Comparative calcium binding of leucine-rich amelogenin peptide and full-length amelogenin. *Eur J Oral Sci*. 2006;114 Suppl 1:320-6; discussion 7-9, 82.
58. Gibson CW, Yuan Z-A, Hall B, Longenecker G, Chen E, Thyagarajan T, et al. Amelogenin-deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(34):31871-5.
59. Du C, Falini G, Fermani S, Abbott C, Moradian-Oldak J. Supramolecular assembly of amelogenin nanospheres into birefringent microribbons. *Science*. 2005;307(5714):1450-4.
60. Paine ML, Luo W, Zhu DH, Bringas Jr P, Snead ML. Functional domains for amelogenin revealed by compound genetic defects. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2003;18(3):466-72.
61. Chun Y-HP. Ameloblastin: evolution, structure and function in enamel formation: University of Michigan; 2009.
62. Toyosawa S, O’huigin C, Tichy H, Klein J. Characterization of dentin matrix protein 1 gene in crocodilia. *Gene*. 1999;234(2):307-14.
63. Ravindranath RM, Moradian-Oldak J, Fincham AG. Tyrosyl Motif in Amelogenins Binds N-Acetyl-D-glucosamine. *Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(4):2464-71.
64. Paine ML, White SN, Luo W, Fong H, Sarikaya M, Snead ML. Regulated gene expression dictates enamel structure and tooth function. *Matrix biology*. 2001;20(5-6):273-92.
65. Zhu D, Paine ML, Luo W, Bringas P, Snead ML. Altering biomineralization by protein design. *Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(30):21173-82.

66. Moradian-Oldak J. Amelogenins: assembly, processing and control of crystal morphology. *Matrix Biology*. 2001;20(5-6):293-305.
67. Paine ML, Snead ML. Protein interactions during assembly of the enamel organic extracellular matrix. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1997;12(2):221-7.
68. Paine ML, Zhu D-H, Luo W, Bringas Jr P, Goldberg M, White SN, et al. Enamel biomineralization defects result from alterations to amelogenin self-assembly. *Journal of structural biology*. 2000;132(3):191-200.
69. Ravindranath RM, Devarajan A, Bringas Jr P. Enamel formation in vitro in mouse molar explants exposed to amelogenin polypeptides: ATMP and LRAP on enamel development. *archives of oral biology*. 2007;52(12):1161-71.
70. Shaw WJ, Campbell AA, Paine ML, Snead ML. The COOH terminus of the amelogenin, LRAP, is oriented next to the hydroxyapatite surface. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(39):40263-6.
71. Warotayanont R, Zhu D, Snead ML, Zhou Y. Leucine-rich amelogenin peptide induces osteogenesis in mouse embryonic stem cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008;367(1):1-6.
72. Tan J, Leung W, Moradian-Oldak J, Zeichner-David M, Fincham A. The pH dependent amelogenin solubility and its biological significance. *Connective tissue research*. 1998;38(1-4):215-21.
73. Tan J, Leung W, Moradian-Oldak J, Zeichner-David M, Fincham A. Quantitative analysis of amelogenin solubility. *Journal of dental research*. 1998;77(6):1388-96.
74. Tecilla P, Dixon RP, Slobodkin G, Alavi DS, Waldeck DH, Hamilton AD. Hydrogen-bonding self-assembly of multichromophore structures. *Journal of the American Chemical Society*. 1990;112(25):9408-10.
75. Subramani K, Ahmed W. Self-Assembly of Proteins and Peptides and Their Applications in Bionanotechnology and Dentistry. *Emerging Nanotechnologies in Dentistry*: Elsevier; 2012. p. 209-24.
76. Zhang S. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. *Nature biotechnology*. 2003;21(10):1171.
77. Whitesides GM, Grzybowski B. Self-assembly at all scales. *Science*. 2002;295(5564):2418-21.
78. Pelesko JA. Self assembly: the science of things that put themselves together: Chapman and Hall/CRC; 2007.
79. Moradian-Oldak J, Goldberg M. Amelogenin supra-molecular assembly in vitro compared with the architecture of the forming enamel matrix. *Cells Tissues Organs*. 2005;181(3-4):202-18.
80. Fincham A, Moradian-Oldak J, Diekwisch T, Lyaruu D, Wright J, Bringas Jr P, et al. Evidence for amelogenin" nanospheres" as functional components of secretory-stage enamel matrix. *Journal of structural biology*. 1995;115(1):50-9.
81. Moradian-Oldak J, Paine M, Lei Y, Fincham A, Snead M. Self-assembly properties of recombinant engineered amelogenin proteins analyzed by dynamic light scattering and atomic force microscopy. *Journal of structural biology*. 2000;131(1):27-37.
82. Palmer LC, Newcomb CJ, Kaltz SR, Spoerke ED, Stupp SI. Biomimetic systems for hydroxyapatite mineralization inspired by bone and enamel. *Chemical reviews*. 2008;108(11):4754-83.
83. Bartlett JD, Ganss B, Goldberg M, Moradian-Oldak J, Paine ML, Snead ML, et al. Protein-protein interactions of the developing enamel matrix. *Current topics in developmental biology*. 2006;74:57-115.
84. Černý R, Slaby I, Hammarström L, Wurtz T. A novel gene expressed in rat ameloblasts codes for proteins with cell binding domains. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1996;11(7):883-91.

85. Krebsbach PH, Lee SK, Matsuki Y, Kozak CA, Yamada KM, Yamada Y. Full-length sequence, localization, and chromosomal mapping of ameloblastin a novel tooth-specific gene. *Journal of Biological Chemistry*. 1996;271(8):4431-5.
86. Fong CD, Černý R, Hammarström L, Slaby I. Sequential expression of an amelin gene in mesenchymal and epithelial cells during odontogenesis in rats. *European journal of oral sciences*. 1998;106(S1):324-30.
87. Fukumoto S, Kiba T, Hall B, Iehara N, Nakamura T, Longenecker G, et al. Ameloblastin is a cell adhesion molecule required for maintaining the differentiation state of ameloblasts. *The Journal of cell biology*. 2004;167(5):973-83.
88. Fukumoto S, Yamada A, Nonaka K, Yamada Y. Essential roles of ameloblastin in maintaining ameloblast differentiation and enamel formation. *Cells Tissues Organs*. 2005;181(3-4):189-95.
89. Fukumoto S, Kiba T, Hall B, Iehara N, Nakamura T, Longenecker G, et al. Ameloblastin is a cell adhesion molecule required for maintaining the differentiation state of ameloblasts. *J Cell Biol*. 2004;167(5):973-83.
90. Paine ML, Wang H-J, Luo W, Krebsbach PH, Snead ML. A transgenic animal model resembling amelogenesis imperfecta related to ameloblastin overexpression. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(21):19447-52.
91. Hu C-C, Fukae M, Uchida T, Qian Q, Zhang C, Ryu O, et al. Sheathlin: cloning, cDNA/polypeptide sequences, and immunolocalization of porcine enamel sheath proteins. *Journal of dental research*. 1997;76(2):648-57.
92. Fukae M, Tanabe T. Nonamelogenin components of porcine enamel in the protein fraction free from the enamel crystals. *Calcified tissue international*. 1987;40(5):286-93.
93. Hu C-C, Fukae M, Uchida T, Qian Q, Zhang C, Ryu O, et al. Cloning and characterization of porcine enamelin mRNAs. *Journal of dental research*. 1997;76(11):1720-9.
94. Simmer JP, Hu JC-C. Expression, structure, and function of enamel proteinases. *Connective tissue research*. 2002;43(2-3):441-9.
95. Tanabe T, Fukae M, Uchida T, Shimizu M. The localization and characterization of proteinases for the initial cleavage of porcine amelogenin. *Calcified tissue international*. 1992;51(3):213-7.
96. Fukae M, Tanabe T, Murakami C, Dohi N, Uchida T, Shimizu M. Primary structure of the porcine 89-kDa enamelin. *Advances in dental research*. 1996;10(2):111-8.
97. UCHIDA T, TANABE T, FUKAE M, SHIMIZU M. Immunocytochemical and immunochemical detection of a 32kDa nonamelogenin and related proteins in porcine tooth germs. *Archives of histology and cytology*. 1991;54(5):527-38.
98. Wang H, Tannukit S, Zhu D, Snead ML, Paine ML. Enamel matrix protein interactions. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2005;20(6):1032-40.
99. Deutsch D, Leiser Y, Shay B, Fermon E, Taylor A, Rosenfeld E, et al. The human tuftelin gene and the expression of tuftelin in mineralizing and nonmineralizing tissues. *Connective tissue research*. 2002;43(2-3):425-34.
100. Abbarin N, San Miguel S, Holcroft J, Iwasaki K, Ganss B. The enamel protein amelotin is a promoter of hydroxyapatite mineralization. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2015;30(5):775-85.
101. Nakayama Y, Holcroft J, Ganss B. Enamel hypomineralization and structural defects in amelotin-deficient mice. *Journal of dental research*. 2015;94(5):697-705.
102. He G, George A. Dentin matrix protein 1 immobilized on type I collagen fibrils facilitates apatite deposition in vitro. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(12):11649-56.
103. White SN, Paine ML, Ngan AY, Miklus VG, Luo W, Wang H, et al. Ectopic expression of dentin sialoprotein during amelogenesis hardens bulk enamel. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(8):5340-5.

104. Jonsson M, Fredriksson S, Jontell M, Linde A. Isoelectric focusing of the phosphoprotein of rat-incisor dentin in ampholine and acid pH gradients: Evidence for carrier ampholyte—protein complexes. *Journal of Chromatography A*. 1978;157:235-42.
105. Stetler-Stevenson W, Veis A. Bovine dentin phosphophoryn: calcium ion binding properties of a high molecular weight preparation. *Calcified tissue international*. 1987;40(2):97-102.
106. Kuboki Y, Fujisawa R, Aoyama K, Sasaki S. Calcium-specific precipitation of dentin phosphoprotein: a new method of purification and the significance for the mechanism of calcification. *Journal of dental Research*. 1979;58(9):1926-32.
107. Lussi A, Crenshaw M, Linde A. Induction and inhibition of hydroxyapatite formation by rat dentine phosphoprotein in vitro. *Archives of oral biology*. 1988;33(9):685-91.
108. George A, Bannon L, Sabsay B, Dillon JW, Malone J, Veis A, et al. The carboxyl-terminal domain of phosphophoryn contains unique extended triplet amino acid repeat sequences forming ordered carboxyl-phosphate interaction ridges that may be essential in the biomineralization process. *Journal of Biological Chemistry*. 1996;271(51):32869-73.
109. Yarbrough DK, Hagerman E, Eckert R, He J, Choi H, Cao N, et al. Specific binding and mineralization of calcified surfaces by small peptides. *Calcified tissue international*. 2010;86(1):58-66.
110. Sikes CS, Wheeler A. Surface reactive peptides and polymers: discovery and commercialization: ACS Publications; 1991.
111. He G, Dahl T, Veis A, George A. Nucleation of apatite crystals in vitro by self-assembled dentin matrix protein 1. *Nature materials*. 2003;2(8):552-8.
112. Qiu S, Wierzbicki A, Orme C, Cody A, Hoyer J, Nancollas G, et al. Molecular modulation of calcium oxalate crystallization by osteopontin and citrate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004;101(7):1811-5.
113. Boanini E, Fini M, Gazzano M, Bigi A. Hydroxyapatite nanocrystals modified with acidic amino acids. *European journal of inorganic chemistry*. 2006;2006(23):4821-6.
114. Prasad M, Butler WT, Qin C. Dentin sialophosphoprotein in biomineralization. *Connective tissue research*. 2010;51(5):404-17.
115. Lunt RC, Law DB. A review of the chronology of calcification of deciduous teeth. *The Journal of the American Dental Association*. 1974;89(3):599-606.
116. De Menezes Oliveira MAH, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FCH, Palma-Dibb RG, et al. Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microscopy research and technique*. 2010;73(5):572-7.
117. Birch W. Incremental growth of deciduous tooth enamel: UCL (University College London); 2012.
118. Rajendran R. *Shafer's textbook of oral pathology*: Elsevier India; 2009.
119. Lindén L, Björkman S, Hattab F. The diffusion in vitro of fluoride and chlorhexidine in the enamel of human deciduous and permanent teeth. *Archives of oral biology*. 1986;31(1):33-7.
120. Lynch RJ. The primary and mixed dentition, post-eruptive enamel maturation and dental caries: a review. *International dental journal*. 2013;63:3-13.
121. Radlanski RJ, Renz H. Developmental movements of the inner enamel epithelium as derived from micromorphological features. *European Journal of Oral Sciences*. 2006;114:343-8.
122. Küçükeşmen Ç, Erdoğan Y. Süt ve daimi dişlerde bağlayıcı ajanların etkinliği, biyouyumluluğu ve sitotoksitesisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2009;16(1):48-55.
123. Shellis R. Relationship between human enamel structure and the formation of caries-like lesions in vitro. *Archives of Oral Biology*. 1984;29(12):975-81.
124. Arends J, Jongebloed W. Crystallites dimensions of enamel. *Journal de biologie buccale*. 1978;6(3):161-71.

125. Ripa LW. The histology of the early carious lesion in primary teeth with special reference to a "prismless" outer layer of primary enamel. *Journal of dental research*. 1966;45(1):5-11.
126. Von der Fehr F. Experimental caries in man. *Caries Res*. 1970;4:131-48.
127. Marquis R, Burne R, Parsons D, Casiano-Colon A. Arginine deiminase and alkali generation in plaque. *Cariology for the nineties University of Rochester Press, Rochester, NY*. 1993:309-17.
128. Dawes C. Inorganic constituents of saliva in relation to caries. *Cariology Today: Karger Publishers; 1984. p. 70-4.*
129. Dawes C. An analysis of factors influencing diffusion from dental plaque into a moving film of saliva and the implications for caries. *Journal of Dental Research*. 1989;68(11):1483-8.
130. Seow WK. Biological mechanisms of early childhood caries. *Community dentistry and oral epidemiology*. 1998;26(S1):8-27.
131. Llena Puy MC. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. 2006.
132. Zabokova-Bilbilova E, Bajraktarova B, Sotirovska-Ivkovska A, Fildisevski A. Analysis of buffer value of bicarbonate in saliva. *Balkan Journal of Stomatology*. 2007;11(3):167-70.
133. CAN M, CAN HE, AYHAN H, ÖMÜRLÜ H. Çürüğe Eğilimli ve Çürüğe Dirençli Bireylerin Tükürük Alkalen Fosfataz Aktiviteleri ile Kalsiyum ve Fosfor Seviyelerinin Değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri Diş Hekimliği Bilimleri Dergisi*. 1997;3(1):38-40.
134. Kidd EA, Fejerskov O. Dental caries: The disease and its clinical management: Blackwell Munksgaard; 2003.
135. de Almeida PDV, Gregio A, Machado M, De Lima A, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9(3):72-80.
136. Lilienthal B. An analysis of the buffer systems in saliva. *Journal of Dental Research*. 1955;34(4):516-30.
137. ÖZKOÇAK BBC, KARAARSLAN EŞ, AYTAÇ F. Tükürük Proteinleri ve Çürük Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri Diş Hekimliği Bilimleri Dergisi*. 2017;23(1):56-64.
138. Lucas VS, Roberts GJ. Oro-dental health in children with chronic renal failure and after renal transplantation: a clinical review. *Pediatric Nephrology*. 2005;20(10):1388-94.
139. Seif RT. *Cariología: prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental*. 1997.
140. Liébana J, González M, Liébana M, Parra L. Composición y ecología de la microbiota oral. *Microbiología oral 2ª ed Madrid MacGraw-Hill-Interamericana*. 2002:515-25.
141. Thylstrup A, Fejerskov O. *Textbook of clinical cariology*. 1994.
142. Aoba T. Solubility properties of human tooth mineral and pathogenesis of dental caries. *Oral diseases*. 2004;10(5):249-57.
143. Sabel N. Enamel of primary teeth-morphological and chemical aspects 2012.
144. Cengiz T. *Endodonti*. Barış yayınları fakülteler kitapevi. İzmir, 1996;4.Baskı.
145. YIKILGAN İ, KILIÇ HS. Diş Çürüğü ve Diş Sert Dokuları. *Türkiye Klinikleri Restoratif Diş Tedavisi-Özel Konular*. 2016;2(1):5-8.
146. Garg N, Garg A. *Textbook of operative dentistry: Boydell & Brewer Ltd; 2010.*
147. LeGeros R. 7. Calcium Phosphates in Dental Calculus and Dental Caries. *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*. 15: Karger Publishers; 1991. p. 130-53.
148. Featherstone J. The continuum of dental caries—evidence for a dynamic disease process. *Journal of dental research*. 2004;83(1_suppl):39-42.
149. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *The Lancet*. 2007;369(9555):51-9.
150. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries research*. 2004;38(3):182-91.

151. Kidd E, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *Journal of dental research*. 2004;83(1_suppl):35-8.
152. Veis A. A window on biomineralization. *Science*. 2005;307(5714):1419-20.
153. Verde AV, Ramos M, Stoneham A. The role of mesoscopic modelling in understanding the response of dental enamel to mid-infrared radiation. *Physics in Medicine & Biology*. 2007;52(10):2703.
154. Bonchev A VR, Simeonov M. Review: A Biomimetic Approach for Human Enamel Remineralization. *International Journal of Science and Research (IJSR)*. 2018.
155. Wu S, Yu M, Li M, Wang L, Putnis CV, Putnis A. In situ atomic force microscopy imaging of octacalcium phosphate crystallization and its modulation by amelogenin's c-terminus. *Crystal Growth & Design*. 2017;17(4):2194-202.
156. Cao Y, Liu W, Ning T, Mei ML, Li Q-L, Lo EC, et al. A novel oligopeptide simulating dentine matrix protein 1 for biomimetic mineralization of dentine. *Clinical oral investigations*. 2014;18(3):873-81.
157. Harding J, Duffy D. The challenge of biominerals to simulations. *Journal of Materials Chemistry*. 2006;16(12):1105-12.
158. Chu J, Feng X, Guo H, Zhang T, Zhao H, Zhang Q. Remineralization efficacy of an amelogenin-based synthetic peptide on carious lesions. *Frontiers in physiology*. 2018;9:842.
159. Iijima M, Moradian-Oldak J. Control of apatite crystal growth in a fluoride containing amelogenin-rich matrix. *Biomaterials*. 2005;26(13):1595-603.
160. Ruan Q, Siddiqah N, Li X, Nutt S, Moradian-Oldak J. Amelogenin–chitosan matrix for human enamel regrowth: effects of viscosity and supersaturation degree. *Connective tissue research*. 2014;55(sup1):150-4.
161. Ruan Q, Zhang Y, Yang X, Nutt S, Moradian-Oldak J. An amelogenin–chitosan matrix promotes assembly of an enamel-like layer with a dense interface. *Acta biomaterialia*. 2013;9(7):7289-97.
162. Chung H-Y, Li C-C, Hsu C-C. Characterization of the effects of 3DSS peptide on remineralized enamel in artificial saliva. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 2012;6:74-9.
163. Hsu C, Chung H, Yang J-M, Shi W, Wu B. Influence of 8DSS peptide on nano-mechanical behavior of human enamel. *Journal of dental research*. 2011;90(1):88-92.
164. Hsu C-C, Chung H-Y, Yang J-M, Shi W, Wu B. Influences of ionic concentration on nanomechanical behaviors for remineralized enamel. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 2011;4(8):1982-9.
165. Gao Y, Liang K, Weir MD, Gao J, Imazato S, Tay FR, et al. Enamel remineralization via poly (amido amine) and adhesive resin containing calcium phosphate nanoparticles. *Journal of Dentistry*. 2020;92:103262.
166. BULUT M, Ezgi A. Dendrimerlerin önemi ve kullanım alanları. *Teknik Bilimler Dergisi*. 2012;2(1):5-11.
167. Ruan Q, Moradian-Oldak J. Amelogenin and enamel biomimetics. *Journal of Materials Chemistry B*. 2015;3(16):3112-29.
168. Yang S, He H, Wang L, Jia X, Feng H. Oriented crystallization of hydroxyapatite by the biomimetic amelogenin nanospheres from self-assemblies of amphiphilic dendrons. *Chemical Communications*. 2011;47(36):10100-2.
169. Yang J, Cao S, Li J, Xin J, Chen X, Wu W, et al. Staged self-assembly of PAMAM dendrimers into macroscopic aggregates with a microribbon structure similar to that of amelogenin. *Soft Matter*. 2013;9(31):7553-9.
170. Yang X, Shang H, Ding C, Li J. Recent developments and applications of bioinspired dendritic polymers. *Polymer Chemistry*. 2015;6(5):668-80.

171. Wright JT, Li Y, Suggs C, Kuehl MA, Kulkarni AB, Gibson CW. The role of amelogenin during enamel-crystallite growth and organization in vivo. *European journal of oral sciences*. 2011;119:65-9.
172. Chen L, Liang K, Li J, Wu D, Zhou X, Li J. Regeneration of biomimetic hydroxyapatite on etched human enamel by anionic PAMAM template in vitro. *Archives of oral biology*. 2013;58(8):975-80.
173. Li L, Mao C, Wang J, Xu X, Pan H, Deng Y, et al. Bio-Inspired Enamel Repair via Glu-Directed Assembly of Apatite Nanoparticles: an Approach to Biomaterials with Optimal Characteristics. *Advanced Materials*. 2011;23(40):4695-701.
174. Cheng Z, Buentello A, Gatlin III DM. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*. 2011;319(1-2):247-52.
175. Luiking YC, Poeze M, Dejong CH, Ramsay G, Deutz NE. Sepsis: an arginine deficiency state? *Critical care medicine*. 2004;32(10):2135-45.
176. Brookes S, Robinson C, Kirkham J, Bonass W. Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. *Archives of oral biology*. 1995;40(1):1-14.
177. 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. *Archives of oral biology*. 2015;60(10):1482-7.
178. Vickers NJ. Animal communication: when i'm calling you, will you answer too? *Current biology*. 2017;27(14):R713-R5.
179. Nagarathana C, Sakunthala B, Naveena Preethi P. An update on current remineralizing agent. *OHDM*. 2015;14(4):183-7.
180. Walsh LJ. Contemporary technologies for remineralization therapies: A review. *Int Dent SA*. 2009;11(6):6-16.
181. Zero DT, editor *Dentifrices, mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies*. BMC Oral health; 2006: Springer.
182. Akgün ÖM, Görgülü S, Altun C. Diş çürüğüne karşı koruyucu flor uygulamaları Protective flouride applications against dental caries.
183. Iafisco M, Degli Esposti L, Ramírez-Rodríguez GB, Carella F, Gómez-Morales J, Ionescu AC, et al. Fluoride-doped amorphous calcium phosphate nanoparticles as a promising biomimetic material for dental remineralization. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-9.
184. Rao A, Malhotra N. The role of remineralizing agents in dentistry: a review. *Compendium*. 2011;32(6):27-34.
185. Lynch R, Navada R, Walia R. Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes. *International dental journal*. 2004;54(S5):304-9.
186. Ten Cate J. Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *British dental journal*. 2013;214(4):161.
187. CİVELEK A, Emre Ö, ÇILDIR ŞK. Diş Hekimliğinde Topikal Florür Uygulamaları. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2004;5(2).
188. O Mullane D, Baez R, Jones S, Lennon M, Petersen PE, Rugg-Gunn A, et al. Fluoride and oral health. *Community dental health*. 2016;33(2):69-99.
189. Hellwig E, Lennon A. Systemic versus topical fluoride. *Caries research*. 2004;38(3):258-62.
190. Nitta N, Yamaki M, Sawano S, Nakawa S. Action of a fluorine lacquer (Duraphat) on the enamel surface. *Hiroshima Daigaku shigaku zasshi The Journal of Hiroshima University Dental Society*. 1969;1(2):166.
191. Mohd Said SN, Ekambaram M, Yiu CK. Effect of different fluoride varnishes on remineralization of artificial enamel carious lesions. *International Journal of Paediatric Dentistry*. 2017;27(3):163-73.

192. Bonetti D, Clarkson JE. Fluoride varnish for caries prevention: efficacy and implementation. *Caries Research*. 2016;50(Suppl. 1):45-9.
193. Øgaard B, Seppä L, Rolla G. Professional topical fluoride applications—clinical efficacy and mechanism of action. *Advances in dental research*. 1994;8(2):190-201.
194. ARAS ŞTD, SÜTLAŞ ŞAHİN EY. Başlangıç mine lezyonlarının tedavisinde florid ilave edilmiş Kazein Fosfopeptit Amorfoz Kalsiyum Fosfat (CPP-ACPF ile floridli süt ve suyun etkinliğinin araştırılması: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Pedodonti Anabilim Dalı.
195. GÜNDOĞAR ZU, YILDIZ E. Diş Hekimliğinde Fluoridler. *Türkiye Klinikleri Çocuk Diş Hekimliği-Özel Konular*. 2015;1(1):111-7.
196. Bruun C, Thylstrup A, Uribe E. Loosely bound fluoride extracted from natural carious lesions after topical application of APF in vitro. *Caries research*. 1983;17(5):458-60.
197. Ercan E, Baglar S, Colak H. Diş hekimliğinde topikal florür uygulama metotları. *Cumhuriyet Dental Journal*. 2011;13(1).
198. Svatun B, Attramadal A. The effect of stannous fluoride on human plaque acidogenicity in situ (Stephan curve). *Acta Odontologica Scandinavica*. 1978;36(4):211-8.
199. Exterkate RA, Ten Cate JM. Effects of a new titanium fluoride derivative on enamel de-and remineralization. *European journal of oral sciences*. 2007;115(2):143-7.
200. Zhao IS, Gao SS, Hiraishi N, Burrow MF, Duangthip D, Mei ML, et al. Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. *International dental journal*. 2018;68(2):67-76.
201. Gültekin F, Öner ME, Savaş HB, Doğan B. Tatlandırıcılar, Glikoz İntoleransı ve Mikrobiyota. *Journal of Biotechnology And Strategic Health Research*. 2017;1:34-8.
202. Hildebrandt G, Lee I. Xylitol containing oral products for preventing dental caries [protocol]. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;1:CD004620.
203. Gültekin F. A'dan Z'ye GIDA KATKI MADDELERİ (Ansiklopedik Sözlük): Server İletişim; 2014.
204. Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan S. Comparison of the remineralization potential of CPP–ACP and CPP–ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: an in situ study. *Archives of oral biology*. 2010;55(7):541-4.
205. Farooq I, Moheet IA, Imran Z, Farooq U. A review of novel dental caries preventive material: Casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP–ACP) complex. *King saud university journal of dental sciences*. 2013;4(2):47-51.
206. Bijle MNA, Ekambaram M, Lo EC, Yiu CKY. The combined enamel remineralization potential of arginine and fluoride toothpaste. *Journal of dentistry*. 2018;76:75-82.
207. Amaechi BT. Remineralization therapies for initial caries lesions. *Current Oral Health Reports*. 2015;2(2):95-101.
208. Goswami M, Saha S, Chaitra T. Latest developments in non-fluoridated remineralizing technologies. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 2012;30(1):2.
209. Zhang J, Boyes V, Festy F, Lynch RJ, Watson TF, Banerjee A. In-vitro subsurface remineralisation of artificial enamel white spot lesions pre-treated with chitosan. *Dental Materials*. 2018;34(8):1154-67.
210. Chu J, Li J, Hao Y, Zhou X. Effect of compounds of *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel carious lesions in vitro. *Journal of dentistry*. 2007;35(5):383-7.
211. Park YK, Koo MH, Abreu JA, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Current microbiology*. 1998;36(1):24-8.
212. Amalina R, Soekanto SA, Gunawan HA, Sahlan M. Analysis of CPP-ACP Complex in Combination with Propolis to Remineralize Enamel. *Journal of International Dental and Medical Research*. 2017;10:814-9.

213. Hayacibara MF, Koo H, Rosalen PL, Duarte S, Franco EM, Bowen WH, et al. In vitro and in vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;101(1-3):110-5.
214. Güngör öE, Kirzioğlu Z, Dinçer E, Kivanç M. Who will win the race in childrens' oral cavities? *Streptococcus mutans* or beneficial lactic acid bacteria? *Beneficial Microbes*. 2013;4(3):237-45.
215. Köymen SS, Kazak M. Effect of Probiotics on the Formation of Dental Caries. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*. 2019;7(9):1295-9.
216. Gungor O, Kirzioglu Z, Kivanc M. Probiotics: can they be used to improve oral health? *Beneficial microbes*. 2015;6(5):647-56.
217. Amaechi B, Porteous N, Ramalingam K, Mensinkai P, Vasquez RC, Sadeghpour A, et al. Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Research*. 2013;47(5):399-405.
218. Arifa MK, Ephraim R, Rajamani T. Recent Advances in Dental Hard Tissue Remineralization: A Review of Literature. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2019;12(2):139.
219. Cao CY, Mei ML, Li Q-I, Lo ECM, Chu CH. Methods for biomimetic mineralisation of human enamel: a systematic review. *Materials*. 2015;8(6):2873-86.
220. Zadora G, Brożek-Mucha Z. SEM–EDX—a useful tool for forensic examinations. *Materials chemistry and physics*. 2003;81(2-3):345-8.
221. Elkassas D, Arafa A. Remineralizing efficacy of different calcium-phosphate and fluoride based delivery vehicles on artificial caries like enamel lesions. *Journal of dentistry*. 2014;42(4):466-74.
222. Jiao X, Roiban L, Foray G, Masenelli-Varlot K. Electron tomography on latex particles suspended in water using environmental scanning electron microscopy. *Micron*. 2019;117:60-7.
223. Lo E, Zhi Q, Itthagarun A. Comparing two quantitative methods for studying remineralization of artificial caries. *Journal of dentistry*. 2010;38(4):352-9.
224. Hsu DJ, Darling CL, Lachica MM, Fried D. Nondestructive assessment of the inhibition of enamel demineralization by CO2 laser treatment using polarization sensitive optical coherence tomography. *Journal of biomedical optics*. 2008;13(5):054027.
225. Manesh SK, Darling CL, Fried D. Nondestructive assessment of dentin demineralization using polarization-sensitive optical coherence tomography after exposure to fluoride and laser irradiation. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2009;90(2):802-12.
226. Wefel J, Heilman J, Jordan T. Comparisons of in vitro root caries models. *Caries research*. 1995;29(3):204-9.
227. Silverstone LM. Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries-like lesions. *Caries research*. 1967;1(3):261-74.
228. Wefel J, Harless J. Comparison of artificial white spots by microradiography and polarized light microscopy. *Journal of dental research*. 1984;63(11):1271-5.
229. Sønju Clasen A, Øgaard B, Duschner H, Ruben J, Arends J, Sønju T. Caries development in fluoridated and non-fluoridated deciduous and permanent enamel in situ examined by microradiography and confocal laser scanning microscopy. *Advances in dental research*. 1997;11(4):442-7.
230. Watson T. Applications of confocal scanning optical microscopy to dentistry. *British dental journal*. 1991;171(9):287-91.
231. Duschner H, Ernst C-P, Götz H, Rauscher M. Advanced techniques of micro-analysis and confocal microscopy: perspectives for studying chemical and structural changes at the

interface between restorative materials and the cavity wall. *Advances in dental research*. 1995;9(4):355-62.

232. Anderson P, Dowker S, Elliott J, Dibdin G. A Method for Measuring Local Diffusion Coefficients of Potassium Iodide in Aqueous Solution Within a Glass Frit by X-Ray Scanning Microradiography. *X-Ray Microscopy III*: Springer; 1992. p. 435-7.

233. Amaechi BT, Higham SM. Quantitative light-induced fluorescence: a potential tool for general dental assessment. *Journal of biomedical optics*. 2002;7(1):7-14.

234. Varanda E, Do Prado M, Simão RA, Dias KRHC. Effect of in-office bleaching agents on the surface roughness and morphology of different dental composites: An AFM study. *Microscopy research and technique*. 2013;76(5):481-5.

235. Poggio C, Ceci M, Beltrami R, Lombardini M, Colombo M. Atomic force microscopy study of enamel remineralization. *Annali di stomatologia*. 2014;5(3):98.

236. Chunmuang S, Jitpukdeebodintr S, Chuenarrom C, Benjakul P. Effect of xylitol and fluoride on enamel erosion in vitro. *Journal of oral science*. 2007;49(4):293-7.

237. Faraoni-Romano JJ, Turssi CP, Serra MC. Concentration-dependent effect of bleaching agents on microhardness and roughness of enamel and dentin. *American Journal of Dentistry*. 2007;20(1):31-4.

238. Attin T, Meyer K, Hellwig E, Buchalla W, Lennon A. Effect of mineral supplements to citric acid on enamel erosion. *Archives of oral biology*. 2003;48(11):753-9.

239. Maia E, Baratieri LN, de Andrada MAC, Monteiro Jr S, Vieira LCC. The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness: an in situ study. *Journal of Dentistry*. 2008;36(1):2-7.

240. Abdullah A, Strafford S, Brookes S, Duggal M. The effect of copper on demineralization of dental enamel. *Journal of dental research*. 2006;85(11):1011-5.

241. Lupi-Pegurier L, Muller M, Leforestier E, Bertrand M, Bolla M. In vitro action of Bordeaux red wine on the microhardness of human dental enamel. *Archives of oral biology*. 2003;48(2):141-5.

242. Toledano M, Osorio R, Osorio E, Prati C, Carvalho RM. Microhardness of acid-treated and resin infiltrated human dentine. *Journal of dentistry*. 2005;33(4):349-54.

243. Oliveira LD, Carvalho CAT, Nunes W, Valera MC, Camargo CHR, Jorge AOC. Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2007;104(4):e125-e8.

244. Aydın B, Pamir T, Baltacı A, Orman MN, Turk T. Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *European journal of dentistry*. 2015;9(02):262-6.

245. Mende F, Seitz O. 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-based solid-phase synthesis of peptide α -thioesters. *Angewandte Chemie International Edition*. 2011;50(6):1232-40.

246. Ten Cate J, Duijsters P. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Research*. 1982;16(3):201-10.

247. de Mello Vieira AE, Delbem ACB, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries research*. 2005;39(6):514-20.

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

249. Kind L, Stevanovic S, Wuttig S, Wimberger S, Hofer J, Müller B, et al. Biomimetic remineralization of carious lesions by self-assembling peptide. *Journal of dental research*. 2017;96(7):790-7.

250. González-Cabezas C. The chemistry of caries: remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dental Clinics*. 2010;54(3):469-78.

251. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi EF. Florozis Üzerine Antropolojik Bir Değerlendirme.

252. Neves VC, Babb R, Chandrasekaran D, Sharpe PT. Promotion of natural tooth repair by small molecule GSK3 antagonists. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-7.
253. Buzalaf MAR, Hannas AR, Magalhães AC, 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. *Journal of Applied Oral Science*. 2010;18(4):316-34.
254. White D. The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Advances in dental research*. 1995;9(3):175-93.
255. Cummins D. Working group report 3: Role of models in assessing new agents for caries prevention. *Advances in dental research*. 1995;9(3):338-9.
256. White D. The comparative sensitivity of intra-oral, in vitro, and animal models in the 'profile' evaluation of topical fluorides. *Journal of dental research*. 1992;71(3_suppl):884-94.
257. Featherstone J. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dental Materials*. 1996;12(3):194-7.
258. Diamanti I, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Vougiouklakis G. Effect of fluoride and of calcium sodium phosphosilicate toothpastes on pre-softened dentin demineralization and remineralization in vitro. *Journal of dentistry*. 2010;38(8):671-7.
259. Diamanti I, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Vougiouklakis G. In vitro evaluation of fluoride and calcium sodium phosphosilicate toothpastes, on root dentine caries lesions. *Journal of dentistry*. 2011;39(9):619-28.
260. Kyle S, Aggeli A, Ingham E, McPherson MJ. Production of self-assembling biomaterials for tissue engineering. *Trends in biotechnology*. 2009;27(7):423-33.
261. Sindhura V, Uloopi K, Vinay C, Chandrasekhar R. Evaluation of enamel remineralizing potential of self-assembling peptide P11-4 on artificially induced enamel lesions in vitro. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 2018;36(4):352.
262. Alkilzy M, Tarabaih A, Santamaria R, Splieth C. Self-assembling peptide P11-4 and fluoride for regenerating enamel. *Journal of dental research*. 2018;97(2):148-54.
263. Ceci M, Mirando M, Beltrami R, Chiesa M, Colombo M, Poggio C. Effect of self-assembling peptide P11-4 on enamel erosion: AFM and SEM studies. *Scanning*. 2016;38(4):344-51.
264. Suda S, Takamizawa T, Takahashi F, Tsujimoto A, Akiba S, Nagura Y, et al. Application of the self-assembling peptide P11-4 for prevention of acidic erosion. *Operative dentistry*. 2018;43(4):E166-E72.
265. Kamal D, Hassanein H, Elkassas D, Hamza H. Complementary remineralizing effect of self-assembling peptide (P11-4) with CPP-ACPF or fluoride: An in vitro study. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*. 2020;12(2):e161.
266. Ancira-Gonzalez L, Esparza-Villalpando V, Garrocho-Rangel A, Pozos-Guillen A. White Spot Lesion Remineralisation Agents in Primary Teeth: A Systematic Review. *Oral Health Prev Dent*. 2018;16(5):391-400.
267. Brunton P, Davies R, Burke J, Smith A, Aggeli A, Brookes S, et al. Treatment of early caries lesions using biomimetic self-assembling peptides—a clinical safety trial. *British dental journal*. 2013;215(4):E6.
268. Hegde MN, Shetty S, Pardal D. Remineralization of enamel sub-surface lesion using casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate (CPP-ACP)-a quantitative energy dispersive X-ray analysis (EDAX). *Journal of Conservative Dentistry*. 2007;10(1):19.
269. Shaik ZA, Rambabu T, Sajjan G, Varma M, Satish K, Raju VB, et al. Quantitative analysis of remineralization of artificial carious lesions with commercially available newer remineralizing agents using SEM-EDX-in vitro study". *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 2017;11(4):ZC20.
270. Manoharan V, Kumar RK, Sivanraj AK, Arumugam SB. Comparative evaluation of remineralization potential of casein phosphopeptide-amorphous calcium fluoride

phosphate and novamin on artificially demineralized human enamel: An In vitro study. *Contemporary clinical dentistry*. 2018;9(Suppl 1):S58.

271. Babaji P, Melkundi M, Bhagwat P, Mehta V. An in Vitro Evaluation of Remineralizing Capacity of Self-Assembling Peptide (SAP) P11-4 and Casein Phosphopeptides-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on Artificial Enamel. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*. 2019;19.

272. Keskin G, Güler Ç, Yıldırım S. Is it possible to regain lost minerals to initial enamel lesions using Enamel Matrix Derivatives combined with Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate: an in vitro study. 2018.

273. Soares R, De Ataíde IDN, Fernandes M, Lambor R. Assessment of enamel remineralisation after treatment with four different remineralising agents: A Scanning Electron Microscopy (SEM) Study. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 2017;11(4):ZC136.

274. Kamal D, Hassanein H, Elkassas D, Hamza H. Comparative evaluation of remineralizing efficacy of biomimetic self-assembling peptide on artificially induced enamel lesions: An in vitro study. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2018;21(5):536.

275. Stoleriu S, Iovan G, Pancu G, Nica I, Georgescu A, Tofan N, et al. Study Regarding the Capacity of Self-assembling Peptides to Remineralize the Acute and Chronic Incipient Caries Lesions. *REVISTA DE CHIMIE*. 2019;70(8):3073-6.

276. Deyhle H, Dziadowiec I, Kind L, Thalmann P, Schulz G, Müller B. Mineralization of early stage carious lesions in vitro—a quantitative approach. *Dentistry Journal*. 2015;3(4):111-22.

277. Brunton P, Davies R, Burke J, Smith A, Aggeli A, Brookes S, et al. Treatment of early caries lesions using biomimetic self-assembling peptides—a clinical safety trial. *British dental journal*. 2013;215(4):E6-E.

278. Jablonski-Momeni A, Heinzl-Gutenbrunner M. Efficacy of the self-assembling peptide P11-4 in constructing a remineralization scaffold on artificially-induced enamel lesions on smooth surfaces. *Journal of Orofacial Orthopedics/Fortschritte der Kieferorthopädie*. 2014;75(3):175-90.

279. Schlee M, Schad T, Koch JH, Cattin PC, Rathe F. Clinical performance of self-assembling peptide P11-4 in the treatment of initial proximal carious lesions: A practice-based case series. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*. 2018;9(1):e12286.

280. Doberdoli D, Bommer C, Begzati A, Haliti F, Heinzl-Gutenbrunner M, Juric H. Randomized Clinical Trial investigating Self-Assembling Peptide P 11-4 for Treatment of Early Occlusal Caries. *Scientific reports*. 2020;10(1):1-9.

281. Hsu C-C, Chung H-Y, Hagerman EM, Shi W, Yang J-M, Wu B, editors. Effects on hardness and elastic modulus for DSS-8 peptide treatment on remineralization of human dental tissues. *Materials Research Society symposia proceedings Materials Research Society*; 2008: NIH Public Access.

282. Shafiei F, Hossein BG, Farajollahi MM, Fathollah M, Marjan B, Tahereh JK. Leucine-rich amelogenin peptide (LRAP) as a surface primer for biomimetic remineralization of superficial enamel defects: an in vitro study. *Scanning*. 2015;37(3):179-85.

283. Shiraga H, Min W, VanDusen W, Clayman M, Miner D, Terrell C, et al. Inhibition of calcium oxalate crystal growth in vitro by uropontin: another member of the aspartic acid-rich protein superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1992;89(1):426-30.

284. Tarasevich BJ, Lea S, Shaw WJ. The leucine rich amelogenin protein (LRAP) adsorbs as monomers or dimers onto surfaces. *Journal of structural biology*. 2010;169(3):266-76.

285. Masica DL, Gray JJ, Shaw WJ. Partial high-resolution structure of phosphorylated and non-phosphorylated leucine-rich amelogenin protein adsorbed to hydroxyapatite. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2011;115(28):13775-85.

286. Meyer JL, Nancollas GH. The influence of multidentate organic phosphonates on the crystal growth of hydroxyapatite. *Calcified tissue research*. 1973;13(1):295-303.
287. Le TQ, Gochin M, Featherstone JD, Li W, DenBesten PK. Comparative calcium binding of leucine-rich amelogenin peptide and full-length amelogenin. *European Journal of Oral Sciences*. 2006;114:320-6.
288. Tarasevich BJ, Perez-Salas U, Masica DL, Philo J, Kienzle P, Krueger S, et al. Neutron reflectometry studies of the adsorbed structure of the amelogenin, LRAP. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2013;117(11):3098-109.
289. Hossein BG, Sadr A, Espigares J, Hariri I, Nakashima S, Hamba H, et al. Study on the influence of leucine-rich amelogenin peptide (LRAP) on the remineralization of enamel defects via micro-focus x-ray computed tomography and nanoindentation. *Biomedical Materials*. 2015;10(3):035007.
290. Dogan S, Fong H, Yucesoy DT, Cousin T, Gresswell C, Dag S, et al. Biomimetic tooth repair: amelogenin-derived peptide enables in vitro remineralization of human enamel. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2018;4(5):1788-96.



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
2019

KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası A Blok 1. Kat No: A1-05 Kampüs /ANTALYA
	TELEFON	0 (242) 249 69 54
	FAKS	0 (242) 249 69 03
	E-POSTA	etik@akdeniz.edu.tr
	ETİK KURUL KODU	2012-KAEK-20
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI		Doç.Dr.Özge GÜNGÖR
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Yeni Geliştirilen Bir Peptid Zincirinin Süt ve Daimi Diş Minesinde Remineralizasyona Etkisinin İn Vitro Koşullarda İncelenmesi
DESTEKLEYİCİ		Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 101	Tarih: 06.02.2019
	Yukarıda bilgileri verilen çalışmanın yapılmasında bilimsel ve etik açısından sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.	

Prof.Dr. Ayda TAŞATARGİL
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Dr.Öğr.Üyesi M.Levent ÖZGÖNÜL
Başkan Yardımcısı

Prof.Dr.Murat CANPOLAT
Üye

Prof.Dr.Dilara İNAN
Üye

Prof.Dr.Veli YAZISIZ
Üye

Prof.Dr.Bülge KARSLI
Üye

Prof.Dr.Oğuz DURSUN
Üye

Doç.Dr.Gülşüm Özge BAYSAL
Üye

Doç.Dr.Dijle KİPMEN KORGUN
Üye

Doç.Dr.Banu NUR
Üye (İzinli)

Dr.Öğr.Üyesi Mehtap TÜRKAY
Üye (İzinli)

Dr.Ünal HÜLÜR
Üye (İzinli)

Turgut ALTUN
Üye

Av.Mustafa AÇIKEL
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Kadriye	Uyruğu	T.C
Soyadı	ALTUNBAŞ	Tel no	
Doğum tarihi	09.02.1985	e-posta	ktemiz.2016@gmail.com

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Hoca Ahmet Yesevi Lisesi	2002
Lisans/Yüksek Lisans	Yeditepe Üniversitesi	2012
Doktora/Uzmanlık	Akdeniz Üniversitesi	2020

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Diş Hekimi	Aydenit Özel Ağız Diş Sağlığı Merkezi	2013-2014
Arş. Gör.	Atatürk Üniversitesi Restoratif Diş Tedavi Anabilim dalı	2015-2016
Arş. Gör.	Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2017-2020

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	ÜDS	51.250

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)

