

**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAZEİN FOSFOPEPTİT AMORF  
KALSİYUM FOSFAT VE AMELOGENİNİN  
MİNE REMİNERALİZASYONUNA ETKİSİ**

**DOKTORA TEZİ**

**GÜL KESKİN**

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ ve SELÇUK  
ÜNİVERSİTESİ PEDODONTİ ANABİLİM DALI  
ORTAK DOKTORA PROGRAMI**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Çiğdem Güler**

**MALATYA-2014**

**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAZEİN FOSFOPEPTİT AMORF  
KALSİYUM FOSFAT VE AMELOGENİNİN  
MİNE REMİNERALİZASYONUNA ETKİSİ**

**GÜL KESKİN**

**Danışman Öğretim Üyesi: Yrd.Doç.Dr. Çiğdem GÜLER**

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
2013/91 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA-2014**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Pedodonti Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Taşkın GÜRBÜZ  
Atatürk Üniversitesi

Ortak Tez Danışmanı

Prof. Dr. Sibel YILDIRIM  
Selçuk Üniversitesi

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Çiğdem GÜLER  
Ordu Üniversitesi

Üye

Yrd. Doç. Dr. Murat Selim BOTSALI  
Selçuk Üniversitesi

Üye

Yrd. Doç. Dr. Esra KIZILCI  
İnönü Üniversitesi

ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ...../...../ 20.... tarih ve 20.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan hiçbir surette kaçınmayan, tezimin hazırlanmasında büyük ilgi ve desteğini gördüğüm danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Çiğdem GÜLER'e,

Tez süresince bilimsel desteği ile çalışmamıza katkılarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini aktaran yardımcı danışmanım Sayın Prof. Dr. Sibel YILDIRIM'a,

Doktora eğitimim süresince büyük ilgi ve desteğini gördüğüm Sayın Prof. Dr. Yağmur ŞENER'e, Sayın Doç. Dr. Gül TOSUN'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat Selim BOTSALI'ya,

Tez çalışmasında beni destekleyen Biyoistatistik Anabilim Dalı Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na,

Tez süresince kimyasal solüsyonların hazırlanmasına olan katkısından dolayı Sayın Arş. Gör. Dr. Önder OTLU'ya,

Deneysel incelemelerdeki katkılarından dolayı İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'ne ve Sayın Murat ÖZABACI'ya,

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

Maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen babam Sayın Bünyamin BEYRET ve sevgili annem Sayın Ayşenur BEYRET'e, çok değerli kardeşlerime ve doktora eğitimim boyunca fedakarlığını hiçbir zaman esirgemeyen ve her an yanımda olan sevgili eşim Sayın Mesut KESKİN'e teşekkür eder, sevgi ve saygılarımı sunarım.

## ÖZET

Bu in vitro çalışmanın amacı insan daimi dişleri üzerinde kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP), mine matris türevleri (Emdogain) ve florun remineralizasyon etkinliğini değerlendirmektir.

Bu amaçla her biri 10 mine örneğinden oluşan 5 deney grubu [kontrol (K), flor (F), CPP-ACP (C), Emdogain (E) ve C+E] oluşturulmuştur. Bütün örnekler yapay çürük lezyonu oluşturmak amacıyla 4 gün boyunca demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiş, F, kalsiyum (Ca), fosfor (P) miktarları ve Ca/P oranları enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) ile hesaplanmıştır. Deney gruplarına göre remineralizasyon ajanları 7 gün süresince uygulanmıştır. Remineralizasyon sonrası örneklerin mineral içeriği SEM-EDX kullanılarak tekrar ölçülmüştür. Yüzeyde meydana gelen morfolojik değişiklikler taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile değerlendirilmiştir. Bütün veriler istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Demineralizasyon sonrası örneklerin mineral içeriğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Remineralizasyon sonrası; F değerlerindeki artış F, C ve C+E gruplarında, Ca değerlerindeki artış F, C, E ve C+E gruplarında, P değerlerindeki artış sadece C grubunda, Ca/P oranındaki artış F, C, E ve C+E gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). En yüksek F değeri F grubunda, Ca değeri C grubunda, P değeri C grubunda ve Ca/P oranı ise C+E grubunda tespit edilmiştir. SEM ile elde edilen görüntüler de EDX bulgularını desteklemiştir.

Sonuç olarak, tüm deney gruplarında uygulanan remineralizasyon ajanları remineralizasyonu olumlu yönde etkilemiştir. CPP-ACP ve Emdogainin birlikte kullanımı bu ajanların remineralizasyon etkinliğini arttırmıştır. Bu nedenle, CPP-ACP ve Emdogainin birlikte kullanımı minede remineralizasyonun sağlanması için alternatif bir tedavi yöntemi olabilir.

Anahtar kelimeler; CPP-ACP, EMD, mine remineralizasyonu, SEM-EDX

## ABSTRACT

### **INFLUENCE OF CASEIN PHOSPHOPEPTIDE AMORPHOUS CALCIUM PHOSPHATE AND AMELOGENIN ON ENAMEL REMINERALIZATION**

The aim of this in vitro study is to evaluate remineralization activity of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate (CPP-ACP), enamel matrix derivatives (Emdogain) and fluoride on human permanent teeth enamel.

For this purpose, 5 experimental groups [control (K), fluoride (F), CPP-ACP (C), Emdogain (E) ve C+E], which had 10 enamel samples each group, were formed. The all samples were placed in demineralization solution for four days to produce artificial carious lesions F, calcium (Ca), phosphorus (P) content and Ca/P ratios were calculated by energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX). Remineralization agents were applied during 7 days according to the experimental groups. After remineralization, the mineral content of the samples was measured using SEM-EDX again. Morphological changes occurring on the surface were evaluated with scanning electron microscope (SEM). All data were analyzed statistically.

Mineral contents of samples were not statistically significant differences between the groups after demineralization ( $p>0.05$ ). After remineralization, F values in F, C and C+E groups, Ca values in F, C, E and C+E groups, P values in only C group and %Ca/P ratios in F, C, E and C+E groups were increased significantly ( $p<0.05$ ). The highest levels of F value in F group, Ca value in C group and %Ca/P ratio in C+E group were measured. EDX findings were supported with SEM images.

As a result, remineralization agents which applied in the all experimental groups, have a positive impact. To use CPP-ACP with Emdogain together has increased the effectiveness of remineralization of these agents. Therefore, combined use of CPP-ACP and Emdogain may be an alternative treatment for providing remineralization of enamel.

Keywords; CPP-ACP, EMD, enamel remineralization, SEM-EDX

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
TABLOLAR DİZİNİ .....	xv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mine .....	3
2.1.1. Diş Sert Dokularının Oluşumu.....	3
2.1.2. Dentinogenezis .....	4
2.1.3. Amelogenezis .....	6
2.1.4. Minenin Yapısı.....	8
2.1.4.1. İnorganik Komponent .....	8
2.1.4.2. Organik Komponent.....	10
2.2. Diş Çürüğü .....	13
2.2.1. Diş Çürüğünün Oluşumu ve Etyolojisi .....	14

2.3. Mine Çürüğü .....	15
2.4. Demineralizasyon.....	17
2.4.1. Demineralizasyon Uygulama Yöntemleri.....	18
2.4.1.1. Asit Tamponların Kullanıldığı (Kimyasal) İn Vitro Demineralizasyon Modeli .....	18
2.4.1.2. Bakteriler Tarafından Üretilen Asitlerin Kullanıldığı (Bakteriyolojik) İn Vitro Demineralizasyon Modeli.....	19
2.4.1.3. pH Siklus Modelinin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon/Remineralizasyon Modelleri .....	19
2.4.2. Demineralizasyon Analiz Yöntemleri.....	20
2.4.2.1. İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektroskopisi (ICP-AES).....	20
2.4.2.2. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT).....	21
2.4.2.3. Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (FTIR) .....	22
2.4.2.4. Taramalı Elektron Mikroskopu-Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (SEM-EDX) .....	22
2.5. Remineralizasyon .....	23
2.5.1. Remineralizasyon Uygulama Yöntemleri.....	24
2.5.1.1. Flor .....	24
2.5.1.1.1. Florun Tarihçesi .....	24
2.5.1.1.2. Florun Yapısı ve Özellikleri.....	25
2.5.1.1.3. Florun Etki Mekanizması.....	26
2.5.1.1.4. Flor Uygulama Yöntemleri .....	27



2.5.1.2. Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP).....	28
2.5.1.2.1. CPP-ACP'nin Tarihçesi .....	28
2.5.1.2.2. CPP-ACP'nin Yapısı ve Özellikleri.....	28
2.5.1.2.3. CPP-ACP'nin Etki Mekanizması.....	29
2.5.1.2.3.1. CPP-ACP'nin Antikaryojenik Etkisi.....	29
2.5.1.2.3.2. CPP-ACP'nin Remineralizasyona Etkisi .....	30
2.5.1.2.4. CPP-ACP Uygulama Yöntemleri.....	33
2.5.1.3. Mine Matriks Türevleri (EMD) .....	34
2.5.1.3.1. EMD'nin Tarihçesi.....	34
2.5.1.3.2. EMD'nin Yapısı ve Özellikleri .....	34
2.5.1.3.3. EMD'nin Etki Mekanizması .....	34
2.5.1.3.4. EMD'nin Uygulama Yöntemleri.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1. Gereçler.....	37
3.1.1. Dişlerin Hazırlanmasında Kullanılan Gereçler .....	37
3.1.2. Yüzey Alanını Belirlemede Kullanılan Gereçler .....	37
3.1.3. Remineralizasyon Ajanlarının Uygulanmasında Kullanılan Gereçler.....	38
3.1.3. Dişlerin Bekletileceği Solüsyonların Hazırlanmasında Kullanılan Gereçler:..	38
3.1.4. SEM ve EDX.....	39
3.2. Yöntem.....	41
3.2.1. Dişlerin Toplanması.....	41

3.2.2. Mine Örneklerinin Hazırlanması.....	41
3.2.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması .....	43
3.2.4. Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması .....	44
3.2.5. Remineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması.....	44
3.2.6. Demineralizasyon-Remineralizasyon Siklusu .....	44
3.2.7. Analizler .....	47
3.2.8. İstatistiksel Değerlendirmeler .....	47
4. BULGULAR .....	49
4.1. Tedavi Gruplarına Göre SEM-EDX Bulgularının Değerlendirilmesi .....	49
4.1.1. Ortalama Atomik %F Değerleri .....	49
4.1.2. Ortalama Atomik %Ca Değerleri.....	52
4.1.3. Ortalama Atomik %P Değerleri .....	55
4.1.4. Ortalama Atomik %Ca/P Oranları .....	58
4.2. Tedavi Gruplarına Göre Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Bulgularının Değerlendirilmesi.....	61
5. TARTIŞMA .....	63
5.1. Amaç ve Yöntemin Tartışılması .....	63
5.2. Bulguların Tartışılması.....	72
5.2.1. Demineralizasyon Sonrası Elde Edilen Bulguların Tartışılması.....	72
5.2.2. Ortalama Atomik %F Değerlerinin Tartışılması.....	73
5.2.3. Ortalama Atomik %Ca Değerlerinin Tartışılması.....	75

5.2.4. Ortalama Atomik %P Değerlerinin Tartışılması.....	76
5.2.5. Ortalama Atomik %Ca/P Oranlarının Tartışılması.....	77
5.2.6. SEM Bulgularının Tartışılması.....	79
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
KAYNAKLAR.....	85
EKLER.....	104
EK 1: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı.....	104
ÖZGEÇMİŞ.....	107

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CPP-ACP: Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat

EMP: Mine matriks proteinleri

EMD: Mine matriks türevleri

PDL: Periodontal ligament

HA: Hidroksiapatit

DEJ: Mine-dentin bağlantısı

TRAP: Tirosin zengin amelogenin polipeptit

LRAP: Lösin zengin amelogenin polipeptit

ICP-AES: İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektroskopisi

Mikro-BT: Mikro Bilgisayarlı Tomografi

FTIR: Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi

Micro MIR-FTIR: Mikro Multiple Reflektans İnfrared Spektroskopisi

IC: İyon Kromatografi

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

EDX: Enerji Dağılımlı X Işını Spektroskopisi

EPMA: Elektron Mikroprob

Na<sup>+</sup>: Sodyum

F: Flor

Mg<sup>2+</sup>: Magnezyum

Ca<sup>2+</sup>: Kalsiyum

OH: Hidroksil

$H^+$ : Hidrojen

$HPO_4^{2-}$ : Hidrojen fosfat

$PO_4^{3-}$ : Fosfat

$CO_3^{2-}$ : Karbonat

$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ : Kalsiyum klorür

$NaH_2PO_4$ : Sodyum Dihidrojen fosfat

KCl: Potasyum klorür

KOH: Potasyum hidroksit

$Ca(NO_3)_2$ : Kalsiyum nitrat

$CaF_2$ : Kalsiyum florid

NaF: Sodyum florid

$SnF_2$ : Kalay florid

$NH_4F$ : Amonyum florid

$Na_2FPO_3$ : Sodyum monoflorofosfat

$\mu m$ : Mikrometre

nm: Nanometre

mm: Milimetre

mg: Miligram

kDa: Kilodalton

mg/l: Miligram/litre

w/v: Ağırlık/hacim

ppm: Milyonda bir birim

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Dişin yaşam döngüsü .....	4
Şekil 2. 2. Mine oluşum aşamaları .....	6
Şekil 2. 3. Mineral ve organik matriks kompozit yapısını gösteren mine anahtar deliği şeklindeki çubuk ünitesinde hidroksiapatit kristallerinin kristal oryantasyonunun şematik gösterimi. ....	9
Şekil 2. 4. Diş çürüğünün etyolosinde rol oynayan 3 ana etkenin şematik olarak gösterimi. ....	13
Şekil 2. 5. Beyaz nokta lezyonunun X ışını mikro tomografi ile elde edilmiş sagittal kesit görüntüsü.....	16
Şekil 3. 1. Dişlerin hazırlanmasında kullanılan gereçler.....	37
Şekil 3. 2. Remineralizasyon ajanlarının uygulanmasında kullanılan gereçler. ....	38
Şekil 3. 3. Dişlerin bekletileceği solüsyonların hazırlanmasında kullanılan gereçler	39
Şekil 3. 4. Taramalı elektron mikroskobu.....	40
Şekil 3. 5. Kaplama cihazı.....	40
Şekil 3. 6. Mine örneklerinin hazırlanması .....	42
Şekil 3. 7. Örnek üzerinde 3x3 mm'lik pencerenin hazırlanması .....	43
Şekil 3. 8. Deney gruplarının oluşturulması .....	44
Şekil 3. 9. Diş yüzeyine remineralizasyon ajanının uygulanması.....	46
Şekil 4. 1. Tedavi sonrası gruplardaki ortalama atomik %F değerlerinin dağılımı ...	51
Şekil 4. 2. Tedavi sonrası gruplardaki ortalama atomik %Ca değerlerinin dağılımı .	54
Şekil 4. 3. Tedavi sonrası gruplardaki ortalama atomik %P değerlerinin dağılımı ...	57
Şekil 4. 4. Tedavi sonrası gruplardaki ortalama atomik %Ca/P oranının dağılımı....	60
Şekil 4. 5. Tedavi gruplarına göre SEM görüntüleri.....	62

**TABLULAR DİZİNİ**

Tablo 4. 1. Tedavi gruplarına göre ortalama atomik %F değerlerinin değişimleri... 49	49
Tablo 4. 2. Tedavi sonrası ortalama atomik %F değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması..... 50	50
Tablo 4. 3. Tedavi gruplarına göre ortalama atomik %Ca değerlerinin değişimleri.. 52	52
Tablo 4. 4. Tedavi sonrası ortalama atomik %Ca değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması..... 53	53
Tablo 4. 5. Tedavi gruplarına göre ortalama atomik %P değerlerinin değişimleri... 55	55
Tablo 4. 6. Tedavi sonrası ortalama atomik %P değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması..... 56	56
Tablo 4. 7. Tedavi gruplarına göre ortalama atomik %Ca/P oranlarının değişimleri.58	58
Tablo 4. 8. Tedavi sonrası ortalama atomik %Ca/P oranlarının gruplar arası karşılaştırılması..... 59	59

## 1. GİRİŞ

Diş çürükleri, kalsifiye dokuların yıkımı ve çözünmesi ile sonuçlanan dişlerin enfeksiyöz mikrobiyolojik bir hastalığıdır [1]. Çürükler tek bir demineralizasyon süreci yerine çok sayıda demineralizasyon ve remineralizasyon olaylarının bir sonucudur. Bu süreç çürüğün ilerlemesinin önlenmesi için dengeli olmalıdır [2]. Demineralizasyon, mine veya dentin içerisinde kristal yüzeyinde atomik seviyede başlar ve durdurulmadığı sürece kaviteye kadar devam edebilir [3]. Remineralizasyon, çürük lezyonların ilerlemesini önlemek için önemli bir doğal onarım sürecidir [2].

Florid, diş çürüklerinin azaltılması ve önlenmesi üzerinde derin bir etkiye sahip olan klasik bir çürük önleyici ajandır. Son 25 yıl içinde, sanayileşmiş ülkelerde yaşanan diş çürüklerindeki düşüş, büyük ölçüde floridin yaygın kullanımına bağlanabilir. Bununla birlikte florid uygulamasında kısıtlamaların olduğu unutulmamalıdır [4]. Florid ilavesi, sadece başlangıçtaki remineralizasyonu hızlandırır, sonraki aşamalarda süreç yavaşlar hatta düz bir seviyeye ulaşır ve yüksek florid konsantrasyonunda bile tam remineralizasyon elde edilemez. Bu nedenle, sistemik florid uygulamasının çürük önlemede sınırlı bir rol oynadığı kabul edilmektedir [4]. Florid en sık kullanılan çürük önleyici ajan olmasına rağmen yüksek konsantrasyonlarda kullanımı florozis gelişme riskini artırabilir. Ayrıca artmış kalça kırığı, osteoflorozis veya iskeletsel florozis, artmış genel iskeletsel kırılabilirlik ve osteomalazi gibi rahatsızlıklar da rapor edilmiştir [5]. Floridin bu kısıtlamaları araştırmacıları farklı yöntemler kullanmaya yöneltmiştir.

Bu yöntemlerden biri kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) ajan uygulamasıdır. Yapılan çalışmalarda kazeinin triptik peptitlerinin intraoral plağa dahil olduğu ve plaktaki kalsiyum ve fosfat miktarını arttırdığı bulunmuştur [6]. Kazein fosfopeptitin önerilen antikaryojenite mekanizması, kolloidal kalsiyum fosfat kompleksleridir ve bunlar plakta kalsiyum fosfat seviyesini arttırarak mine demineralizasyonunu baskılayıp remineralizasyonu arttırmaktadır [7].

Bir diğer yöntem mine benzeri materyallerin biyomimetik sentezidir. Çünkü bu yöntem erken çürük lezyonları için alternatif noninvaziv tedavi sağlayabilir.



Amelogenin, en bol bulunan mine ekstraselüler matriks proteindir ve organize mine kristallerinin oluşumunda hayati bir rol oynadığına inanılmaktadır [8]. Amelogenin-kalsiyum fosfat etkileşimi için farklı modeller önerilmiş olmasına rağmen amelogeninin mine biyoremineralizasyonu için önemli bir destekleyici olduğu ve kalsiyum fosfat nanokristal yapısının modülatörü olduğu kabul edilmiştir [8]. Amelogenin, kalsiyum ve fosfat iyonları in vitro şartlarda organize hidroksiapatit kristallerinin oluşturulması için önemli maddelerdir [9].

Mine matriks türevleri (EMD), mine matriks proteinlerinin (EMP) ticari olarak bulunabilen bir türevidir ve diş hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır [2]. Emdogain® (BIORA AB, Malmö, İsveç), %90 amelogenin ve %10 domuz mine matriks proteini türevlerini içerir [10]. Emdogainin PDL hücresi proliferasyonunu ve kollajen üretimini teşvik ettiği, ayrıca mineralizasyonu arttırdığı in vitro olarak gösterilmiştir [11].

Bu bilgiler ışığında bu araştırma; kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfatın (CPP-ACP), mine matriks türevlerinin (Emdogain) ve florun insan daimi dişlerinde mine üzerindeki remineralizasyon etkinliğini değerlendirmek amacıyla planlanmış ve uygulanmıştır. Test edilen hipotez; insan daimi dişlerinde mine üzerinde, CPP-ACP ve Emdogainin birlikte kullanımının bu ajanların remineralizasyon etkinliğini artırılabiliridir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mine

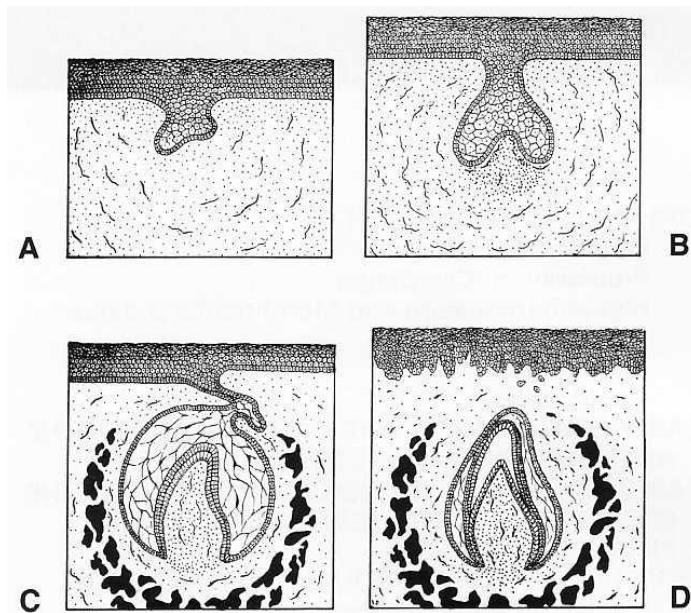
#### 2.1.1. Diş Sert Dokularının Oluşumu

Vücuttaki dört mineralize dokudan üçünün (kemik, sement, ve dentinin) oluşumlarında bazı benzerlikler mevcuttur. Bunların hepsi de özelleşmiş bağ dokularıdır ve yapılarını belirlemede “kollajen” (özellikle tip I) önemli rol oynar. Bağ dokusu olmamasına ve yapımında hiç kollajen yer almamasına karşın, minenin yapımı da mineralize bağ dokusu oluşumu prensiplerine uyar [12].

Diş sert dokularını yüksek mineralli mine ve çok daha büyük oranda organik matriks içeren dentin ve sement oluşturur. Diş sert dokularının mineral fazı saf hidroksiapatit ( $HA = Ca_{10}(PO_4)_6OH_2$ ) değildir, daha ziyade çok sayıda başka iyonların dahil edildiği bir kalsiyum eksik biyomateryaldir. Hidroksiapatit kafesi içerisine hidrojen fosfat, karbonat ve magnezyum iyonlarının geçişi, daha az kararlı ve daha çözünür bir apatit oluşumuna neden olur. Karbonatın, dentinde (%5,5) mineden (%3) daha büyük oranda bulunması dentin kristallerini asit saldırılarına karşı daha duyarlı hale getirir [13].

Diş gelişiminin erken safhasında, gelecekte oluşacak olan alveolar sırt boyunca oral epitelden ve kranial nöral kristadan göç eden hücreler arasında epitelyal-mezenşimal etkileşim olur [14, 15]. Doku rekombinasyon deneyleri, oral epitelin odontogenezi indüklemeye kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir [16]. Bu oral ektomezenkim, üzerini örten epitel ile etkileşime girerek, stratum germinativumun kübik bazal hücrelerini çoğaltmak ve mezenkim içerisine akın etmek üzere indükler. Özelleşmiş sıkı bağlantılar ya da terminal barlar, karşılıklı katmanlardaki bu hücreleri tabakalar halinde bir araya getirir. İki tabaka arasında ayrıca bir bazal membran varlığını sürdürmektedir. Bazal membrana bitişik olan epitel ve mezenkim organize olurlar ve diş yapımının tomurcuk, takke ve çan aşamalarına erişmek üzere eşzamanlı bir hücre farklılaşması sürecine girerler (Şekil 2.1) [17]. Erken takke aşamasında mine organı epiteli, içbükey ve dışbükey yüzeylere ayrılmış olup bunlar sırasıyla dış ve iç mine epitelleri ile örtülmüşlerdir. Mine matrisini barındıracak alan şimdiden belirlenmiş durumdadır. İç mine epiteliyle

bunun altında dōşeli mezenkim arasında yer alan zarf biçiminde bir yarık vardır. Dentin ve mine, bu arayüzeyde oluşur [17]. Epitel hücrelerinin mine salgılayan ameloblastlara ve mezenşim hücrelerinin dentin salgılayan odontoblastlara histodiferansiasyonu söz konusudur [16, 18]. Diş morfogenezinin ve dental hücre farklılaşmasının tamamlanmasından sonra matriks sekresyonu ve mineralizasyonu gerçekleşir [14]. Odontoblastlar, proteoglikandan zengin organik matriks sentezlerler ve kollojen lifleri büyüyene ve matriks oryantasyonu tamamlana kadar birkaç gün mineralizasyonu geciktirmesi de odontoblastların işlevinin bir parçasıdır [19]. Odontoblastlar tarafından gerçekleştirilen ektomezenşimal yapıli dentin formasyonu daha sonra dentin mineralizasyonunu sağlayacak olan pre-dentin birikimi ile başlar. Ancak, son oluşun pre-dentin mineralize olmadan kalır. Mine formasyonu pre-dentin mineralizasyonu başladıktan sonra başlar [14].



Şekil 2. 1. Dişin yaşam döngüsü: A) Başlangıç (çan safhası); B) Proliferasyon (takke safhası); C) Histodiferansiasyon ve morfodiferansiasyon (çan safhası); D) Apozisyon ve kalsifikasyon [20].

### 2.1.2. Dentinogenesis

Dentin, odontoblastlar tarafından sentezlenen, günde yaklaşık 4µm biriken mineralize bir dokudur. Dentin birikme oranı kök formasyonunun sonunda

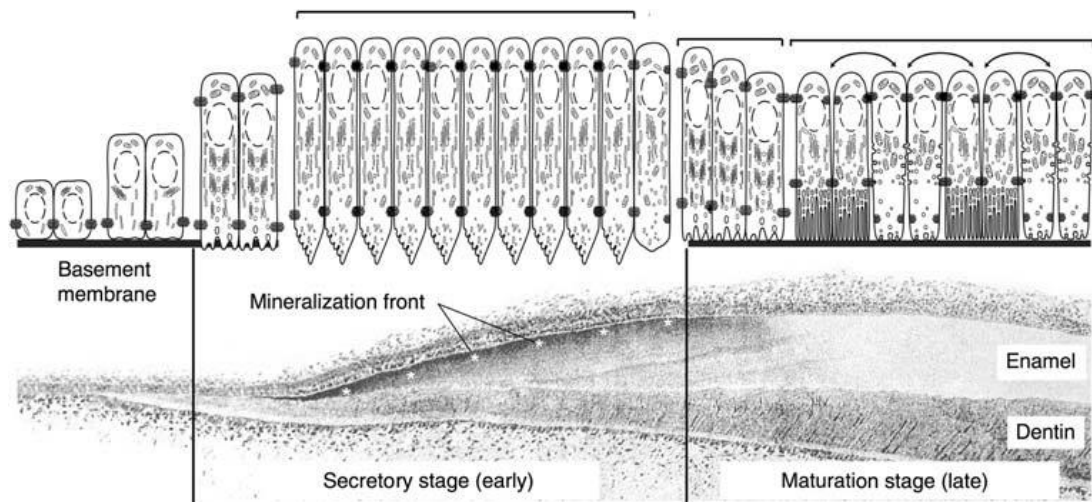
azalmaktadır. Predentin 15-20 µm kalınlığında mineralize olmayan bir tabakadır. Bu tabakada kollojenin doğal fibrilleri, fosfolipid ve proteoglikanları birlikte salgırlar. Predentin ve dentin arasında 0,5 ile 2,5 µm kalınlığında metadentin olarak adlandırılan bir geçiş zonu vardır. Dentin, metadentin ve predentin, birbirine ve mine-dentin bağlantısına (DEJ) paralel konsantrik tabakalar oluştururlar. Bu yapılar net bir şekilde ekstraselüler matriksin 3 farklı tipidir. Metadentin kendine özgü karakteristiği olan mineralizasyonun başladığı alandır [21].

Dentinin ilk kollajeni, iç diş epitelinin destekleyen bazal laminanın hemen altındaki şekilsiz esas madde içerisinde toplanan, çok belirgin ve geniş çaplı (0,1-0,2 µm) fibriller hâlinde, “ekstrasellüler” olarak ortaya çıkar. Fibriller bazal laminaya dikey sıralanmış olup buradan sarkan aperyodik fibriller ile (tip VII kollajen) birbirlerine karışırlar. Bu iri kollajen fibriller, içerisinde yığılmış oldukları “esas madde” ile beraber, “ilk oluşun” ya da “manto” dentinin organik matriksini oluştururlar. Odontoblastlar bu geniş çaplı kollajen fiberleri salgırlarken, bir yandan da aralarındaki ekstrasellüler kompartman tıkanana kadar boyutça büyümelerini sürdürürler. Bu kollajen birikimiyle eş zamanlı olarak, odontoblastların iç diş epiteline bitişik olan plazma membranları, hücre dışına doğru kısa uzantılar verir. Nâdiren, bu uzantılardan birisi bazal laminaya penetre olarak, daha sonra bir “mine içciği” oluşturmak üzere iç diş epiteli hücreleri arasına yerleşebilir. Odontoblast bu uzantıları oluştururken bünyesinden “matriks vezikülleri” olarak bilinen ve geniş çaplı kollajen fibrillerin arasında uzanan bir takım küçük, membrana bağlı vezikülleri de tomurcuklandırır. Odontoblast, daha sonra pulpanın merkezine doğru yer değiştirmeye başlar ve bu süreçle birlikte, başlangıçta kısa olan uzantılarından birisi giderek belirginleşerek, hücrenin “odontoblastik uzantı”sını oluşturmak üzere geride kalır. Bu ortama (odontoblastik uzantıların arasına) apatit kristallitleri bırakılır. Hidroksiapatit ilk olarak matriks vezikülleri bünyesinde bağımsız kristaller hâlinde belirir. Bu kristaller hızla büyür ve vezikül sınırlarını yırtarak, komşu kümeleşmelerle kaynaşır tamamen mineralize olmuş matriksi oluşturmak üzere kristallit kümeleri hâlinde yayılır [12].

### 2.1.3. Amelogenezis

Mine kristallerin başlangıç nükleasyonunu açıklamak için iki farklı teori öne sürülmüştür. Birinci teoriye göre; mine kristallerinin erken birikimi, mine-dentin bağlantısında, dentin formasyonu kökenli mineralize kollojen fibrillerden kaynaklanmaktadır. Bu şerit şeklindeki kristaller, iki doku arasında neredeyse kesintisiz bir bağlantı oluşturmak için mineye uzanan dentin kristallerinin bir sonucu olabilir. İkinci teori ise başlangıç nükleasyonunun ameloblastlar tarafından sentezlenen organik şablonda, kontrollü nükleasyon ve hidroksiapatit büyümesine ekstraselüler olarak aracılık ettiğini desteklemektedir. Mekanizması ne olursa olsun, bu mineralize doku mimarisi son derece kontrollü hücresel ve kimyasal süreçler sonucu elde edilir [22].

Mine, mine-dentin bağlantısı (DEJ) boyunca ameloblastlar tarafından sentezlenir [16] ve 3 ana evrede oluşturulur: salgı, geçiş ve olgunlaşma (Şekil 2.2) [14].



Şekil 2. 2. Mine oluşum aşamaları [23].

**Salgı evresi:** Ameloblastlar, hidroksiapatit kristalleri içerisinde bir iskelet oluşturan büyük miktarlarda mine matriks proteinleri salgırlar ve mine matriksi çoğunlukla oluşturulur [14]. Salgı evresi ameloblastları Tomes süreci olarak

adlandırılan histolojik yapılarla karakterize uzun prizmatik epitelyum hücreleridir ve ana fonksyonları mine proteininin üretimi ve salgılanmasıdır [24]. Matriks dentin üzerinde biriktirilir. Hidroksiapatit kristalleri yeni salgılanan matriksde hemen şekillenir. Ancak bu erken safhada kristaller uniform şekil ve boyutta değildir ve prizma şeklinde düzenlenmemişlerdir [25]. Yapılan bir çalışmada erken mine mineralizasyonunda ilk mineral fazın amorf kalsiyum fosfat olarak şekillendiğini daha sonra kristalin apatitine dönüştüğü rapor edilmiştir [26]. Ameloblastlar, olgunlaşmamış mineral kristallerine gömülü protein matriksini geride bırakarak dentin yüzeyinden çekilirler ve salgılama devam eder. Bu evrede, daha sonra diş ağız ortamına maruz kaldığında minenin kimyasal davranışını derinden etkileyecek olan bazı mineral bileşenler de elde edilir. Minenin bu erken döneminde dentin yüzeyine yakın oranda yüksek magnezyum ve karbonat iyonları rapor edilmiştir [25].

**Geçiş evresi:** Ameloblastlar mine yüzeyine yaklaştıkça matriks sekresyonu yavaşlar ve sonunda durur. Salgı sırasındaki matriks çekilmesi daha belirgin olur ve yerine geçen su önemli ölçüde artmaya başlar. Böylece doku içerisinde geniş poroziteler oluşur. Geçiş evresinde, minenin derin tabakasındaki kristaller büyür. Bununla birlikte dokulardaki ortalama mineral içeriği önemli ölçüde değişmemiştir ve minenin iç katmanları bile olgunlaşma evresinde hala çok uzaktır [25].

**Olgunlaşma evresi:** Bu evrede ameloblastlar mine mineralizasyonu ile sonuçlanan mine matriks proteinlerinin degradasyonundan sorumludur [14]. Hücre morfolojisi ve fonksyonundaki major değişiklikler, kristal büyümesini ve protein yıkımını karşılamak için hücreler yeniden düzenlendiği zaman, olgunlaşma evresinde meydana gelir. Salgı aktivitesi azalır ama tamamen sonlanmaz. Olgunlaşma evresindeki ameloblastlar periodik morfolojik değişiklikler ile karakterizedir. Bu değişiklikler iyon taşınmasını (kalsiyum, fosfat, bikarbonat), endositoz ve pH'ı kontrol etmek için hücre işleyişi ile ilişkilendirilmiştir. Mine mineralizasyonu tamamlandığında organik matriks bozulur ve ortadan kaldırılır. Prizmatik epitelyal ameloblastlar fonksyonlarını kaybederler, küçülerek kübik şekil alırlar ve son olarak mine yüzeyinde diş erupsiyonu sonrası bir film tabakası oluştururlar [24].

#### 2.1.4. Minenin Yapısı

Diş minesini demirle karbon çeliği arasında bir sertlik değerine sahip olup, böylesine sert bir materyal için oldukça yüksek bir esneklik sergilemektedir. Bu esneklik, birbirleriyle yakın temasta bulunan ancak kristalografik olarak süreklilik göstermeyen çok sayıda kristalitlerden teşekkül etmiş olmasından ileri gelir [17].

Mine hacimsel olarak; hidroksiapatit (%92-94), su (%2-3), karbonat (%2), eser elementler (sodyum, magnezyum, potasyum, klorür, çinko, yaklaşık %1), yağlar (<%1) ve floridden (%0,01–0,05) oluşur [27].

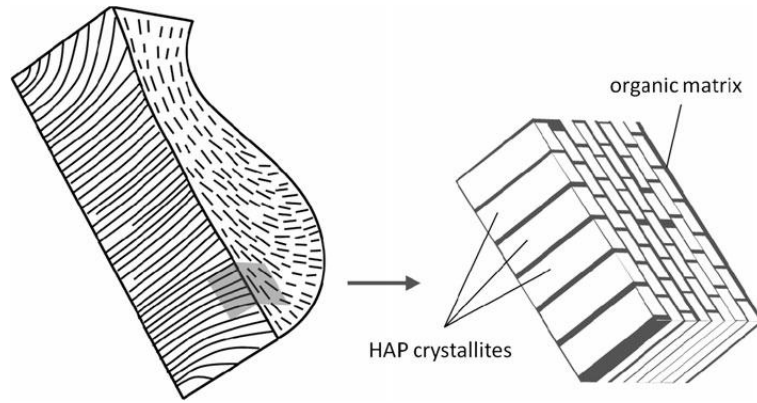
##### 2.1.4.1. İnorganik Komponent

Ağırlık olarak minedeki mineral miktarı, salgı evresinde yaklaşık %24- %36 arasında artar. Olgunlaşma evresi başladıktan kısa bir süre sonra %48'e yükselir, proteinlerin büyük bölümü yıkıldıktan sonra %95 değerine ulaşır [28]. Minenin ağırlık olarak yaklaşık %95 mineral içeriği onu kemik, dentin, sement, kırık gibi diğer mineralize dokulardan daha sert yapar [29].

Minedeki mineral hacmi, salgı evresinde %5 ile %9 arasındadır. Mineden tüm proteinlerin yaklaşık yarısı kaybolduğunda bu oran %20'ye ulaşır ve daha sonra proteinlerin çoğu kaybolunca kısa bir sürede iki katına çıkar ve %40 olur. Olgun minede ise mineral fazı hacim olarak minenin %70-80'ini işgal eder [28].

**Hidroksiapatit:** Mine karbonatlanmış kalsiyum hidroksiapatit kristallerinden oluşan aselüler bir dokudur. Karbonatlanmış apatit kristalleri 50 nm genişliğinde 25 nm kalınlığında olup dentinden mine yüzeyine doğru uzanırlar. Bunlar mine prizması olarak adlandırılan yaklaşık 1000 kristal demeti şeklinde düzenlenir. Hidroksiapatit (HA) kristallerinin uzun eksenleri prizmaların uzun eksenlerine paralel olarak düzenlenmiştir (Şekil 2.3) [30]. Karbonatlanmış HA,  $Ca_{10}(PO_4,CO_3)_6(OH)_2$  memelilerin özellikle kemik ve dişlerinde en çok üretilen fosfat mineralidir. Mine ve dentindeki karbonatlanmış HA daha az kusurludur ve dişlerin genellikle dahil olmadığı iyon dengesinin korunmasında daha benzer stokiometrik orana sahiptir [22]. Diş minesinin birim hücreleri, kalsiyum hidroksiapatit ve oktakalsiyum fosfattır. Kalsiyum hidroksiapatitin birim hücresine ait kimyasal formül;  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  şeklindedir. Mine minerali, apatit kafesine  $HPO_4^{2-}$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $Na^+$ ,  $F^-$ ,

ve diğ er iyonlar da katıldığı için ideal hidroksiapatitten farklıdır. Kalsiyum hidroksiapatit sıkı paketlenmiş altıgen levhalar halinde düzenlenmiş büyük fosfat iyonlarının egemen olduğu bir yapı olarak tarif edilir. Daha küçük olan kalsiyum ve hidroksil iyonları bunların arasındaki açıklıklara otururken, fosfatlar hafif distorsiyonlara neden olurlar. Apatit kafesin, kalsiyum ve hidroksil iyonlarına yer bırakmaya uyum sağlayabilmesinin nedeni muhtemelen, fosfat paketinin kendine özgü stabilitesidir. Fosfat iyonları, dış minesinde yerini bir diğ erine bırakmaya en az maruz kalan iyonlar olup bunları kalsiyum ve hidroksit izler [17].



Şekil 2. 3. Mineral ve organik matriks kompozit yapısını gösteren mine anahtar deliği şeklindeki çubuk ünitesinde hidroksiapatit kristallerinin kristal oryantasyonunun şematik gösterimi [31].

**Fosfat:** Mine apatiti ve ideal hidroksiapatit arasındaki bir fark da  $\text{HPo}_4^{2-}$ 'ın yerini  $\text{PO}_4^{3-}$ 'e bırakmasıdır. Sekretuar minenin en dış katmanındaki mineralize bölümde bulunan fosfat "asit fosfat" ( $\text{HPo}_4^{2-}$ ) formunda olup tahminen %22 dolayındadır ve daha olgun katmanlar analiz edilip derinlere inildikçe bu oran önce %15'e ve sonra %11'e düşmektedir. Mine kristalitlerinin büyüyen uçları, apatit kafese kayda değer miktarda asit fosfat dahil ederler ki bu daha sonra  $\text{PO}_4^{3-}$ 'e dönüşmektedir [17].

**Karbonat:** Karbonatın hidroksiapatite katılımı çözünürlüğünü artırır ve kristalinite, kristal boyu ve kristal biçimi itibariyle fiziksel özelliklerini değiştirir.



Karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), mine kristallerinin ağırlık itibariyle %3-4'ünü oluşturur. Karbonatın yaklaşık %10 ila 15'i hidroksil iyonlarının; geriye kalan %85 ila 90'ı da  $\text{PO}_4^{3-}$ 'in yerini alır [17].

**Flor:** İnsan diş minesi, düşük konsantrasyonlarda florid ihtiva etmekte olup bunun miktarı dışarıdan florid alımı ile artar. Florohidroksiapatitte, florid iyonları hidroksil iyonlarının yerini almış ve komşu hidroksil iyonlarına hidrojen bağı ile bağlanmışlardır. Bu hidrojen bağları ve hidroksil iyonlarının bir sütunda hizalanışlarının bozulmaya yatkın olması, saf hidroksiapatite ya da florapatite kıyasla florohidroksiapatiti daha kararlı yapmakta ve çürüğe yatkınlığı da azaltmaktadır. Florid katılımı ayrıca, diş minesinin kristalinitesini de arttırmaktadır. Yüzeydeki minede, yüzey altı minesine kıyasla oldukça yüksek florid konsantrasyonları gözlenir [17].

**Magnezyum:** Magnezyum, hidroksiapatit kristalinin büyümesini engeller ve bunun kristalinitesini zayıflatır. Minedeki magnezyum miktarı o kadar azdır ki, apatit kafese asla katılamayacağı savunulmuştur. Ancak hidroksiapatiti kontamine eden non-apatitik fazlarda eser olarak mevcuttur. Magnezyum da kalsiyum gibi iki değerlikli bir katyondur.  $\text{Mg}^{2+}$ 'nin mine kristalleri üzerine olan absorpsiyon afinitesi,  $\text{Ca}^{2+}$ 'un 1/2'si ile 1/3'ü kadar olup sonuçta kristal olgunlaşma derecesini belirgin olarak değiştirmeyecek bir değerdedir. Magnezyum, kristalit yüzeyindeki absorpsiyon bölgeleri ve (bundan daha az olmak üzere) apatit kafesteki pozisyonlar için kalsiyumla yarışır. Magnezyumun kalsiyumun yerini almasını sınırlayan iki unsur; atomik çapının kalsiyuma kıyasla oldukça küçük olması ve kristale ilave olması öncesinde serbestlenmeye ihtiyaç gösteren su moleküllerine yüksek afinitesi bulunmasıdır. Bu farklılıklar, magnezyumun kristal yüzeyine absorpsiyonunu sınırlamaktan çok, onun hidroksiapatit kafese katılımını kısıtlayıcı rol oynamaktadır [17].

#### 2.1.4.2. Organik Komponent

Mineral olmayan içeriğinin çoğunluğunu su, total mine ağırlığının %1'inden daha azını da protein oluşturmaktadır. Bunun aksine mine formasyonunun salgı evresinde %30 protein mevcuttur. Salgı evresinde ameloblastlar çoğunlukla amelogenin, enamelin ve ameloblastin salgırlarlar [29].

**Amelogenin:** Amelogeninler, sadece mine organı epitelinden türeyen hücreler tarafından sentezlenen dokuya özgün yegane proteinlerdir [17]. Hidrofobik moleküllerdir [32]. Amelogenin mine matriksinin %90'ından fazlasını oluşturur ve normal mine gelişimi için gereklidir [22, 33]. Amelogenin, ameloblastların baskın salgı ürünüdür ve kristal şeritler arasındaki boşlukları doldurarak onları bir araya getirir, ayırır ve destekler [29]. Bu protein, mineral büyümesi için bir şablon sağlar ve diğer mineralize dokulardaki kollojene benzer olduğu kabul edilir. Amelogenin, ekstraselüler çevreye sekresyonundan sonra enzimler tarafından işlenir. Alternatif birleşme ve ameloblastlardan sentezlenmesini takiben görülen proteolitik yıkım nedeniyle birçok izoformu mevcuttur [22].

Amelogeninlerin çeşitliliği, mRNA'nın alternatif bölünmesi ve post-translasyonel modifikasyonların sonucudur. Araştırmalar, iki ayrı amelogenin molekülünün varlığını ortaya koymuştur: tirozin zengin amelogenin polipeptid (TRAP) ve lösin zengin amelogenin polipeptid (LRAP). Bu iki molekül tam uzunluktaki bir amelogeninin bir bölgeye özel amelogenin proteaz ile parçalanmasından elde edilir [32]. Tirozin zengin amelogenin polipeptid ameloblastların geri çekilmesini sağlayarak, amelogenin nanosferler yönlendirilmesinde sorumlu olabilecek bir lektin bağlanma motifi içerirler (N-terminal). İkinci etki alanı proteinin büyük segmentleridir ve hidrofobik karakter içeren orta segmentten oluşur (Merkezi etki). C-terminal bölgesinde ise kalsiyum fosfat için nükleasyon sahası olabilecek negatif yüklü asidik kalıntılar vardır. Amelogeninin bu üç etkisi proteine, fonksiyon ve birleşme yeteneğini belirleyen amplifikasyon özelliğini kazandırır. Lösin zengin amelogenin polipeptid ise kendi kendine birleşme özelliği tespit edilmemiştir, fakat ameloblast diferansiyasyonu, mine büyümesi ve dentin tübüllerinin oluşumunda bir rol oynadığı ileri sürülmektedir [22].

**Ameloblastin:** Ameloblastin prolin (%15,2), lösin (%10,2) ve glisin (%9) gibi aminoasitleri içeren bir glikoproteindir. Ameloblastin aynı zamanda fosforiledir ve hidroksiprolin içerir [24]. Ameloblastin (amelin olarak da bilinir) ilk olarak proteoliz ürünlerinden tespit edilmiştir: İki polipeptid, C-terminalinden ve N terminalindeki bir dizi polipeptidten ayrılırlar. Bu, ameloblastların farklılaşması ile

açıklanır ve proliferasyon inhibisyonu ve hücre adezyon molekül aktivasyonu ile diferansiyasyon durumunu dengeler [22]. Ameloblastin, ameloblast tabakasında belirgin bir patoloji ve birleşim epitelinde bir defekt olduğunda mine oluşumunda kritik bir rol oynadığı kabul edilir. Ameloblastin hücre adezyon özelliği gösterir ve ameloblast hücre diferansiyasyonunu kontrol ettiğine inanılır. Ameloblastin N-terminal bölünme ürünlerinin immunolokalizasyon çalışmalarında mine kılıfı veya interprizmatik boşluklarda görüldüğü ve ameloblastinin minenin prizmatik yapısını kontrol ettiği varsayılmıştır. C-terminal bölgesindeki proteolitik ürünlerin ise kalsiyuma yüksek afinitesi vardır ve muhtemelen mineralizasyon sürecine katılım gösterir [24].

**Enamelin:** Enamelinler, amelogeninler gibi proteinlerin heterojen bir gurubudur [17]. Mine kristallerine kuvvetli yapışma yeteneğinden dolayı bu şekilde adlandırılmıştır. Minenin total protein içeriğinin %1'ini oluşturur [22]. Enamelinler sialik asit, galaktozamin ve glukozamin içerir [32]. Enamelin ve non-amelogenin proteinler 70 kDa'den fazla kütleyle sahip daha büyük proteinlerdir. Bu moleküller hidrofilik ve glikoziledir. Kristal bağlı proteinlerdir [32]. Enamelin mine formasyonunun üç ana aşaması boyunca sentezlenir, fakat enamelin sekresyonu amelogenin sekresyonundan önce sonlandırılır. Yaygın olarak bilinen mine proteindir ve amelogenin gibi sekretuar kalsiyum bağlayıcı fosfoprotein (SCPP) gen ailesine aittir [24]. Enamelin ve ameloblastin gibi non-amelogenin mine matriks proteinlerinin de mine formasyonunda kritik rol oynadığı gösterilmiştir [33]. Bu proteinler mineral hidroksiapatiti oluşturan şerit benzeri mine kristallerinin uzantısını katalize eder [29]. Amelogeninler hidroksiapatit kristallerinde çekirdek büyümesini geciktirmezken, enamelinler bu olayı bariz biçimde geciktirip önlerler [17].

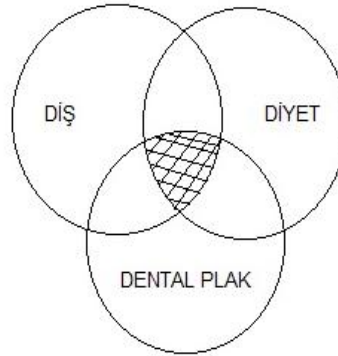
**Amelotin:** Amelotin en son keşfedilen mine proteindir ve fonksiyonu henüz açıklanamamıştır [24]. Amelotinin mine matriksi ve ameloblastlar arasındaki bazal laminanın bir komponenti olarak ameloblastların olgunlaşma evresinde sentezlendiği ve birleşim epitel hücreleri çevresindeki alanda mevcut olduğu rapor edilmiştir [34]. Bununla birlikte son çalışmalarla amelotinin diğer mine ekstraselüler matriks proteinleri gibi mine gelişiminin salgı evresi boyunca sentezlendiği ve lokalizasyonunun bazal lamina ile sınırlı olmadığı da ortaya konulmuştur [35].

**Biglikan:** Biglikan proteini mine proteinlerini sabitlemede rol oynaması muhtemel olan küçük bir proteoglikandır. Amelogenin, ameloblastin ve enamelin ile etkileşimde olduğu tespit edilmiştir [22].

**Tuftelin:** Tuftelin mine matriksi ve mine-dentin bileşiminde mevcut asidik bir glikoproteindir. Tuftelinin mine matriksindeki fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir fakat diş gelişimi boyunca başlangıç nükleasyonuna dahil olduğu ve kalsiyum bağlama alanı ve fosforile kalıntı içerdiği öne sürülmektedir [22].

## 2.2. Diş Çürüğü

Diş çürükleri ilk olarak 1890 yılında Miller'in kemoparasitik teorisi ile tanımlanmıştır. 1960'larda çürük teorisi, diş çürüğü için 3 ön koşulu temsil eden 3 daire olarak tasvir edilmiştir. Bu 3 ön koşul; diş, diyet ve dental plaktır (Şekil 2.4). O zamandan beri birçok modifiye faktör tanımlanmıştır. Bunlar tükürük, immün sistem, zaman, sosyoekonomik durum, eğitim düzeyi, yaşam tarzı ve florid kullanımınıdır [36].



Şekil 2. 4. Diş çürüğünün etyolojisinde rol oynayan 3 ana etkenin şematik olarak gösterimi.

Diş çürükleri; karyojenik ve nonkaryojenik bakterilerin katılımını, tükürük bileşenlerini (proteinler, enzimler, kalsiyum, fosfat, florid) ve fermente olabilen karbonhidrat besin kaynaklarını (sukroz, glikoz) içeren multifaktöriyel bir hastalıktır [27]. Diş çürükleri; mine, dentin ve sementin aralıklı demineralizasyonu ve ilerleyici

olması ile karakterize, pulpal apse oluşumu ve koronel dental dokuların total yıkımı ile sonuçlanabilecek karakteristik bozulma modeline sahip plağa bağlı bir hastalıktır [37]. Çevresel faktörler, gıda ve hijyen alışkanlıkları ve bireysel genetik yatkınlık bu hastalığın gelişmesinde önemli rol oynayan multifaktöriyel etyolojik faktörlerdir [38].

### 2.2.1. Diş Çürüğünün Oluşumu ve Etiyolojisi

Diş çürüğü ile ilgili yapılan çoğu çalışma W. D. Miller tarafından 1890 yılında öne sürülen kemoparasitik teoriyi desteklemektedir. Ancak bugün çürük etyolojisinde yaygın olarak asidojenik teori bilinir. Çürük sürecinin temel özellikleri şunlardır:

1. Diş yüzeyindeki plak mikro-organizmaları tarafından fermente olabilen karbonhidratlardan organik asit oluşturulur,
2. Hızlı asit oluşumu ile kritik pH'da mine yüzeyinde pH değeri düşer ve çözümler başlar,
3. Plak mikroorganizmaları için karbonhidratlar mevcut olmadığında, plak içindeki pH, asitlerin ve bakteri metabolizmalarının dışarıya difüzyonu ile yükselir ve plak nötralleşir. Bunun sonucunda minede remineralizasyon oluşabilir,
4. Diş çürükleri ancak demineralizasyon remineralizasyondan büyük olduğunda ilerler. Demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki dengenin sağlanması, çürük lezyonlarının dinamiğini anlamak ve ondan korunmak için çok önemlidir [39].

Diş çürüğü etyolojisinde 4 ana faktör rol oynamaktadır: *konak* (diş), asidojenik potansiyele sahip *mikroflora*, patojenik bakteriler için uygun *substrat* (karbonhidrat) ve dördüncü önemli faktör *zaman* [40]. Tükürük, (aynı zamanda bir konak bileşeni), substrat ve bakteri diş yüzeyine yapışan bir biyofilm (plak) oluşturur. Tükürük akışı, dilüsyonu, tamponlama ve remineralizasyon kapasitesi de bazı açılardan hastalığın ilerlemesini ve gerilemesini düzenleyen kritik faktörler olarak kabul edilir [20].

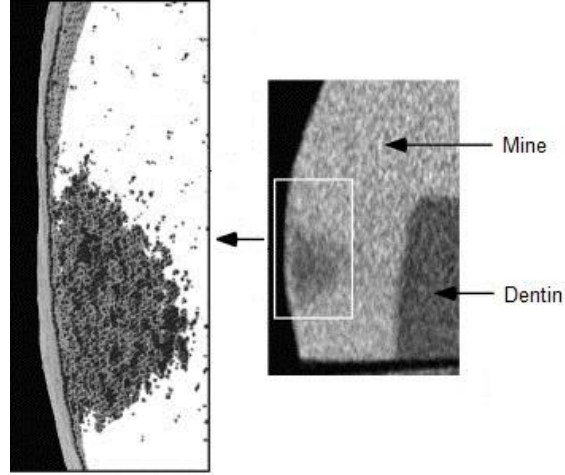
### 2.3. Mine Çürüğü

Diş minesi dişlerimizin en koruyucu dış tabakasıdır ve dış çevrenin asiditesine bağlı olarak sürekli bir demineralizasyon remineralizasyon döngüsüne maruz kalır. Normal şartlarda diş minesinin mineral bileşeninde yani hidroksiapatitte meydana gelen herhangi bir hasar, tükürükteki enzim ve minerallerle hızlı bir şekilde onarılır. Ancak bu dengedeki küçük değişiklikler bile demineralizasyona neden olabilir ve minede yumuşama sonucu dental erozyon oluşur ve oluşan zayıf noktalar diş içerisine doğru ilerleyen çürük ile sonuçlanır. Diş minesinin iyonik regülasyonu mine içine ve dışına iyonların difüzyonunu içeren karmaşık bir süreçtir [31].

Mine; kalsiyumdan eksik, karbonattan zengin bir hidroksiapatittir. İstikrarlı durumunda kristallerin hemen yakınında, çevresindeki sıvı ile denge sağlamak için yeterli miktarda  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{OH}^-$  ve  $\text{F}^-$  iyonları vardır. Solüsyonun doygunluk derecesini birinci olarak bu iyonların (aktif) konsantrasyonları (faaliyetleri), ikinci olarak da hidroksiapatitin çözünürlüğü (undersaturation) ya da minede çevreden mineral birikimi (supersaturation) belirler. Dişi çevreleyen plak içinde  $\text{H}^+$  konsantrasyonunun artması (düşük pH),  $\text{OH}^-$  konsantrasyonunu azaltır. İlâveten  $\text{H}^+$  iyonları plak sıvısı içindeki fosfat iyonlarını protonlayarak  $\text{HPO}_4^{2-}$  ve özellikle  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  oluşturur. Çünkü  $\text{PO}_4^{3-}$  konsantrasyonu düşük pH'da azalır, fosfat iyonları ve hidroksil iyonları yüzey çevresinde solüsyonun dengesini sağlamak amacıyla dıştan çözünür. Bu süreç sonuç olarak nötralliği korumak için diş sert doku yüzeyinden kalsiyum salınımı ile diş çözünmesine neden olur [13].

Mineral çözünmesinde tekrarlayan olaylar, sonunda mineral kaybını onarmak için oral sıvıların kapasitesini aşacak ve hastalık ilk klinik belirtilerini gösterecektir: beyaz nokta (white spot) lezyonlar. Farklı bireyler ya da toplumlarda çürük lezyonlarının ilerleme oranındaki farklılıklar, çürük sürecini modüle eden diğer faktörlerin sonuçları olabilir. Bazı bireylerde lezyonlar yavaş ilerler ve hastalık klinik olarak ömür boyu tespit edilemeyebilir. Diğerlerinde ise hızlı ilerler ve hastalığın belirtisi kavitasyon öncesi klinik olarak belirgin hale gelir [41]. Beyaz nokta lezyonu, plak altında kalan bölgelerde görülen, yalnızca diş yüzeyi kurutulduğunda ortaya çıkan beyaz, tebeşirimsi, opak alanlar olarak tanımlanmaktadır [42]. Bu lezyonlar, altlarında bulunan mine tabakasının dekalsifiye olduğunun göstergesidirler. Alınan

kesitlerde lezyon, apeksi dentine doğru olan bir koni şeklinde görülmektedir [43]. Beyaz nokta lezyonunda mine dokusunun mineral içeriğinin %50'si kaybolmuştur ve lezyonun yüzeyi sağlam mine dokusuyla kaplıdır (Şekil 2.5) [44].



Şekil 2. 5. Beyaz nokta lezyonunun X ışını mikro tomografi ile elde edilmiş sagittal kesit görüntüsü [45].

Mine çürüğü her zaman bakteri plağının altında ve iki şekilde gelişir. Bunların ilkinde, plak altındaki yüzeyde kristal yapının çözünmesiyle mikrokraterler oluşur. Bu yaygın ama sığ bir çürüktür. Diğerinde ise plak altında başlayan çürük lezyonu, minede hızla ilerleyen derinlemesine giden delici çürük lezyonu tarzındadır. Bu çürük klinik olarak kahverengi leke şeklinde görülür [46].

Işık mikroskobu ve polarizasyon mikroskobu altında yapılan incelemelerde mine çürüğünün dört farklı bölgeden oluştuğu bildirilmiştir [42, 46]:

**1. Translüsent Bölge:** Mine lezyonunun ilerleyebildiği en derin bölgedir. Mine çürüğü içerisine kinolin sıvısı perfüze edilerek polarize ışık mikroskobunda incelendiğinde herhangi bir yapının gözlenmediği bir alan olduğu için bu isim verilmiştir [42]. Çürük süreci esnasında mine prizmaları boyunca hidrojen iyonları

geçişinin olduğu porlar bulunmaktadır. Transludent tabakanın boşluk oranı %1 olup bu oran normal mineden 10 kat daha fazladır [46].

**2. Karanlık Bölge:** Polarize ışığı geçirmediği için karanlık bölge olarak adlandırılan bu tabakada bulunan küçük porların hava veya buhar ile dolu olması bölgenin opak olmasını sağlar. Toplam por oranı %2-4 arasındadır. Kristal yapıda demineralizasyon-remineralizasyon sürecine bağlı olarak kayıplar vardır. Transparan bölgeye oranla daha fazla demineralizasyon ve mineral kaybı söz konusudur [46].

**3. Lezyon Gövdesi:** Lezyon gövdesi başlangıç lezyonunun demineralizasyon fazından dolayı en geniş bölgesidir. Demineralizasyonun en fazla olduğu bölgede, periferden merkeze doğru %5-25 oranında değişiklik gösteren boşluklar bulunur. Lezyon gövdesinde retzius çizgileri oldukça belirgindir. Çürüğün mine yüzeyine ilk penetrasyonu retzius çizgileri aracılığıyla olmaktadır. Çürük başlangıcının prizma çevresi ve retzius çizgileri boyunca olduğu belirtilmiştir. Porların genişliği bakteri penetrasyonu için yeterli genişlikte olursa bu alanlarda bakteriler bulunabilir [46].

**4. Yüzeysel Tabaka:** Yüzeysel tabaka nispeten etkilenmemiş tabakadır. Lezyon gövdesine oranla daha az porların olduğu (%5'den az) ve radyoopasitesinin sağlam mine ile kıyaslanabileceği bir tabakadır. Tükürükle temasından dolayı hipermineralize olmuştur ve bitişik sağlam mine dokusuna oranla daha fazla konsantrasyonda flor iyonu içerir. Bunun yanında hipermineralize yüzeyin cilalanarak kaldırılması, çürük lezyonu üzerinde iyi mineralize olmuş, tipik yüzeyin yeniden oluşumunu engeller. Bu nedenle başlangıç lezyonu üzerindeki sağlam mine dokusu demineralizasyon sürecinin bir fenomenidir. Yüzeysel tabaka bakteri invazyonuna karşı bir bariyer görevi görmektedir. Bu alanlar muhtemelen bakterilerin çürük lezyonuna ilk girdikleri yerlerdir. Çürük süreci bu aşamada önlenbilirse zamanla pürüzlü olabilecek sert bir yüzey oluşabilir [42, 46].

#### **2.4. Demineralizasyon**

Demineralizasyon, ağız ortamının pH'sının düşmesi ile beraber diş dokusunda bulunan özellikle kalsiyum ve fosfat minerallerindeki çözünme olarak tanımlanmaktadır [47].



Diş çürüğü formasyon süreci, diyet sükrözü dental biyofilmdeki asidojenik bakterilerce ulaşılabilir olduğunda başlar. pH, biyofilm sıvısı içinde istirahat pH'ı olan 7'den 5'e doğru hızla azalır ve biyofilm ve mine yüzeyi arasındaki ara yüz boyunca ilerler ve mine çözünmesi için gerekli olan kritik pH'ya (5,5) ulaşınca kadar devam eder. Dental plak kalsiyum ve fosfat ile doymuş olmasına rağmen, ortamdaki H<sup>+</sup> konsantrasyonundaki hızlı artış (100-1000 kat), sağlam yüzey ve yüzeyaltı minesinde HA kristallerini çevreleyen gözeneklerde sıvı içine hidrojen iyonu difüzyonu için itici bir güç sağlar. Bu süreç kalsiyum ve fosfatın yüzeyaltı mineden biyofilm üzerine hareketi sonucu yüzeyaltı minesinin demineralizasyonu ile sonuçlanır [27].

#### **2.4.1. Demineralizasyon Uygulama Yöntemleri**

Çalışma modeli bazı gerçek dünya fenomenlerini simüle eden bir süreçtir. Böylece araştırmacı bu fenomen hakkında bilgi elde edebilir. Karyoloji araştırmalarında, klinik ve in situ çalışmaların da kullanılmasıyla birlikte en yaygın olarak kullanılan yöntem in vitro modellerdir [48].

Hem doğal hem de yapay çürük oluşumunda en çok bilinen mekanizma asit demineralizasyonudur. Bunun dışında proteolitik enzimler ve diğer enerjilerle, örneğin lazer ile de çürük oluşturma çalışmaları yapılmaktadır. Asitler kullanılarak oluşturulan lezyonlar asitin nasıl oluştuğu göz önüne alınarak temel olarak iki gruba ayrılabilir; kimyasal ve bakteriyolojik teknikler [49].

##### **2.4.1.1. Asit Tamponların Kullanıldığı (Kimyasal) İn Vitro Demineralizasyon Modeli**

Kimyasal sistemler asidik bir ortamda iyon difüzyonu ile dişin demineralize olması esasına dayanır [50]. Asitli jelatin jeli veya kalsiyum, fosfat ve florid içeren, pH seviyesi dikkatlice ayarlanmış solüsyonların kullanıldığı en basit çürük oluşturma yöntemidir. Tampon solüsyonlarında; laktik asit, asetik asit veya her ikisi birden kullanılabilir. Bu yöntemde; örnekler çürük lezyonu oluşturabilmek amacıyla mine veya diş köklerinde pencereler oluşturularak günler hatta aylarca tampon solüsyonlarında tutulmaktadır. Bu lezyonlar histolojik olarak doğal lezyonlara benzer özellikler sergileyebilmektedirler [51].

#### **2.4.1.2. Bakteriler Tarafından Üretilen Asitlerin Kullanıldığı (Bakteriyolojik) İn Vitro Demineralizasyon Modeli**

Bakteriyolojik tekniklerin esası demineralizasyon için gerekli asitin sistemdeki bakteriler tarafından üretilmesidir. Kimyasal sistemlerde olduğu gibi, bir pencere açıkta kalacak şekilde hazırlanan dişlerin diğer kısımları asite dayanıklı verniklerle kaplanır. Daha sonra dişler çeşitli şekillerde hazırlanan bakteriyel demineralizasyon sistemlerine maruz bırakılır. Bu sistemlerde genelde çeşitli bakteri kültürleri ve besleyici ajanlar kullanılır [49].

Mikrobiyal esaslı çürük modelinde dişler bir reaksiyon bölgesi içinde dönen bir bağlantıya sabitlenir. Karyojenik ortam, streptokokus mutans inokülasyonu ile kombine edilen, sırasıyla triptikaz soya suyu, yapay tükürük ve sükröz solüsyonlarının dişler üzerine sürekli damlatılmasıyla elde edilir. Bu model primer ve sekonder çürük benzeri mine lezyonlarının eş zamanlı üretimine izin verir [52].

Bakteriyolojik tekniklerin dezavantajları bakterilerle çalışmanın insan sağlığı ve çevre açısından riskli olması ve diğer yöntemlere göre uygulanmalarının zor olmasıdır. Kullanılan besleyici ajanın belirli periyotlarda tazelenmesi gerekir. Ayrıca bakteriyolojik modeller, örneğin bir asit jel sistemi kadar iyi tanımlanmamıştır ve kültürlerin kullanımı in vivo şartları tamamen sunamayabilir [49].

#### **2.4.1.3. pH Siklus Modelinin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon/Remineralizasyon Modelleri**

İn vitro pH siklus modellerindeki demineralizasyon-remineralizasyon kombinasyonu çürük oluşum sürecindeki mineral kayıp ve kazanç dinamiklerini taklit etmek için tasarlanmıştır [48]. pH siklus modelleri klinik uygulamalardan daha duyarlıdır ve küçük örnek büyüklüğü ile bile yüksek düzeyde bilimsel kontrol sağlanabilir. Bu avantajları sayesinde pH siklus modelleri, çürük sürecinin ilerleyişini ve çürük önleyici ajanların muhtemel mekanizmasını anlamaya yardımcı olur [48].

İn vitro pH siklus modeli, lokal çözünme fazının apatit mineral fazı ile aşırı doymuş olması nedeniyle demineralize minenin tamirinin gerçekleştiği (remineralizasyon) veya lokal çözünme fazının apatit mineral fazıyla doymamış

olduğu asidik koşullarda mine kristallerinin çözünmesinin gerçekleştiği (demineralizasyon) in vivo şartları taklit edebilmek amacıyla oluşturulmuştur. İn vivo şartlarda demineralizasyon ve remineralizasyon süreçleri gün içerisinde ard arda gerçekleşmektedir. Genellikle in vitro pH değişim deneyleri, mine örneklerini her gün yaklaşık 6 saat süreyle demineralizasyona 24 saatlik sürenin geriye kalan kısmında ise remineralizasyona tabi tutmak üzere tasarlanmaktadır [53].

Bu yöntemin dezavantajları:

1. Çürük gelişimine yol açan karmaşık ağız içi koşullarını (yapay ağız sistemleri, bakteriyel biyofilm ve tükürük kullanılsa bile) tam olarak taklit etmesi mümkün değildir.

2. Oral yüzeyler farklı hacimlerde yıkandığı ve tükürük bileşenleri farklı olduğundan in vivo olarak karşılaştığımız tükürük/plak sıvısı kompozisyonunu ve yüzey alanı/solüsyon oranlarını taklit edemez.

3. Substrat seçimi, test koşulları ve de-remineralizasyon süreleri ile ilgili bazı eksiklikleri vardır.

4. Oral kavite ürünlerinin klirensinin ve topikal kullanımının tam olarak taklit edilmesi mümkün değildir [48].

## **2.4.2. Demineralizasyon Analiz Yöntemleri**

### **2.4.2.1. İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektroskopisi (ICP-AES)**

Multielement ICP-AES tekniği iyi tekrarlanabilirlik ve yüksek verimlilik ile karakterizedir. Bu yöntemin ayırt edici özelliği kaynağın yüksek sıcaklığı nedeniyle kimyasal etkileşimler için düşük duyarlılık göstermesidir. Yöntemin bazı kısıtlamaları vardır. Bu kısıtlamalar temel olarak çok sayıda spektral levhanın varlığına bağlıdır. Ancak problemlerin çoğu yarı iletken dedektörlü son nesil spektrofotometreler kullanılarak elimine edilebilir. Bu spektrofotometreler her elementten aynı anda birçok çizgi oluşumu ile analitik bilgi elde edilmesini sağlar [54].

ICP-AES tekniği bir ışın floresans alanında örnekten argon geçirilerek kullanılır. Örnek plazma içerisine bırakıldığında atomlar uyarılır ve elementlerin belirlenmesi için değişen dalga boylarında son derece stabil bir ışık yayılır. Bu teknik, element analizi için oldukça popüler bir hale gelmiştir [55].

Örnekler cihaza aerosol, buhar veya ince toz halinde ilave edilebilir. Diş örneklerinin analizi aerosol formda yapılır. Diş örnekleri çözündükten sonra elde edilen solüsyon bir peristaltik pompa yardımıyla cihaz içerisine yerleştirilir. Örnekler aerosol edilir ve argon sprey formunda taşınır. Aerosoller ısıtılır ve ısı yaklaşık 10000 °C'ye ulaşıncaya kadar ışınlanır. Böylece örnekler tamamen atomize olur ve enerji salınır. Işık bir dedektör ile aktarılır ve her bir element, dalga boyuna göre tanımlanmış olur [55].

#### **2.4.2.2. Mikro Bilgisayarlı Tomografi (Mikro-BT)**

Mikro-BT sisteminde, mikrofokal spot X ışını kaynakları ve yüksek çözünürlüklü dedektörler kullanılır. Bu sayede örneklerin 3 boyutlu görüntüsü elde edilebilir. Bu görüntüler, numunenin atom içeriğinin ve X ışın kaynağının enerjisi ile kararlı hale geçmiş lineer azaltma katsayılarının mekansal dağılım haritalarını temsil eder [56].

Mikro-BT diş hekimliğinde; mine kalınlığının ölçülmesinde, kök kanal morfolojisinde, kök kanal preparasyonunun değerlendirilmesinde, kraniofasial iskeletsel yapının incelenmesinde, sonlu elemanlar analizinde modellemede, dental doku mühendisliğinde, diş sert dokularındaki mineral yoğunluğunun ölçülmesinde ve dental implantların değerlendirilmesinde kullanılabilir [56].

Mikro-BT sistemi yeni ve gelişmekte olan bir teknolojidir. Mikro-BT'nin en önemli avantajı yıkıcı olmamasıdır. Bu avantajı sayesinde, aynı lezyonda demineralizasyon-remineralizasyon süresince mineral değişikliklerini ölçmek ve görselleştirmek mümkündür [57]. Son yıllarda mikro-BT sistemi dişler ve kemiklerdeki mineral konsantrasyonunu %1'den daha iyi bir doğruluk ve 5-30 µ arasında bir çözünürlük ile kantitatif olarak ölçmek için geliştirilmiştir. Mikro-BT'nin diğer avantajları kesit kalınlığının sabit olması ve fiziksel kesmeye bağlı düzensizliklerin önlenbilir olmasıdır. Ayrıca, minimum kesit kalınlığı yalnızca, X

ışını demetinin büyüklüğüne bağlıdır, bu yüzden mikro-BT dilimleri kesme makinası kullanarak alınan dilimlerden daha ince olabilir. Bu sayede mikro-BT dişlerin mineral konsantrasyonlarının analizi için daha popüler hale gelmiştir [56].

#### **2.4.2.3. Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (FTIR)**

FTIR, katı, sıvı ya da gazların absorpsiyon, emisyon, fotoiletkenlik veya raman saçılımının kızılötesi spektrumunu elde etmek için kullanılan bir tekniktir. Bir FTIR spektrometresi aynı anda geniş bir spektral aralıkta spektral veri toplar. Bu özelliğiyle dalga boyu dar, yoğunluğu ölçen bir dispersif spektrometreye göre belirgin üstünlük sağlar [58].

FTIR, yıkımsız bir yaklaşım olarak, kemik ve diğer mineralize dokulardaki kimyasal değişikliklerin karakterizasyonu için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir [59].

Tüm kimyasal bağlar moleküler çerçevede atomik grupların hareketlerini kapsayacak şekilde titreşime maruz bırakılır. Bunlar bağların gerilmesi, iç- ve dış-düzlemin açısız bükülmesi, sallama (bir bağ ve bir düzlem arasındaki açı değişimi) ve bükmedir (iki düzlem arasındaki açı değişimi). FTIR spektrumları tüm diş dokusu bileşenleri hakkında bilgi verir. Protein ve mineral bileşenleri yoğun ve yapı-duyarlı infrared modlarda elde edilir. Grafikteki pik noktaları işaretlenir. FTIR ile ilgili en çok bildirilen parametreler mine matriks oranı, mineral olgunlaşması ve kristalinitesi ve kollojen olgunlaşmasıdır [60].

#### **2.4.2.4. Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (SEM-EDX)**

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) cisimlerin yüzeyini incelemek üzere geliştirilmiştir. Bu mikroskopta uygun bir saptırıcı düzenek aracılığıyla bir elektron demetinin incelenecek yüzeyi sürekli olarak taraması sağlanır. Yüzeye çarpan elektronlar ikincil elektronların fırlamasına yol açar. Bu ikincil elektronlar, elektronların çarpmasıyla kısa süreli ani ışık parlamaları oluşturan kristale gönderilir. Kristalde ortaya çıkan parlamalar bir lamba aracılığıyla elektrik sinyaline dönüştürülür ve başka bir lambanın ekranında yüzeyin yapısını gösteren bir görüntü elde edilir [61].

Enerji dağılımlı X ışını spektroskopisi (EDS, EDX, veya XEDS) bir numunenin element analizi veya kimyasal karakterizasyonu için kullanılan analitik bir tekniktir. Bu sistemin karakterizasyon yetenekleri temel olarak büyük ölçüde her elementin X ışını spektrumunda tepe noktaları oluşumuna izin veren benzersiz atomik yapısından kaynaklanmaktadır [62]. EDX elementin atomik yapısının analizi için SEM ile bağlantılı olarak kullanılan bir tekniktir. Bu sistemle SEM ile yapısal analiz yaparken, EDX vasıtasıyla da element analizi yapılabilir. Çalışma prensibi, dış kaynaklardan gelen elektronlar ile materyalin atomları çarpıştığında X ışını fotonları formunda enerji yayılması şeklindedir. Böylece o elementin X ışını karakteristiği oluşur. Numune, SEM elektron ışını ile bombardıman edildiğinde, elektronlar numune yüzeyinde atomlardan uzaklaştırılır. Oluşan elektron boşluğu daha yüksek halkalardaki elektronlar ile doldurulur ve bu iki elektron arasındaki enerji farklılığının dengelenmesi için X ışını yayılır. EDX X-ışını dedektörü yayılan X ışınlarının enerjilerini ölçer. X ışınının enerjisi yayıldığı elementin karakteristiğini gösterir. Enerji spektrumu ile tespit edilen X ışınlarının rölatif sayısı elde edilir ve nitel değerlendirilir. Elementlerin kantitatif tayini bilgisayar bazlı bir program kullanılarak yapılır [63].

### **2.5. Remineralizasyon**

Remineralizasyon, demineralizasyon süreci boyunca kaybedilen minerallerin tekrar diş yüzeyine depolanması olarak tanımlanmaktadır ve dinamik çürük oluşum sürecinin bir parçasıdır [64].

Mine çürüğünün yeniden remineralize olabilmesi için, öncelikle yüzeyde herhangi bir kavite oluşmaması gerekir. Bir kavitenin oluşmadığı beyaz, opak mine lezyonlarında, mine prizmaları normal kristal yapılarını kaybetmemiştir. Mine yüzeyinin iyon geçişine izin vermesi sayesinde tükürükteki kalsiyum ve fosfat iyonları lezyonun yüzeyine çökelirler ve başlangıç lezyonlarının remineralizasyonuna neden olurlar [65].

Fizyolojik şartlar altında oral sıvılar (tükürük ve biyofilm sıvısı), mine mineral içeriğine göre doymuş konsantrasyonlarda kalsiyum ve fosfat içerirler ve bunun sonucunda bu iyonlar sürekli olarak mine yüzeyi üzerine ya da kayıp mine alanlarına yeniden birikirler. Bu, ağızda minenin mineral yapısını korumak için

tükürük tarafından desteklenen bir doğal savunma mekanizmasıdır. Bu nedenle remineralizasyon, mineden kaybedilen minerallerin redepozisyonu olarak tanımlanabilir ve bu terim rehardening ya da mine tamiri ile eş anlamlı olarak kullanılabilir. Mineden mineral kaybının redepozisyonu biyofilm sıvısında bulunan kalsiyum ve fosfat ile ya da fırçalama ile biyofilmin uzaklaştırılmasından sonra tükürük kalsiyum ve fosfatı ile doğrudan sağlanabilir [41].

## **2.5.1. Remineralizasyon Uygulama Yöntemleri**

### **2.5.1.1. Flor**

#### **2.5.1.1.1. Florun Tarihçesi**

Dişlerin florid içerdiğini ilk defa Morichini (1803) bildirmiş ve bunu takip eden yıllarda birçok araştırmacı dişlerdeki florid miktarının diş sağlığını olumlu yönde etkilediğini savunmuştur [66]. Toumba, diş hekimliği literatürüne floridin girişinin 1800'lü yıllara uzandığını bildirmiştir [67].

Florun diş hekimliğinde kullanımı ilk olarak 19. yüzyılda başlamıştır. 1847'de Edhart ilk olarak florun profilaktik rolünden bahsetmiştir. Edhart floridin diş minesini güçlendirerek çürük ataklarına karşı dirençli hale getirdiğini belirtmiştir. Florid tabletleri ise ilk olarak İngiltere'de potasyum florid formunda hazırlanmıştır. Bu tabletlerin özellikle diş değiştirme dönemindeki çocuklara ve hamile kadınlara verilmesi tavsiye edilmiştir [68].

1896'da Dr. A. Denninger ise diş minesinin diş tabakaları için koruyucu bir tabaka olduğunu ve mineyi güçlendirmek için flora ihtiyacı duyulduğunu belirtmiştir. Florun besinlerle de alınabileceğini ancak bunun yeterli olmayacağını, kalsiyum florid tablet uygulamasının basit ve ucuz bir uygulama olduğunu ve günlük yemeklerle alınması halinde yeterli olabileceğini belirtmiştir [68].

Ülkemizde diş hekimliğinde florür iyonu konusunda ilk araştırma ve yayın 1955'te Prof. Dr. Pertev Ata tarafından Isparta'da yapılmıştır. Isparta da içme sularındaki florür iyonu miktarı tespit edilmiş ve 10-18 yaşlarındaki çocukların dişlerini çürük ve dış görünüş bakımından incelemiştir. Çalışmada Afyon ilindeki

çocukları da kontrol grubu olarak kullanmıştır, ayrıca çürüğe karşı dirençli olabilen ancak lekeli mine olarak adlandırılan florozis vakalarından da bahsedilmiştir [69].

Diş çürüklerini önlemek için içme suyuna flor ilavesi 20. yüzyılın en önemli halk sağlığı başarılarından biri olarak kabul edilir. Diş çürüklerindeki düşüş ile eş zamanlı olarak, floride maruz kalmanın bir yan etkisi olarak florozis prevalansında bir artış olmuştur. Dental florozis dünya çapında son derece yaygın olmaya devam etmektedir. 2005 yılında Amerika’da yapılan bir çalışmada, 6-39 yaşları arasındaki bireylerin %23’ünde hafif veya daha fazla seviyede mine florozisine rastlanmıştır [70].

#### 2.5.1.1.2. Florun Yapısı ve Özellikleri

Flor, periyodik sistemin VII A grubunda olup, atom ağırlığı 18,998, atom numarası 9, erime sıcaklığı  $-219,6^{\circ}\text{C}$ , kaynama sıcaklığı  $-188,14^{\circ}\text{C}$ , moleküler ağırlığı 38 ve valans değeri 1 olan ve yer kabuğunda %0,027 oranında bulunan bir elementtir. Henri Moissan tarafından 1866’da Fransa’da keşfedilen flor elementi ismini Türkçe’de “akmak” (to flow) anlamına gelen Latince’deki “fluere” kelimesinden almıştır. Ana element flor (F) mat yeşilimsi-sarı renkte bir gazdır ve karakteristik keskin bir kokuya sahiptir [71]. Halojen grubuna ait eser elementlerden biri olan  $\text{F}^-$ , yüzey enerjisinin diğer tüm elementlerden daha yüksek olması sebebiyle en elektronegatif ve reaktif element olarak adlandırılır. Diğer atomlarla hızlı bir şekilde reaksiyona girdiği için doğada çok nadir olarak serbest element olarak bulunur, genellikle inorganik florid bileşikleri halindedirler. En önemli florid içeren mineraller, kalsiyum florid [ $\text{CaF}_2$ ; %49 F] ve floroapatit [ $\text{Ca}_{10}\text{F}_2(\text{PO}_4)_6$ ; %6,3 F]’lerdir [72].

Sularda, toprakta, kayalarda, atmosferde, yiyecek ve içeceklerde, bitki ve hayvanlarda ve canlı dokularda bulunan flor, bitkilerde en çok çay ve tütünde, hayvansal gıdalar arasında ise en çok balıkta bulunur [73].

Flor yer kürede %0,03 oranında bulunur. Florspar, kriyolit, fluorapatit, mika, hornbled ve tumarin florürce en zengin olan minerallerdendir. Volkanik kayalar, mika mineralleri (sirolit, florit, flor apatit) ve termal kaynaklar doğal sularda yüksek flor konsantrasyonlarına neden olmaktadır. Yüzey sularında flor düzeyi genellikle



1 mg/l'nin altındadır. Florürce zengin minerallerle temas eden derin yer altı sularında veya daha sıcak kaynak sularında bu miktar 20-53 mg/l'ye kadar çıkabilmektedir [74].

### 2.5.1.1.3. Florun Etki Mekanizması

Flor alımıyla çürük sıklığının azalması arasındaki ilişki birçok araştırma ile açıklanmaya çalışılmıştır [75-78]. Florid iyonunun mine dokusu üzerindeki çürük engelleyici etkisini; mineral yapının çözünürlüğünü azaltarak/engelleyerek, bakterilerin asit üretimini engelleyerek ve remineralizasyonu arttırarak gösterdiği belirtilmiştir [79].

Çeşitli kaynaklardan alınan florun mine dokusu üzerine etkisi sürme öncesi ve sonrası olarak iki dönemde incelenebilir. Dişler sürmeden önce flor, amelogenezis safhasında, mine oluşum periyodunda çeşitli enzimatik olaylarda eser element olarak görev alır [80]. Amelogenezisin sıvı fazında ortamdaki serbest florür iyonları apatitik mineral gelişimini hızlandırmaktadır.[81] Ayrıca florun, mine organik matriksinin mineralizasyonu esnasında ortokalsiyum fosfatın hidroksiapatite dönüşmesinde katalizör olarak rol oynadığı bilinmektedir [80].

Dişlerin sürmesinden sonraki dönemde floridler, demineralizasyonu inhibe etmek, remineralizasyonu geliştirmek, plağın asit oluşturma kapasitesini ve yapışkanlığını azaltmak gibi birçok yolla çürük oluşumu sürecine müdahale etmektedirler [82].

Mineralizasyonu tamamlanmış minedeki flor miktarının, önemli derecede artması için dokuda pörözite bulunması veya apatit yapının kimyasal olarak yıkıma uğramış olması gerekir. Yüksek oranda flor içeren ve düşük pH'daki solüsyonlar, jeller ve patların uygulanması sonucunda minenin flor konsantrasyonu arttırılabilir [83].

Yüksek oranda ve düşük pH'da flor, dişe uygulandığında bir miktar apatit kristalleri yıkılır. Dişin mineral içeriğindeki fosfat ve hidroksil iyonları solüsyona katılır ve  $CaF_2$  veya diğer flordan zengin bir bileşik halinde dış minede depolanır. Gelişmekte olan kemiklerde de benzer olaylar gerçekleşir. Mineralize dokuda, apatit yapısına giren florun çoğu  $OH^-$  iyonu ile yer değiştirir veya eşit büyüklükteki

boşluğu doldurur. Flor iyonu, daha büyük olan  $\text{PO}_4^{-3}$  iyonu ile yer değiştirir ve aynı zamanda dokuda bulunan  $\text{CO}_3^{-2}$  ve  $\text{HCO}_3^-$  iyonlarının yerine geçebilir [72]. Florür iyonları yapıya  $\text{F}^-$  veya  $\text{CO}_3\text{F}^{-3}$  şeklinde geçer,  $\text{F}^-$  iyonları  $\text{OH}^-$  iyonları ile tümüyle yer değiştirirlerse, mineral yapı  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$  formülüyle fluoroapatite dönüşür. Çok stabil olan florapatit yapısı ideal kompozisyon olarak kabul edilmektedir [84].

Dişlerin gelişimi sırasında aşırı flor alımı, bir tür mine ve dentin mineralizasyon bozukluğu olan diş florozisine neden olmaktadır. Florozisin klinik görünümü diş yüzeyi boyunca uzanan beyaz opak çizgilerden, minenin tüm bölümlerinde gözlenen tebeşirimsi beyaz görünüme kadar değişebilmektedir. İleri safhalarda ise, mine pöröz (mineralizasyonu bozuk) bir hal alır, minenin yüzeyel tabakasının üst kısmı sürme sonrası kırılır ve açığa çıkan, yüzeyin altındaki pöröz mine lekelenip, renklenir. Dental florozisin daha şiddetli formlarında sürmeyi takiben, minenin yüzeyel tabakasının büyük bir kısmı hızlı bir şekilde aşınmaktadır. Bu durum alttaki çabuk renklenen pöröz minenin açığa çıkmasına neden olur [85].

#### 2.5.1.1.4. Flor Uygulama Yöntemleri

Diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan flor içerikli ürünler; tabletler, damlalar gibi sistemik veya jeller, vernikler, macunlar, gargaralar gibi lokal olarak uygulanabilmektedir. Lokal olarak uygulanan florun bir kısmı yutularak sistemik dolaşıma geçebilir [86].

**Sistemik Florid Uygulamaları:** Sistemik florür uygulamaları; florürün, minenin organik matriks oluşumu ve mineralizasyonu esnasında, yapıyı güçlendirmek amacıyla diş yapısına uygulanmasıdır. Sistemik uygulama, içme sularına, okul sularına florür katılması, florür tabletleri, tuza ve süte florür katılması şeklinde olabilmektedir. Sistemik olarak alınan florür, aynı zamanda plak mine ara yüzünde topikal etkiler de gösterir, çünkü yutulan florürün bir kısmı metabolizmayı takiben tükürük veya dişeti sıvısı içine de ulaşmaktadır [87].

**Topikal Florid Uygulamaları:** Topikal florid uygulamalarında çürük önleyici etki minenin remineralizasyonunu sağlama esasına dayanmaktadır [88].

Topikal florid ajanları bireysel bakım ya da profesyonel uygulama (diş hekimi) için kullanılmaktadır. Bireysel bakım amacıyla, diş macunu, kürdan, diş ipi,

jel, yapay tükürük, pastil, sakız ve gargaralar gibi floridli ajanlar kullanılabilir. Profesyonel uygulamalar için jel, profilaksi patı, cila, cam iyonomer siman ve diğer yavaş salınım sistemleri bulunmaktadır. Bireysel ve profesyonel kullanım için birçok farklı florid bileşiği bulunmaktadır. Bunlar üç ana katagoriye ayrılmaktadırlar [82]:

1. İnorganik bileşikler; sodyum florid (NaF), kalay florid ( $\text{SnF}_2$ ), amonyum florid ( $\text{NH}_4\text{F}$ ), ...vb: tuzları kolay çözünür, serbest florid sağlar.

2. Monoflorofosfat içeren bileşikler; sodyum monoflorofosfat ( $\text{Na}_2\text{FPO}_3$ )...vb: florid  $\text{FPO}_3^{2-}$  içinde kovalent bağlı olarak bulunur ve serbestleşmek için hidrolize olması gerekir.

3. Organik floridler; amin florid ve silan florid gibi.

İlk floridli macunun kullanımından bugüne çeşitli florid bileşikleri çürük önleyici etkinin artırılması amacıyla denenmiş ve en çok sodyummonoflorofosfat (NaMFP), NaF ve aminfloridler kullanılmıştır [89].

### **2.5.1.2. Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)**

#### **2.5.1.2.1. CPP-ACP'nin Tarihçesi**

Reynolds (1987) in situ çürük modeli kullanarak, kazeinin triptik peptidlerinin mine yüzeyinin demineralizasyonunu önemli ölçüde azalttığını rapor etmiştir. Reynolds EC ve arkadaşları 1995 yılında yaptıkları bir çalışmada %1'lik CPP-CP'nin, 500 ppm florid solüsyonuna benzer şekilde düz yüzey çürüklerinde ve fissür çürük aktivitesinde sırasıyla %55 ve %46'lık azalma sağladığı rapor edilmiştir [7]. 1997 yılında yaptıkları çalışmalarında CPP-stabilize kalsiyum fosfat solüsyonlarının üçüncü molar dişlerde yüzeyaltı lezyonlarını remineralize ettiğini rapor etmişlerdir [90].

#### **2.5.1.2.2. CPP-ACP'nin Yapısı ve Özellikleri**

Kazein, sütte 30-300 nm çapında partiküller halinde yüksek miktarda bulunan bir fosfoproteindir ve total proteininin yaklaşık %80'ini oluşturur [91-93]. Doğal halinde kazein partikülleri yüksek oranda kalsiyum ve fosfor ihtiva ederken daha az oranda magnezyum ve sitrat içerirler ve sıklıkla kazeinatfosfat ve kalsiyumfosfokazeinat partikülleri olarak adlandırılırlar [93, 94]. Süt kazeinleri

kalsiyum ve fosfat iyonlarını nötral ve alkalın şartlar altında stabilize eder ve onları yeni doğan için kullanılabilir hale getirir. Kazeinlerin triptik sindirimi fosforile seril kümeleri içeren N-terminal kutup bölgelerinden fosfopeptitleri getirir. Bu fosfoseril kümelerinin kazein ve kazein misilleri oluşumuna yol açan kalsiyum ve fosfat arasındaki etkileşimden sorumlu olduğu öne sürülmüştür [95].

Süt ve süt ürünlerinin çürük önleyici etkiye sahip olduğu bilinmektedir [93, 96, 97]. Ancak bu etkinliği gösterebilmeleri için çok büyük miktarlarda tüketilmeleri gerekmektedir. Bu nedenle araştırmacılar, çürüğü önlemek amacıyla süütün içerisindeki koruyucu faktörleri ayırarak kişisel ürünler içerisinde kullanmaya yönelik çalışmalara odaklanmışlardır [93, 94]. Sonuç olarak sütteki koruyucu faktör olan kazein fosfopeptid (CPP), seçici çökelme yöntemi kullanarak kazeinin tripsin enzimi ile parçalanması sonucunda elde edilmiştir [93, 98].

Kazein fosfopeptid (CPP), kazeinin protein dizilimini (-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu) içerir [6, 91, 93, 99, 100]. CPP, kalsiyum fosfatı CPP-amorf kalsiyum fosfat (ACP) kompleksi şeklinde stabilize edebilir [92].

Laboratuvar, hayvan ve insan çalışmaları ile CPP-ACP nanokomplekslerinin antikaryojenik potansiyele sahip olduğu ispat edilmiştir [6, 7, 90, 99, 101] ve yüksek risk grubu hastalarda çürüğün önlenmesi için kullanılabilir [91]. Gastrit, reflü veya diğer hastalıklardan kaynaklanan dental erozyonu azaltmak, ortodonti hastalarında dekalsifikasyonu azaltmak, beyaz lezyonlarda mineyi onarmak, bleaching (diş beyazlatma) öncesi veya sonrasında, fluorozisde ve hassas dişlerde de (örneğin, beyazlatma prosedüründen kaynaklanan hipersensitivitenin azaltılması, dental erozyonlu hastalarda hassas dentinin tedavisi ve profesyonel diş temizliğinden sonra açık kök yüzeyinden kaynaklanan hassasiyetin azaltılması) kullanılabilir [91].

### **2.5.1.2.3. CPP-ACP'nin Etki Mekanizması**

#### **2.5.1.2.3.1. CPP-ACP'nin Antikaryojenik Etkisi**

Yapılan çalışmalarda kazeinin triptik peptitlerinin intraoral plağa dahil olduğu ve plaktaki kalsiyum ve fosfat miktarını arttırdığı bulunmuştur [6]. Kazein fosfopeptitin önerilen antikaryojenite mekanizması, koloidal kalsiyum fosfat

kompleksleridir ve bunlar plakta kalsiyum fosfat seviyesini arttırarak mine demineralizasyonunu baskılayıp remineralizasyonu arttırmaktadır [7].

Rat çürük modelleri kullanılarak yapılan çalışmalarda CPP-ACP nanokomplekslerinin antikaryojenitesi ispat edilmiştir [7, 102]. Reynolds EC ve arkadaşlarının 1995 yılında yaptıkları bir çalışmada kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat kompleksinin (CPP-CP) çürük aktivitesini azaltma yeteneği streptococcus sobrinus aşılınmış spesifik patojen içermeyen ratlar kullanılarak araştırılmıştır. Hayvanlara süt ürünleri içermeyen sükroz ve glutenden oluşan bir diyet uygulanmıştır. Bir gruba CPP-CP (%0,1, 0,2, 0,5, 1,0 w/v) solüsyonu uygulanırken (molar dişlere günde 2 kez ), diğer gruba 500 ppm florid uygulanmıştır. CPP-CP çürük aktivitesini doz-yanıt ilişkisine göre belirgin bir şekilde azaltmıştır. %1'lik CPP-CP, 500 ppm florid solüsyonuna benzer şekilde düz yüzey çürüklerinde ve fissür çürük aktivitesinde sırasıyla %55 ve %46'lık azalma sağlamıştır [7].

Rose RK, kazein fosfopeptitin antikaryojenitesini Streptokok model plak kullanarak araştırmıştır. Burada amaç plağa kalsiyum difüzyonunda CPP-ACP'nin etkinliğinin ölçülmesidir. %0,1'lik CPP-ACP'de kalsiyum difüzyonu pH 7'de %65, pH 5'de %35 civarında bulunmuştur [101].

Morgan MV ve arkadaşları dijital bitewing radyografi kullanarak tespit ettikleri ara yüz çürüklerinde CCP-ACP nanokompleksleri içeren şekeriz sakızların antikaryojenik etkilerini araştırmışlardır. Çalışma için 29 okuldan 2720 kişi rastgele 2 gruba ayrılmıştır (çalışma grubu, 54 mg CCP-ACP içeren sakız; kontrol grubu, CCP-ACP içermeyen sakız). Araştırmaya katılanlara 24 ay süresince günde 3 kez 10 dakika sakız çiğnetilmiştir. Başlangıçta ve 24 ay sonra bitewing radyografiler alınarak değerlendirme yapılmıştır. Sonuç olarak CPP-ACP içeren sakız çiğneyen bireylerde diğer gruba göre lezyon oluşumunda %18 azalma tespit edilmiştir [102].

#### **2.5.1.2.3.2. CPP-ACP'nin Remineralizasyona Etkisi**

Çürük oluşumu diş mine yüzeyinin demineralizasyonu ile başlar. Mine yüzeyinden kalsiyum ve fosfat iyonları kaybolur. Bu da yüzey lezyonlarının oluşumu ile sonuçlanır. Erken evrede çürük lezyonları kalsiyum ve fosfat iyonlarının yüzey lezyonlarına difüzyonu ile remineralizasyonu sonucu geri dönüşümlüdür ve

kaybedilen yapı yeniden kazandırılır [103]. Yapılan çalışmalarda CCP-ACP'nin demineralizasyonu inhibe ederken, remineralizasyonu arttırdığını gösterilmiştir [90, 99, 100, 104-109].

Clarkson BH ve arkadaşları 1991 yılında yaptıkları çalışmalarında dentinden çözülebilir fosfoproteinlerin varlığının kök çürüklerinin remineralizasyonunu inhibe ettiğini öngörmüşlerdir. Remineralizasyon solüsyonunda muhtemelen kompleks kalsiyum fosfat solüsyonunda çözülebilir fosfoprotein azalması kalsiyum ve fosfat iyonlarının aktivitesini azaltır ve bu da remineralizasyonu inhibe eder. CPP-stabilize kalsiyum fosfat iyonları mine demineralizasyonunu önlemek ve remineralizasyonu teşvik etmek için kullanılabilir [110].

Reynolds EC ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında CPP-stabilize kalsiyum fosfat solüsyonlarının üçüncü molar dişlerde yüzeyaltı lezyonlarını remineralize ettiğini rapor etmişlerdir [90].

Shen P ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada CPP-ACP içeren sakızların mine yüzey altı lezyonlarının remineralizasyonuna etkisini araştırmışlardır. Kontrol grubu olarak CPP-ACP içermeyen (sorbitol ve xylitol içeren) sakızlar kullanılmıştır. Sonuç olarak sorbitol ve xylitol içeren sakızlarda tükürük akışını stimule etmede ve mine remineralizasyonunda önemli bir farklılık gözlenmezken, CPP-ACP içeren sakızlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, mine remineralizasyonunda önemli bir artış tespit edilmiştir (0,19 mg %9, 10,0 mg %63, 18,8 mg %102, 56,4 mg %152) [99].

Iijima Y ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada CPP-ACP içeren sakızların remineralize ettiği yüzey altı lezyonlarının asit direncini araştırmışlardır. Çalışmada 18,8 mg CPP-ACP içeren sakız ve CPP-ACP içermeyen sakızın kullanıldığı 2 grup oluşturulmuştur. Demineralize yüzey altı lezyonu içeren mine örnekleri hareketli palatal aperey ile ağız ortamına yerleştirilmiştir. Her iki gruba da 14 gün boyunca günde 4 kez 20 dk süreyle sakız çiğnetilmiştir. Mine örnekleri ikiye bölünmüş ve her bir yarısı 8 ya da 16 saat asit içerisinde bekletilmiştir. Bu işlem sonucunda kontrol grubunda mineral içeriğinde %65,4 ve %88,0 azalma görülürken, çalışma grubunda bu değer %30,5 ve %41,8 bulunmuştur. Sonuç olarak CPP-ACP içeren sakızları

çiğneyen bireylerde remineralize mineralin, asit değişikliğine daha dirençli olduğu tespit edilmiştir [104].

Rahiotis C ve arkadaşları CPP-ACP ajanının (Tooth Mousse) dentinin demineralizasyonu ve remineralizasyonu üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında sert doku mikrotomu ile 40 dentin örneği hazırlamışlar ve örnekleri 4 gruba bölmüşlerdir (A,B,C,D). Örneklerin yüzey analizi mikro multiple reflektans infrared spectroscopy (micro MIR-FTIR) ile yapılmıştır. A grubuna Tooth Mousse uygulanırken B grubunda herhangi bir ajan kullanılmamış ve bu iki grup 7 gün demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. C grubuna Tooth Mousse uygulanırken D grubunda herhangi bir ajan kullanılmamış ve bu iki grup 7 gün yapay tükürük solüsyonunda bekletilmiştir. Sonuç olarak CPP-ACP içeren ajan uygulanan dişler diğerlerine göre daha düşük demineralizasyon, daha yüksek remineralizasyon göstermiştir [105].

Brochner ve arkadaşları ortodontik tedavi sonrası görülen beyaz lezyonların CPP-ACP ile tedavisini araştırmışlardır. Çalışmaya 60 adolesan katılmış ve 2 gruba ayrılmıştır. Çalışma grubundaki bireylere günde 1 kez CPP-ACP uygulanmıştır. Kontrol grubundaki bireylere dişleri standart floridli diş macunu ile fırçatılmıştır. Çalışmanın sonunda başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında beyaz lezyonlarda istatistiksel olarak anlamlı bir gerileme görülmüştür. Ancak gruplar arasında farklılık bulunmamıştır. Lezyonların ortalama alanının CPP-ACP'de %58, flor grubunda ise %26 azaldığı görülmüştür [111].

Bengü Topaloğlu'nun CPP-ACP içerikli patın mine demineralizasyonu üzerine etkisini incelediği tez çalışmasında, çekilmiş 20 adet çürüksüz alt daimi üçüncü azı dişi ve 20 adet alt süt ikinci azı dişi kullanılmıştır. Hem daimi dişler hem de süt dişlerinden 40'ar adet diş örneği elde edilmiştir. Bu örnekler kendi aralarında, her grupta 10'ar örnek olmak üzere rasgele 4 gruba ayrılmıştır. Birinci grupta (kontrol grubu) pH siklusu ile mine demineralizasyonu oluşturulurken diğer gruplarda bu işleme ilave olarak örneklere CCP-ACP içerikli pat (Grup 2), CCP-ACP içerikli pat ve diş macunu (Grup 3) ve sadece diş macununu (Grup 4) içeren farklı koruyucu tedaviler uygulanmıştır. SEM yüzey analizinden elde edilen ortalama %Ca/P oranları, hem ağırlık hem de atomik olarak karşılaştırılmış ve SEM

görüntüleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, mine demineralizasyonunu önlemede en etkili yöntemin, CCP-ACP içerikli pat ile birlikte sodyum florid içerikli diş macununun birlikte kullanılması olduğu, ayrıca tek başlarına kullanıldıklarında mine demineralizasyonu üzerinde aynı etkiye sahip oldukları bulunmuştur [112].

Aras ve arkadaşlarının başlangıç mine lezyonlarının tedavisinde florid ilave edilmiş CPP-ACPF ile floridli sütün etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında minede oluşan demineralizasyon ve remineralizasyonun belirlenmesi amacıyla 4 ayı test yöntemi uygulamışlardır. Uygulanan tedavilerin mine yüzeyinde oluşturduğu mineral kaybı ya da kazancının miktarının kalitatif olarak hesaplanabilmesi amacıyla Vicker's Mikrosertlik Testi uygulanmıştır. Asit içerisinde sert dokulardan çözünen Ca ve PO<sub>4</sub> iyonlarının tayini amacıyla İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometre (ICP-MS) ve İyon Kromatografi (IC) metodları kullanılarak kimyasal analiz yapılmıştır. Sağlam mine yüzeylerinde oluşturulan opak mine lezyonunun ve uygulanan tedavi edici ajanların mine yüzeyinde oluşturduğu mineralizasyon değişiklikleri DIAGNOdent kullanılarak değerlendirilmiştir. Minede oluşturulan başlangıç çürük lezyonunun yapısı ve tedavi sonrasında oluşan değişikliklerin belirlenebilmesi amacıyla SEM kullanılmıştır. Ayrıca tedavilerin mine örneklerinin mineral düzeyinde oluşturduğu değişiklikler mikroanalitik bir teknik olan Enerji Dağılımlı Spektroskopi (EDS) yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, başlangıç çürük lezyonlarının tedavisinde CPP-ACP içerikli preparatlar ile floridli sütün topikal olarak uygulanmasının minenin remineralizasyonunda florid tedavisine göre daha etkin olduğu bulunmuştur [113].

#### **2.5.1.2.4. CPP-ACP Uygulama Yöntemleri**

CPP-ACP günümüzde Recaldent™ (Recaldent Pty Ltd., Melbourne, Australia) ticari ismi altında pazarlanmaktadır. Topikal kullanıma uygun topikal jeller (Tooth Mousse™; GC Corp., Japan), şekersiz cikletler (Recaldent™, GC Corp., Japan ve Trident White™; Cadbury Adams USA, Parsippany, New Jersey, USA) ve naneli drajeler (Recaldent Mints™; Cadbury Japan altd., USA) bulunmaktadır [96].



### **2.5.1.3. Mine Matriks Türevleri (EMD)**

#### **2.5.1.3.1. EMD'nin Tarihçesi**

EMD'nin klinik uygulaması ile ilgili ilk çalışma 1997 yılında yayınlanmış [114, 115] ve o zamandan beri birçok araştırmacı EMD'nin mekanizması, klinik potansiteli ve terapotik potansiyeli ile ilgili çok sayıda çalışma yapmışlardır [116-120]

#### **2.5.1.3.2. EMD'nin Yapısı ve Özellikleri**

Mine matriks protein türevi (EMD), embriyo halindeki domuzların gelişmekte olan dişlerindeki Hertwing epitel kök kınından salgılanan mine matriks proteinlerinin (EMPs), saflaştırılmış asidik ekstresidir [121]. Çoğunluğunu amelogeninin oluşturduğu mine matriks proteini, hidrofobik yapıdadır [122]. Mine matriks türevlerinin %90'ını amelogenin, %10'unu prolinden zengin non-amelogenin, tuftelin, tuft protein, serum, ameloblastin, amelin ve tükürük proteinleri oluşturur [123]. Domuz ve inek dişlerinde amelogenezin salgılama aşamasında elde edilen amelogeninler, ağırlığın %20-30'unu oluşturmaktadırlar ve bu durumda fizyolojik koşullar altında katı veya jel formunda tutulmaları sağlanmaktadır. EMD, 4°C derecede translusent formda iken oda sıcaklığında opak bir materyal haline dönüşmektedir. Dereceye bağlı bu değişimler mine proteinlerinin yüksek oranda prolin içermelerine bağlanmaktadır [124].

#### **2.5.1.3.3. EMD'nin Etki Mekanizması**

Mine matriks proteinleri (EMP), diş germinin gelişimi sırasında Hertwig epitelyal kök kılıfı tarafından salgılanırlar. Bu proteinler mine ekstraselüler matriksine salgılanır ve burada diş kuronunu kaplayan mineralize mineyi oluşturmak için hidroksiapatit kristallerinin büyümesini başlatır ve düzenlerler. EMP'lerin biyomineralizasyon aktivitesi iyi belgelenmiştir. Olgun minenin hidroksiapatit kristalleri alışılmışın dışında geniş, üniform ve doku içinde düzenli olarak sıralanmış bir şekilde bulunurlar. Bu durum onların gelişiminin son derece kontrollü bir süreç olduğunu gösterir. EMP'lerin diş morfogenezisi sırasında mineral birikimi ve büyüme modülasyonunda önemli bir rol oynadığı varsayılmaktadır. Başlangıç kristalleri küçük ve magnezyum ve karbonat açısından zengindir. Yani nispeten zayıf kristallik gösterir. Kristal gelişimi sırasında matriks içerisindeki amelogenin ve

albumin konsantrasyonu artar. Mine olgunlaşması sürecinde kristal genişlik ve kalınlığında büyük bir artış görülür [2].

EMP'ler şu yollardan elde edilebilir [125]:

1. Diş germinden. Farklı türlerin amelogenin ve ameloblastin bölgesinin gen dizisi muhafaza edilir. Domuz amelogeninin gen dizisi insaninkine %96 benzerdir. İnsan mine matriks proteinlerinin elde edilmesi zor olduğu için araştırmacılar sığır veya domuz EMP'si elde etmek için kimyasal yöntemler geliştirmişlerdir.

2. Amelogenin ve non-amelogenin proteinin gen dizisine göre, bazı bilim adamları tarafından rekombinant sıçan amelogenini, Mr179, Mr166 gibi amelogenin rekombine edilmiştir.

3. Emdogain gibi ticari EMD. 1996 yılında Biora tarafından İsveç'te uygulanmıştır. Altı aylık domuz yavrusundan elde edilen gelişmekte olan embriyonik minenin saflaştırılmış asidik özüdür.

Mine matriks türevleri (EMD), EMP'lerin ticari olarak bulunabilen bir türevidir ve diş hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle periodontolojide, periodontal dokuların rejenerasyonunu uyarmak ve odontogenezi taklit eden bir rejeneratif süreci indüklemek için kullanılırlar. Son çalışmalar EMD'nin dental implantasyon, diş reimplantasyonu ve dental pulpa kapaklamasında da kullanılabileceğini göstermiştir [2].

EMD'nin çürük önleme ve tedavisindeki rolü ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur [2, 125-127].

Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında EMP kullanarak çok sayıda yeni hidroksiapatit kristalleri elde etmiş ve EMP'nin hidroksiapatit kristal oluşumu ve büyümesinde önemli bir rol oynadığını kanıtlamışlardır. Bu sayede mine matriks proteinlerinin mine remineralizasyonunu indüklediği gösterilmiştir [127].

Xiang ve arkadaşları başlangıç mine çürük lezyonlarında EMD'lerin remineralizasyon etkinliği araştırmışlardır. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre; EMD'nin başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunun başlatılmasında

önemli bir rol oynayabileceği, ancak bu lezyonların remineralizasyonunun tam olarak sağlanamadığı rapor edilmiştir [2].

#### **2.5.1.3.4. EMD'nin Uygulama Yöntemleri**

Xiang ve arkadaşları bir damla EMD (Emdogain) jelini, oluşturdukları başlangıç çürük lezyonun yüzeyine yüzeyi çok ince bir tabaka kaplayacak şekilde 3 dakika süresince uygulamıştır [2].

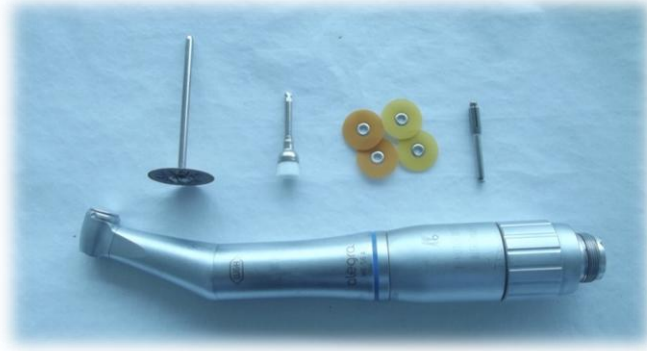
### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın deneysel bölümleri İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda; kimyasal solüsyonların hazırlanması İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda; deneysel incelemeler ise İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Dişlerin Hazırlanmasında Kullanılan Gereçler

- Mikro motor (L-MOTOR 181DBN Intramatik, Austria)
- Elmas separe
- Cila diskleri (ince-2382F, süperince-2382SF, Sof- Lex Extra Thin, 3M ESPE)
- Polisaj fırçası (Şekil 3.1)



Şekil 3. 1. Dişlerin hazırlanmasında kullanılan gereçler.

##### 3.1.2. Yüzey Alanını Belirlemede Kullanılan Gereçler

- Cetvel
- Yapışkan kâğıt
- Maket bıçağı
- Kalem
- Tırnak cilası (Alix Avien, Paris)

### 3.1.3. Remineralizasyon Ajanlarının Uygulanmasında Kullanılan Gereçler

- CPP-ACP içerikli pat (GC Tooth Mousse, Recaldent)
- Emdogain (Straumann USA, LLC)
- 500 ppm NaF içerikli diş macunu (Oral-B Stages, Oral-B Laboratuvarları, Hollanda)
- Pamuk uçlu aplikatör (Şekil 3.2)



Şekil 3. 2. Remineralizasyon ajanlarının uygulanmasında kullanılan gereçler.

### 3.1.3. Dişlerin Bekletileceği Solüsyonların Hazırlanmasında Kullanılan Gereçler:

- Kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
- Sodyum dihidrojen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )
- Asetik asit
- Potasyum klorür (KCl)
- Potasyum hidroksit (KOH)
- % 0,2'lik timol solüsyonu
- Deiyonize su
- Ph metre (CyberScan, pH 6000, Singapore)
- Cam şişe (1 litrelik)
- Plastik numune kapları (Şekil 3.3)



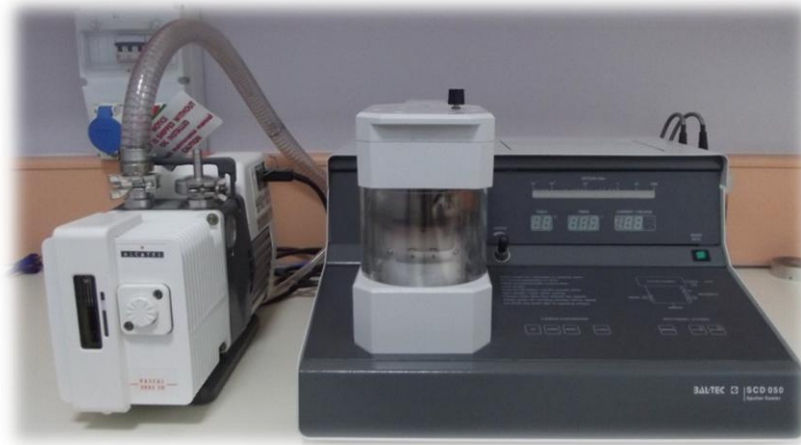
Şekil 3. 3. Dişlerin bekletileceği solüsyonların hazırlanmasında kullanılan gereçler.

#### 3.1.4. SEM ve EDX

Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CCP-ACP) ve amelogeninin insan daimi dişlerinde, mine üzerindeki remineralizasyon etkinliğini değerlendirmeyi amaçladığımız çalışmamızda; minede oluşturduğumuz başlangıç çürük lezyonunun yapısı ve tedavi sonrasında oluşan değişikliklerin belirlenebilmesi amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (LEO, EVO 40, England-Cambridge) kullanılmıştır (Şekil 3.4). Ayrıca uygulanan tedavi ajanlarının mine örneklerinin mineral düzeyinde oluşturduğu değişiklikler mikroanalitik bir teknik olan Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) (Bruker, 125 eV, Minden-Almanya) kullanılarak değerlendirilmiştir. Örnekler altın-paladyum (Au-Pd) kaplama cihazında (BAL-TEC, SCD50, Liechtenstein) kaplanarak yüzey özellikleri incelenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3. 4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (LEO, EVO 40, England-Cambridge).



Şekil 3. 5. Kaplama cihazı (BAL-TEC, SCD50, Liechtenstein).

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Dişlerin Toplanması

İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'na başvuran hastalardan çekim endikasyonu bulunan, gömülü, toplam 13 adet sağlam üçüncü büyük azı dişi toplanmıştır. Çalışmamızın etik kurul onayı Malatya Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (2013/146).

### 3.2.2. Mine Örneklerinin Hazırlanması

Dişler deney süresine kadar %0,2'lik timol içeren deiyonize su içerisinde bekletilmiştir. Timol içerisinden çıkartılıp distile su ile yıkanan dişlerin üzerindeki yumuşak doku artıkları bir kretuar yardımıyla uzaklaştırılmış ve dişlerin üzerindeki artıklar mikromotor ve fırça kullanılarak temizlenmiştir. Dişlerin vestibül ve lingual/palatinal mine yüzeyleri daha sonra su soğutması altında cila diskleri (ince-2382F, süperince-2382SF, Sof- Lex Extra Thin, 3M ESPE) kullanılarak düz bir zemin elde edilmiştir. Bu şekilde minenin en dış tabakası cilalanarak hem düz hem de kontamine olmamış bir yüzey elde edilmiştir.

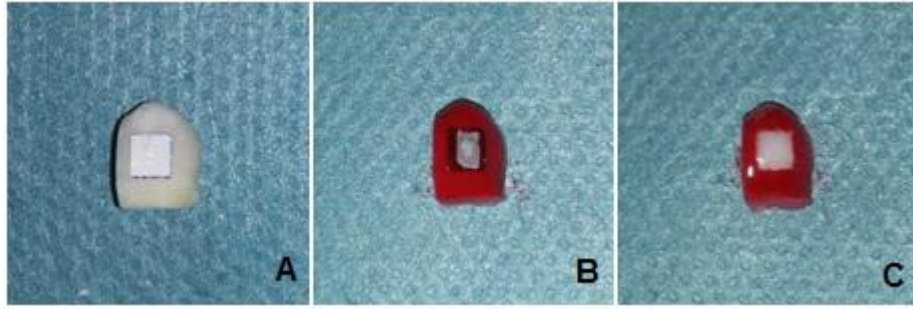
Dişlerin kuronları, mine-sement sınırından elmas separe ile su soğutması altında köklerinden ayrılmıştır. Dişlerin kuron pulpası ekskavatör yardımı ile uzaklaştırılmıştır. Daha sonra dişler mezio-distal yönde 2, bukkolingual yönde 2 parçaya bölünerek, her dişten toplam 4 adet mine örneği elde edilmiştir (Şekil 3.6).





Şekil 3. 6. Mine örneklerinin hazırlanması. A) Çekilmiş alt üçüncü molar diş, B) Dişin kuronunun elmas separe ile su soğutması altında kökünden ayrılması, C) Birbirinden ayrılmış kuron ve kök, D) Kuron pulpasının ekskavator ile uzaklaştırılması, E) Kuronun mesio-distal yönde iki parçaya ayrılması, F) Kuronun bucco-lingual yönde iki parçaya ayrılması.

Dişlerin mine yüzeyinin orta kısmında 3x3 mm'lik pencereler hazırlamak amacıyla 3x3 mm'lik etiketler yapıştırılmış ve etiket dışında kalan diş yüzeyleri aside dirençli vernik ile boyanmıştır (Alix Avien, Paris) (Şekil 3.7). Dişler deney süresine kadar distile su içerisinde saklanmıştır.



Şekil 3. 7. Örnek üzerinde 3x3 mm'lik pencerenin hazırlanması. A) 3x3 mm'lik etiketin yapıştırılması, B) Etiket dışında kalan diş yüzeyinin aside dirençli vernik ile boyanması, C) Etiket çıkarıldıktan sonra elde edilen çalışma yüzeyi.

### 3.2.3. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Elde edilen 52 adet mine örneğinden 2 tanesi çalışmadan çıkarılmıştır. Geriye kalan 50 mine örneğinden her grupta 10 örnek olacak şekilde 4 çalışma grubu ve 1 kontrol grubu olmak üzere toplam 5 deney grubu oluşturulmuştur (Şekil 3.8). Mine örneklerinin çalışma gruplarına ayrılması sırasında tedavilerin etkinliğinin aynı diş üzerinde değerlendirilebilmesi ve standardizasyon sağlayabilmek amacı ile her diştten elde edilen 4 adet mine örneği çalışma gruplarına eşit olarak dağıtılmıştır:

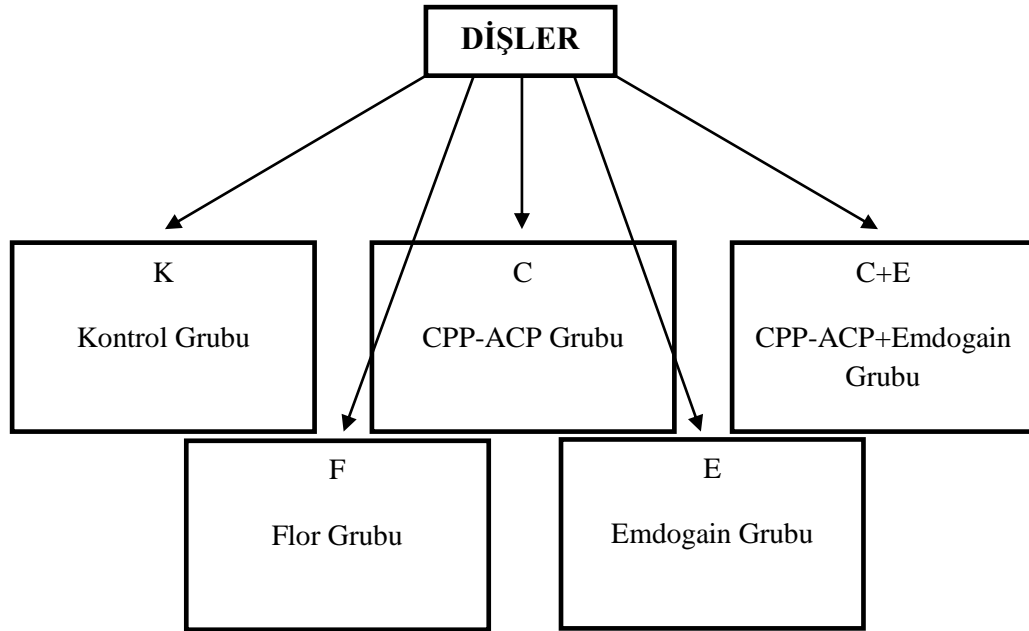
Kontrol Grubu (K): Herhangi bir tedavi uygulanmayan negatif kontrol grubu,

Flor Grubu (F): 500 ppm NaF içeren diş macunu (Oral-B Stages, Oral-B Laboratuvarları, Hollanda) uygulanan pozitif kontrol grubu,

CPP-ACP Grubu (C): CPP-ACP içerikli pat (GC Tooth Mousse, Recaldent) uygulanan grup,

Emdogain Grubu (E): Emdogain (Straumann USA, LLC) uygulanan grup,

CPP-ACP+Emdogain Grubu (C+E): CPP-ACP içerikli pat (GC Tooth Mousse, Recaldent) ile birlikte Emdogain (Straumann USA, LLC) uygulanan grup.



Şekil 3. 8. Deney gruplarının oluşturulması

#### 3.2.4. Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması

- 2,2 mM CaCl<sub>2</sub>
- 2,2 mM NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>
- 50 mM asetik asit
- Solüsyonun pH'sı 4,4 olana kadar 1 M Potasyum hidroksit (KOH) eklenmiştir.

#### 3.2.5. Remineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması

- 1,5 mM CaCl<sub>2</sub>
- 0,9 mM NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>
- 150 mM KCl
- Solüsyonun pH'sı 7,00 olana kadar 1 M Potasyum hidroksit (KOH) eklenmiştir.

#### 3.2.6. Demineralizasyon-Remineralizasyon Siklusu

Örnekler başlangıç çürük lezyonu oluşturmak amacıyla 4 gün boyunca demineralizasyon solüsyonunda, 37 °C'de bekletilmiştir. Demineralizasyon solüsyonundan çıkarılan örnekler distile su ile yıkanmış, kurulanmış ve mineral

içeriğinin belirlenmesi amacıyla SEM-EDX analizi yapılmıştır. Daha sonra örneklerle çalışma gruplarına göre remineralizasyon ajanları uygulanmıştır:

**Kontrol Grubu (K): Negatif kontrol grubu;**

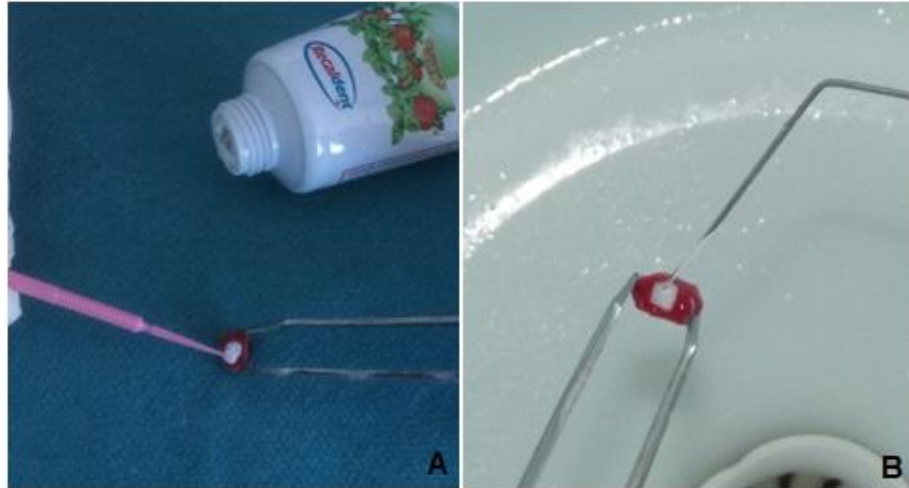
- Dişler demineralizasyon solüsyonundan çıkarıldıktan sonra deney sonuna kadar remineralizasyon solüsyonu içerisinde 37 °C’de bekletilmiştir. Negatif kontrol grubundaki dişlere herhangi bir remineralizasyon ajanı uygulanmıştır.

**Flor Grubu (F): 500 ppm NaF içeren diş macunu uygulanan pozitif kontrol grubu;**

- Dişlerin açıkta kalan yüzeylerine NaF içeren diş macunu uygulanmış, 4 dakika bekletilmiş ve distile su ile yıkanmıştır.
- Dişler remineralizasyon solüsyonu içerisinde 37 °C’de bekletilmiştir.
- Bu işlem günde 2 kez tekrarlanmıştır.

**CPP-ACP Grubu (C): CPP-ACP içerikli pat uygulanan grup;**

- Dişlerin açıkta kalan yüzeylerine CPP-ACP içerikli pat uygulanmış, 4 dakika bekletilmiş ve distile su ile yıkanmıştır (Şekil 3.9).
- Dişler remineralizasyon solüsyonu içerisinde 37 °C’de bekletilmiştir.
- Bu işlem günde 2 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3. 9. Diş yüzeyine remineralizasyon ajanının uygulanması. A) Dişin açıkta kalan yüzeyine CPP-ACP içerikli patın uygulanması, B) Diş yüzeyinin distile su ile yıkanması.

**Emdogain Grubu (E): Emdogain uygulanan grup;**

- Dişlerin açıkta kalan yüzeylerine Emdogain jel uygulanmış, 4 dakika bekletilmiş ve distile su ile yıkanmıştır.
- Dişler remineralizasyon solüsyonu içerisinde 37 °C'de bekletilmiştir.
- Bu işlem günde 2 kez tekrarlanmıştır.

**CPP-ACP + Emdogain Grubu (C+E): CPP-ACP içerikli pat ile birlikte Emdogain uygulanan grup;**

- Dişlerin açıkta kalan yüzeylerine CPP-ACP içerikli pat uygulanmış, 4 dakika bekletilmiş ve distile su ile yıkanmış, kurulanmıştır.
- Daha sonra diş yüzeylerine Emdogain jel uygulanmış, 4 dakika bekletilmiş ve distile su ile yıkanmıştır.
- Dişler remineralizasyon solüsyonu içerisinde 37 °C'de bekletilmiştir.
- Bu işlem günde 2 kez tekrarlanmıştır.

Bu siklus 7 gün boyunca günde 2 kez olmak üzere tekrarlanmıştır. Mineral içeriğindeki değişikliklerin belirlenmesi amacıyla 7 günlük remineralizasyon siklusundan sonra örnekler SEM-EDX analizi yapılmıştır.

### **3.2.7. Analizler**

***Taramalı Elektron Mikroskopu-Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (SEM-EDX):***

4 gün boyunca demineralizasyon solüsyonuna tabi tutulan örnekler, demineralizasyon solüsyonundan çıkarılıp distile su ile yıkanmış, kurulanmıştır. Mineral içeriğinin belirlenmesi amacıyla örneklerin açıkta kalan mine yüzeyinin her iki yarısından 20 Kv'da SEM-EDX analizi yapılmıştır. Daha sonra örnekler remineralizasyon prosedürü uygulanmış ve bu siklusun sonunda mineral içeriğindeki değişikliklerin belirlenmesi amacıyla, yine açıkta kalan mine yüzeylerinin her iki yarısından SEM-EDX analizi yapılmıştır. Açıkta kalan mine yüzeyinin her iki yarısına yapılan yüzey element analizi ile %F, %Ca ve %P değerleri atom sayısı olarak kaydedilmiş ve %Ca/P oranları hesaplanmıştır. Bir diş örneğinden 2 farklı ölçümle elde edilen %Ca, %P, %F değerlerinin ve % Ca/P oranlarının ortalaması alınmıştır. Demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası elde edilen değerler karşılaştırılmıştır.

Başlangıç çürük lezyonunun yapısı ve tedavi sonrasında oluşan değişikliklerin belirlenebilmesi amacıyla SEM ile görüntü analizi yapılacak örnekler İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde vakum cihazı (BAL-TEC, SCD50, Liechtenstein) içerisinde 15–20 nm altın-paladyum (Au-Pd) ile kaplanmış ve görüntü analizi yapılmıştır.

### **3.2.8. İstatistiksel Değerlendirmeler**

Çalışmamızdan elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda bir istatistik uzmanı tarafından SPSS 17.0 yazılım programı kullanılarak yapılmıştır.

Deney gruplarında örnek sayısının belirlenmesi için Power analizi yapılmıştır.

Demineralize edilen örneklere remineralizasyon ajanlarının uygulanmasından sonra örneklerdeki mineral değişiminin değerlendirilmesi amacıyla her bir gruba 'Paired T-Test'i uygulanmıştır.

Demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası gruplar arasındaki mineralizasyon farklılıklarının karşılaştırılması amacıyla 'Oneway Anova' testi uygulanmıştır. Farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu karşılaştırmak amacıyla da 'Post Hoc Tukey' testi uygulanmıştır.

## 4. BULGULAR

Çalışmamızda oluşturulan tüm grupların F, Ca, P değerlerinin ve Ca/P oranının ortalama % atomik ve % ağırlık değerleri SEM-EDX ile elde edilmiş ve istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

### 4.1. Tedavi Gruplarına Göre SEM-EDX Bulgularının Değerlendirilmesi

#### 4.1.1. Ortalama Atomik %F Değerleri

Gruplardaki ortalama atomik %F değerlerindeki değişim miktarı Tablo 4.1’de verilmiştir. Demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası gruplar arasında fark olup olmadığını karşılaştırmak için ‘One Way Anova’ testi uygulanmıştır. Bu teste göre demineralizasyon sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ( $p>0,05$ ), remineralizasyon sonrası gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Demineralize edilen örneklerle remineralizasyon ajanlarının uygulanmasından sonra örneklerdeki %F değişiminin değerlendirilmesi amacıyla her bir gruba ‘Paired T-Test’i uygulanmıştır. Bu teste göre C ve K grubundaki değişim miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ( $p>0,05$ ), diğer gruplardaki değişim miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Tablo 4. 1. Tedavi gruplarına göre ortalama atomik %F değerlerinin değişimleri.

Ölçüm Periyodu	GRUPLAR					OWA	P
	K n=10	F n=10	C n=10	E n=10	C+E n=10		
<b>Demineralizasyon</b>	13,44±1,29	13,44±0,84	13,57±1,05	13,45±1,06	13,59±0,84	0,054	0,99
<b>Remineralizasyon</b>	13,61±1,32	17,10±0,48	12,60±1,19	15,25±0,78	15,21±1,10	<b>37,862</b>	<b>*</b>
<b>Değişim miktarı</b>	+0,17±2,13	+3,66±1,19	-0,97±1,62	+1,80±1,01	+1,62±1,38		
<b>PTT (P)</b>	0,805	<b>0,0001*</b>	0,091	<b>0,0001*</b>	<b>0,005*</b>		
K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu, OWA: Oneway Anova, PTT: Paired T-Test,							
*: İstatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ )							



Remineralizasyon sonrası ortalama %F değerlerinin ‘Post Hoc Tukey’ testi ile gruplar arasında karşılaştırılması sonucunda;

- F grubundan elde edilen ortalama %F değeri, E ve C+E gruplarından elde edilen ortalama %F değerlerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- E grubunda elde edilen ortalama %F değeri, E+C grubundan elde edilen ortalama %F değerinden daha fazla bulunmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
- E ve C+E gruplarından elde edilen ortalama %F değerleri, K grubundan elde edilen ortalama %F değerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- K grubundan elde edilen ortalama %F değeri, C grubundan elde edilen ortalama %F değerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ), (Tablo 4.2).

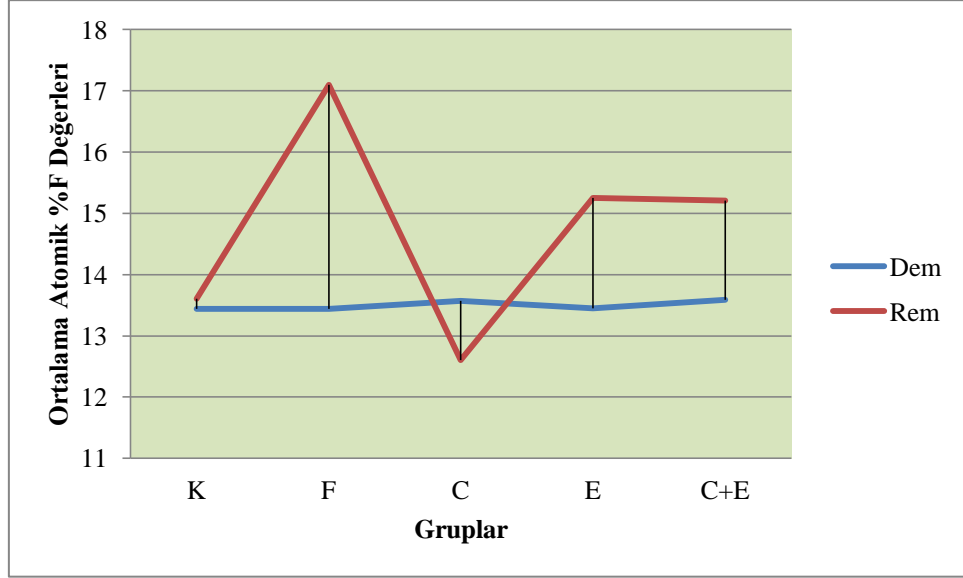
Tablo 4. 2. Tedavi sonrası ortalama atomik %F değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.

Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)
K	C	<b>0,033*</b>	F	C	<b>0,0001*</b>	C	E	<b>0,0001*</b>
	E	<b>0,001*</b>		E	<b>0,0001*</b>		C+E	<b>0,0001*</b>
	C+E	<b>0,001*</b>		C+E	<b>0,0001*</b>		F	<b>0,0001*</b>
	F	<b>0,0001*</b>		K	<b>0,0001*</b>		K	<b>0,033*</b>
Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)			
E	C	<b>0,0001*</b>	C+E	C	<b>0,0001*</b>			
	C+E	0,933		E	0,933			
	F	<b>0,0001*</b>		F	<b>0,0001*</b>			
	K	<b>0,001*</b>		K	<b>0,001*</b>			

K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu. PHT: Post Hoc Tukey,

\*: İstatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ )

Şekil 4.1’de demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası gruptaki ortalama atomik %F değerlerinin dağılımı görülmektedir. Paired T-Testine göre tedavi sonrası en yüksek %F değeri F grubunda elde edilirken, en düşük değer ise C grubunda elde edilmiştir.



Şekil 4. 1. Tedavi sonrası gruptaki ortalama atomik %F değerlerinin dağılımı. (K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu)

#### 4.1.2. Ortalama Atomik %Ca Değerleri

Gruplardaki ortalama atomik %Ca değerlerindeki değişim miktarı Tablo 4.3'de verilmiştir. Demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası gruplar arasında fark olup olmadığını karşılaştırmak için 'One Way Anova' testi uygulanmıştır. Bu teste göre demineralizasyon sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ( $p>0,05$ ), remineralizasyon sonrası gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Demineralize edilen örnekler üzerine remineralizasyon ajanlarının uygulanmasından sonra örneklerdeki %Ca değişiminin değerlendirilmesi amacıyla her bir gruba 'Paired T-Test'i uygulanmıştır. Bu teste göre K grubundaki değişim miktarı istatistiksel olarak anlamlı değilken ( $p>0,05$ ), diğer bütün gruplardaki değişim miktarı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Tablo 4. 3. Tedavi gruplarına göre ortalama atomik %Ca değerlerinin değişimleri.

Ölçüm Periyodu	GRUPLAR					OWA	P
	K n=10	F n=10	C n=10	E n=10	C+E n=10		
<b>Demineralizasyon</b>	15,53±1,79	15,03±1,73	14,37±0,94	14,23±0,89	14,06±1,46	1,887	0,12
<b>Remineralizasyon</b>	15,43±0,83	17,81±0,29	20,81±1,37	15,59±1,11	18,29±1,26	<b>44,22</b>	<b>*</b>
<b>Değişim miktarı</b>	-0,09±1,56	+2,78±1,88	+6,44±1,49	+1,36±1,09	+4,22±1,95		
<b>PTT (P)</b>	0,849	<b>0,001*</b>	<b>0,0001*</b>	<b>0,003*</b>	<b>0,0001*</b>		

K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu, OWA: Oneway Anova, PTT: Paired T-Test,  
\*: İstatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ )

Remineralizasyon sonrası ortalama %Ca değerlerinin 'Post Hoc Tukey' testi ile gruplar arasında karşılaştırılması sonucunda;

- C grubundan elde edilen ortalama %Ca değeri, C+E grubundan elde edilen ortalama %Ca değerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

- C+E grubundan elde edilen ortalama %Ca değeri, F grubundan elde edilen ortalama %Ca değerinden daha fazla olmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
- F grubundan elde edilen ortalama %Ca değeri, E ve K grubundan elde edilen ortalama %Ca değerlerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- E grubundan elde edilen ortalama %Ca değeri, K grubundan elde edilen ortalama %Ca değerinden daha fazla olmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ), (Tablo 4.4).

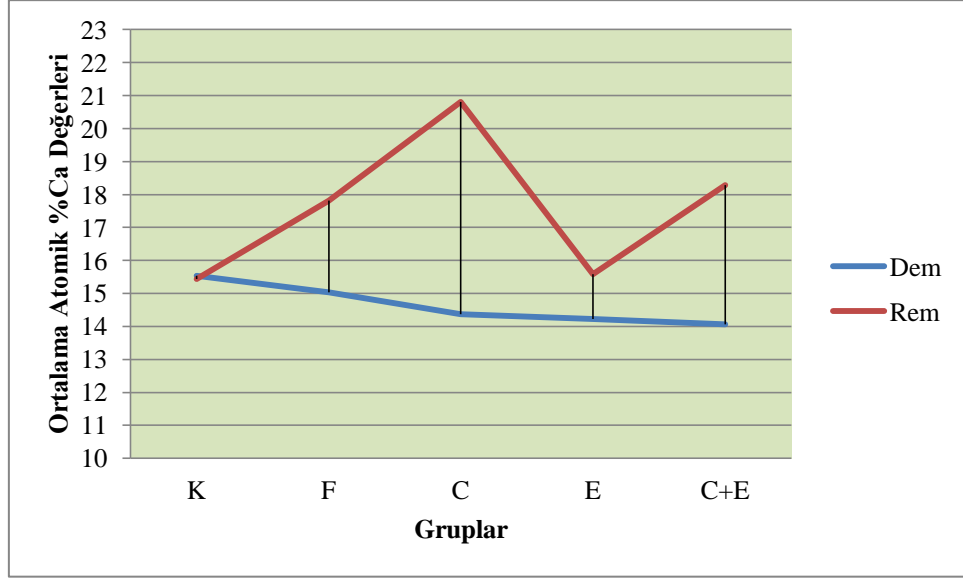
Tablo 4. 4. Tedavi sonrası ortalama atomik %Ca değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.

Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)
K	C	<b>0,0001*</b>	F	C	<b>0,0001*</b>	C	E	<b>0,0001*</b>
	E	0,740		E	<b>0,0001*</b>		C+E	<b>0,0001*</b>
	C+E	<b>0,0001*</b>		C+E	0,320		F	<b>0,0001*</b>
	F	<b>0,0001*</b>		K	<b>0,0001*</b>		K	<b>0,0001*</b>
Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)			
E	C	<b>0,0001*</b>	C+E	C	<b>0,0001*</b>			
	C+E	<b>0,0001*</b>		E	<b>0,0001*</b>			
	F	<b>0,0001*</b>		F	0,320			
	K	0,740		K	<b>0,0001*</b>			

K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu. PHT: Post Hoc Tukey,

\*: İstatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ )

Şekil 4.2’de demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası gruptaki ortalama atomik %Ca değerlerinin dağılımı görülmektedir. Paired T-Testine göre tedavi sonrası en yüksek %Ca değeri C grubunda elde edilirken, en düşük değer K grubunda elde edilmiştir.



Şekil 4. 2. Tedavi sonrası gruptaki ortalama atomik %Ca değerlerinin dağılımı. (K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu)

### 4.1.3. Ortalama Atomik %P Değerleri

Gruplardaki ortalama atomik %P değerlerindeki değişim miktarı Tablo 4.5’de verilmiştir. Demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası gruplar arasında fark olup olmadığını karşılaştırmak için ‘One Way Anova’ testi uygulanmıştır. Bu teste göre demineralizasyon sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ( $p>0,05$ ), remineralizasyon sonrası gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Demineralize edilen örnekler remineralizasyon ajanlarının uygulanmasından sonra örneklerdeki %P değişiminin değerlendirilmesi amacıyla her bir gruba ‘Paired T-Test’i uygulanmıştır. Bu teste göre sadece C grubundaki değişim miktarı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Diğer bütün gruplardaki değişim miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Tablo 4. 5. Tedavi gruplarına göre ortalama atomik %P değerlerinin değişimleri.

Ölçüm Periyodu	GRUPLAR					OWA	P
	K n=10	F n=10	C n=10	E n=10	C+E n=10		
<b>Demineralizasyon</b>	8,74±0,81	8,56±0,85	8,34±0,30	8,38±0,73	8,09±0,56	1,305	0,28
<b>Remineralizasyon</b>	8,63±0,61	8,15±0,23	10,03±0,94	8,40±0,72	8,29±0,77	<b>11,923</b>	<b>*</b>
<b>Değişim miktarı</b>	-0,11±0,37	-0,40±0,87	+1,69±0,99	+0,01±1,07	+0,20±1,05		
<b>PTT (P)</b>	0,350	0,172	<b>0,0001*</b>	0,957	0,562		

K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu, OWA: Oneway Anova, PTT: Paired T-Test,  
\*: İstatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ )

Remineralizasyon sonrası ortalama %P değerlerinin ‘Post Hoc Tukey’ testi ile gruplar arasında karşılaştırılması sonucunda;

- C grubundan elde edilen ortalama %P değeri, diğer gruplardan elde edilen ortalama %P değerlerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).E, C+E, F ve K gruplarından elde

edilen ortalama %P değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ), (Tablo 4.6).

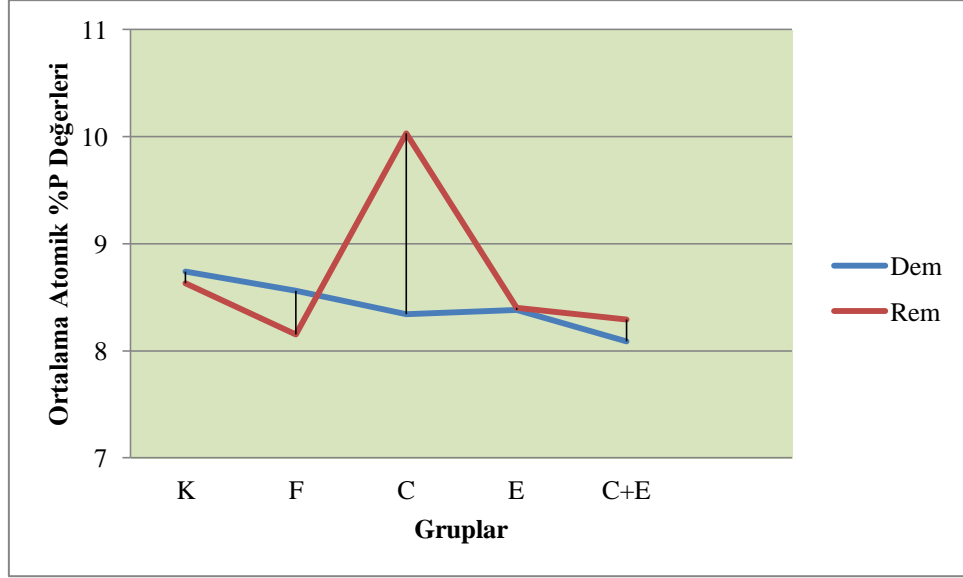
Tablo 4. 6. Tedavi sonrası ortalama atomik %P değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.

Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)
K	C	<b>0,0001*</b>	F	C	<b>0,0001*</b>	C	E	<b>0,0001*</b>
	E	0,467		E	0,438		C+E	<b>0,0001*</b>
	C+E	0,283		C+E	0,669		F	<b>0,0001*</b>
	F	0,136		K	0,136		K	<b>0,0001*</b>
Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)			
E	C	<b>0,0001*</b>	C+E	C	<b>0,0001*</b>			
	C+E	0,727		E	0,727			
	F	0,438		F	0,669			
	K	0,467		K	0,136			

K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu. PHT: Post Hoc Tukey,

\*: İstatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ )

Şekil 4.3’de demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası gruptaki ortalama atomik %P değerlerinin dağılımı görülmektedir. Paired T-Testine göre tedavi sonrası en yüksek %P değeri C grubunda elde edilirken, en düşük değer F grubunda elde edilmiştir.



Şekil 4. 3. Tedavi sonrası gruptaki ortalama atomik %P değerlerinin dağılımı. (K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu)



#### 4.1.4. Ortalama Atomik %Ca/P Oranları

Gruplardaki ortalama atomik %Ca/P oranlarının değişim miktarı tablo 4.7’de verilmiştir. Demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası gruplar arasında fark olup olmadığını karşılaştırmak için ‘One Way Anova’ testi uygulanmıştır. Bu teste göre demineralizasyon sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ( $p>0,05$ ), remineralizasyon sonrası gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Demineralize edilen örneklere remineralizasyon ajanlarının uygulanmasından sonra örneklerdeki %Ca/P oranındaki değişiminin değerlendirilmesi amacıyla her bir gruba ‘Paired T-Test’i uygulanmıştır. Bu teste göre K grubundaki değişim miktarı istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ( $p>0,05$ ), diğer bütün gruplardaki değişim miktarı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Tablo 4. 7. Tedavi gruplarına göre ortalama atomik %Ca/P oranlarının değişimleri.

Ölçüm Periyodu	GRUPLAR					OWA	P
	K n=10	F n=10	C n=10	E n=10	C+E n=10		
<b>Demineralizasyon</b>	1,77±0,10	1,75±0,09	1,72±0,08	1,70±0,10	1,73±0,09	0,90	0,46
<b>Remineralizasyon</b>	1,79±0,08	2,18±0,06	2,07±0,12	1,86±0,09	2,21±0,11	<b>37,86</b>	<b>*</b>
<b>Değişim miktarı</b>	+0,01±0,14	+0,42±0,12	+0,35±0,16	+0,15±0,14	+0,47±0,14		
<b>PTT (P)</b>	0,801	<b>0,0001*</b>	<b>0,0001*</b>	<b>0,007*</b>	<b>0,0001*</b>		
K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu, OWA: Oneway Anova, PTT: Paired T-Test,							
*: İstatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ )							

Remineralizasyon sonrası ortalama %Ca/P oranlarının ‘Post Hoc Tukey’ testi ile gruplar arasında karşılaştırılması sonucunda;

- C+E grubundan elde edilen ortalama %Ca/P oranı, F grubundan elde edilen ortalama %Ca/P oranından daha fazla olmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
- C+E grubu ile F grubundan elde edilen ortalama %Ca/P oranı, C grubundan elde edilen ortalama %Ca/P oranından daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- C grubundan elde edilen ortalama %Ca/P oranı, E ve K grubundan elde edilen ortalama %Ca/P oranından daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- E grubundan elde edilen ortalama %Ca/P oranı, K grubundan elde edilen ortalama %Ca/P oranından daha fazla olmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ), (Tablo 4.8).

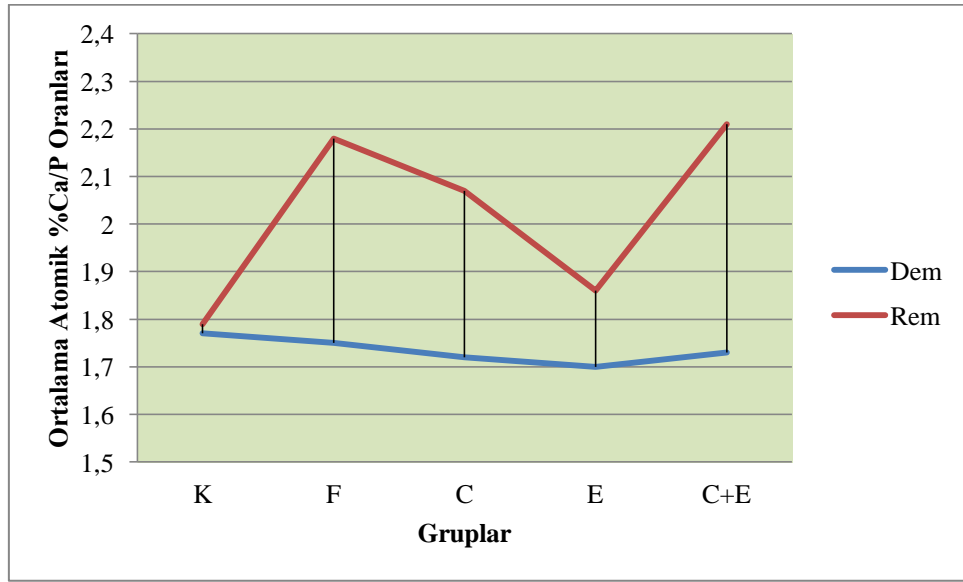
Tablo 4. 8. Tedavi sonrası ortalama atomik %Ca/P oranlarının gruplar arası karşılaştırılması.

Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)
K	C	<b>0,0001*</b>	F	C	<b>0,014*</b>	C	E	<b>0,0001*</b>
	E	0,118		E	<b>0,0001*</b>		C+E	<b>0,003*</b>
	C+E	<b>0,0001*</b>		C+E	0,556		F	<b>0,014*</b>
	F	<b>0,0001*</b>		K	<b>0,0001*</b>		K	<b>0,0001*</b>
Grup	Grup	PHT(P)	Grup	Grup	PHT(P)			
E	C	<b>0,0001*</b>	C+E	C	<b>0,003*</b>			
	C+E	<b>0,0001*</b>		E	<b>0,0001*</b>			
	F	<b>0,0001*</b>		F	0,556			
	K	0,118		K	<b>0,0001*</b>			

K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu. PHT: Post Hoc Tukey,

\*: İstatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ )

Şekil 4.4’de demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası gruptaki ortalama atomik %Ca/P oranının dağılımı görülmektedir. Paired T-Testine göre tedavi sonrası en yüksek %Ca/P oranı C+E grubunda elde edilirken, en düşük değer K grubunda elde edilmiştir.

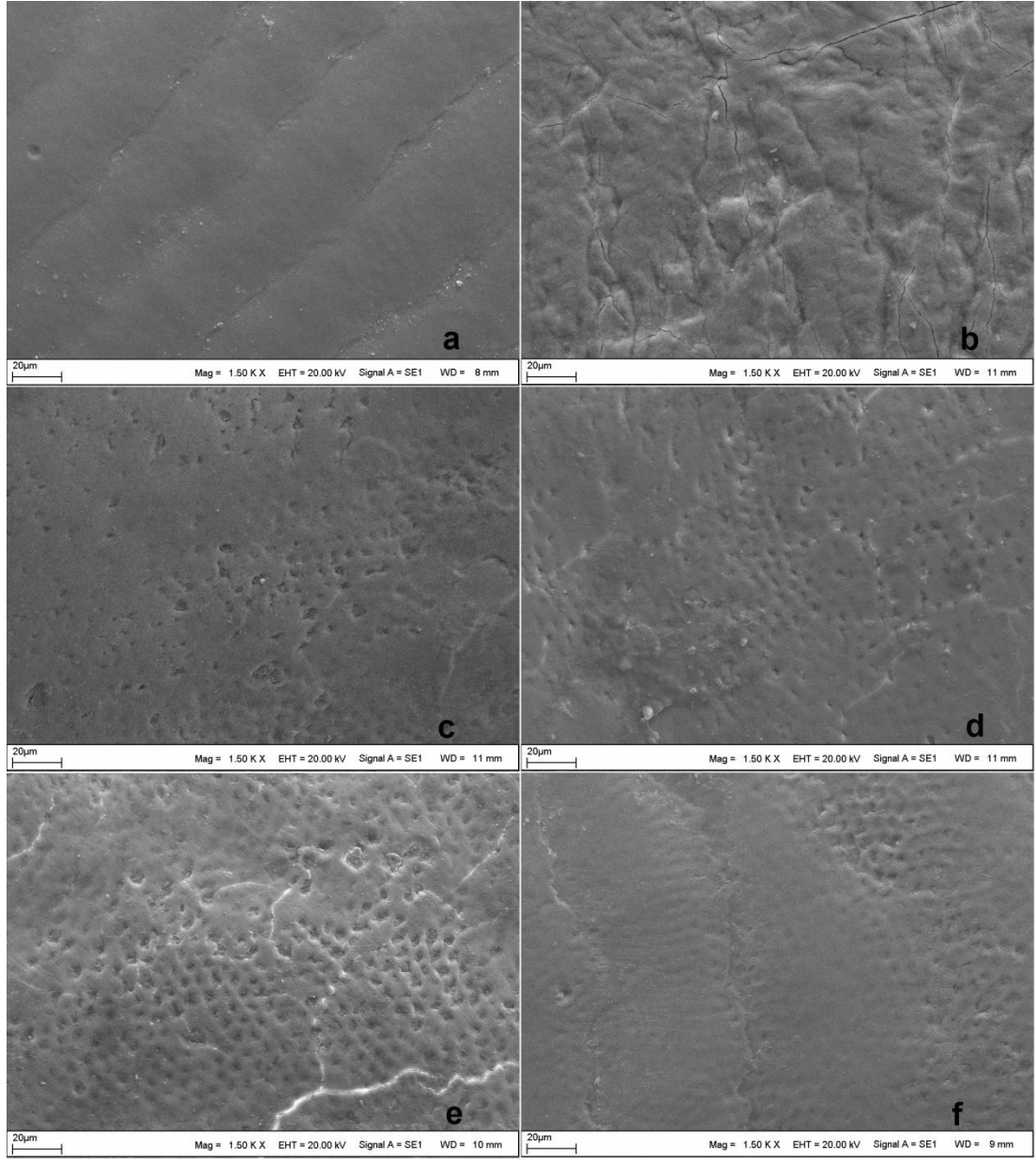


Şekil 4. 4. Tedavi sonrası gruptaki ortalama atomik %Ca/P oranının dağılımı. (K: Kontrol, F: Flor, C: CPP-ACP, E: Emdogain, C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu)

## 4.2. Tedavi Gruplarına Göre Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

### Bulgularının Değerlendirilmesi

- Sağlam dişin mine yüzeyi SEM ile incelendiğinde; mine yüzeyindeki girinti çıkıntının daha az ve yüzeyin daha pürüzsüz olduğu gözlenmektedir. Ayrıca yüzeyde çatlak ya da kavitasyon gözlenmemektedir (Şekil 4.5-a).
- C+E grubundan elde edilen SEM görüntüsünde; mine örneğinin yüzey görüntüsü sağlam dişe benzer bir şekildedir. Ancak daha trabeküllü bir yapı söz konusudur (Şekil 4.5-f).
- F grubundan elde edilen SEM görüntüsünde; mine örneğinin yüzey görüntüsü C+E grubunun yüzey görüntüsüne benzer bir şekildedir. Örneğin bazı bölgeleri pürüzsüzken, bazı bölgelerinde trabeküllü bir yapı gözlenmektedir (Şekil 4.5-c).
- C grubundan elde edilen SEM görüntüsünde; mine örneğinin yüzey görüntüsünün F grubunun yüzey görüntüsüne göre daha trabeküllü olduğu gözlenmektedir. Örneğin bazı bölgelerinde ince çatlaklar da gözlenmektedir (Şekil 4.5-d).
- E grubundan elde edilen SEM görüntüsünde; mine örneğinin yüzey görüntüsünün C grubunun yüzey görüntüsüne göre daha trabeküllü olduğu gözlenmektedir. Ayrıca örnekte yaygın çatlaklar da gözlenmektedir (Şekil 4.5-e).
- K grubundan elde edilen SEM görüntüsünde; yüzeyde yaygın çatlaklar ve poröz bir yapı gözlenmektedir (Şekil 4.5-b).



Şekil 4. 5. Tedavi gruplarına göre SEM görüntüleri (x 1.50 k). a) Sağlam mine yüzeyi, b) K:Kontrol, c) F: Flor, d) C: CPP-ACP, e) E: Emdogain ve f) C+E: CPP-ACP+Emdogain Grubu.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışma kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfatın (CPP-ACP), mine matriks türevlerinin (Emdogain) ve florun insan daimi dişlerinde mine üzerindeki remineralizasyon etkinliğini değerlendirmek amacıyla planlanmış ve uygulanmıştır. Test edilen hipotez; insan daimi dişlerinde mine üzerinde, CPP-ACP ve Emdogainin birlikte kullanımının bu ajanların remineralizasyon etkinliğini artırılabileceğidir.

Çalışmadan elde ettiğimiz verilere göre; tüm gruplarda uygulanan remineralizasyon materyallerinin negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daimi diş minesinde oluşturulan yapay çürük lezyonlarının remineralizasyonunu olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Tedavi sonrası %Ca/P oranlarının değişim miktarı değerlendirildiğinde ise; CPP-ACP ve Emdogainin birlikte kullanımının bu ajanların remineralizasyon etkinliğini arttırdığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar dikkate alındığında test edilen hipotez kabul edilmiştir.

### 5.1. Amaç ve Yöntemin Tartışılması

Dental bozulma Latince'de kokuşmuşluk anlamına gelen “diş çürüğü” ile adlandırılır [128]. Diş çürükleri; hem maksillofasial bölgedeki hem de vücudun diğer bölgelerindeki tüm doku türleri ile karşılaştırıldığında görülen en yaygın [129], önlenemez çocukluk hastalıklarından biridir ve dünya çapında insanlarda en sık görülen kronik bir hastalıktır [130]. Diş çürükleri diş sert dokularının multifaktöriyel, mikrobiyal, enfeksiyöz ve bulaşıcı bir hastalıktır [131].

Minenin dış yüzeyi derin bölgelerine göre demineralizasyona karşı daha dirençlidir. Demineralizasyonun en büyük miktarı mine yüzeyinin 10-15 µm altında oluşmaktadır. Bu sürecin devamı klinik olarak beyaz nokta şeklinde görülen yeni başlayan mine lezyonu ile sonuçlanır. Demineralizasyon durdurulmadıkça lezyon devam edecek, büyüyecek ve yüzeydeki ince tabaka yıkılarak kaviteli lezyon oluşacaktır [20].

Beyaz nokta lezyonu, plak altında kalan bölgelerde görülen, yalnızca diş yüzeyi kurutulduğunda ortaya çıkan beyaz, tebeşirimsi, opak alanlar olarak tanımlanmaktadır [42]. Bu lezyonlar, altlarında bulunan mine tabakasının dekalsifiye olduğunun göstergesidirler. Alınan kesitlerde lezyon, apeksi dentine doğru olan bir

koni şeklinde görülmektedir [43]. Beyaz nokta lezyonunda mine dokusunun mineral içeriğinin %50'si kaybolmuştur ve lezyonun yüzeyi sağlam mine dokusuyla kaplıdır [44].

Çürüğün ilerlemesi veya remineralizasyonun sağlanması patolojik faktörler (demineralizasyon) ile koruyucu faktörlerin (remineralizasyonu geliştirmek veya bakteri oluşumunu azaltmak) arasındaki dengeye bağlı olarak gelişir [132].

Koruyucu diş hekimliği uygulamaları, 1930'lu yıllardan itibaren başlayarak, özellikle 6-11 yaş grubu çocuklara yönelik ağız ve diş sağlığı hizmetleriyle ön plana çıkmıştır. Özellikle Türkiye gibi gelişmekte olan ve koruyucu diş hekimliği uygulamalarının henüz yaygınlaşmadığı ülkelerde, restoratif dental tedavilerin çeşitliliğine rağmen çocuklarda bakteriyel dental plağa bağlı olarak gelişen çürük ve periodontal hastalıkların önlenememesi koruyucu dental tedavilerin önemini daha çok vurgulamaktadır. Bununla birlikte ağız ve diş sağlığı problemleri, ciddi ekonomik ve sosyal sorunları da beraberinde getirmektedir. Bu nedenle, ağız ve diş sağlığının bozulmasından önce, koruyucu ve önleyici önlemlerin alınması ve tedavi hizmetlerinin konservatif yöntemlere doğru kaydırılması görüşü önem kazanmıştır [133].

Koruyucu faktörler arasında florid, en çok bilinen remineralizasyonu destekleyen ajandır. Florid düz yüzey çürüklerini önlemede son derece etkilidir [3]. Diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan flor içerikli ürünler; sistemik olarak veya jeller, vernikler, macunlar, gargaralar gibi lokal olarak uygulanabilmektedir [86]. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde floridli diş macunlarının düzenli kullanımı ile diş çürüklerinin azalması arasında bir bağlantı olduğu tespit edilmiştir [134].

Florid bileşikleri çürük önleyici özellikleri açısından test edilmiş ve diş macunlarının içerisinde kullanılmaya başlanmıştır. Bu florid bileşikleri; sodyum florid (iyonik-bağlı florid), asidüle fosfat florid, kalay florid, sodyum monofluorofosfat (kovalent-bağlı florid) ve amin floriddir [135, 136]. Sodyum florid (NaF) en basit florid bileşimidir ve suda çözünürlüğü çok yüksektir. NaF, ilk su florlama programında suya ilave edilmiştir. Ayrıca diş macununa ilave edilen ilk

florid bileşimi de NaF olmuştur [135]. İyonik-bağlı florid (NaF) içeren diş macunlarında öncelikle fırçalama esnasında diş sert doku üzerinde bir CaF<sub>2</sub> tabakası birikir. Zamanla bu rezervuar kullanılır ve mine ve tükürükte florid konsantrasyonu yükselir [136]. Literatürde NaF içerikli diş macunlarının mine remineralizasyonunda etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [137-141]. Bu çalışmada pozitif kontrol grubu olarak 500 ppm NaF içeren bir diş macunu kullanılmıştır. Flor uygulamasını takiben demineralize edilen örneklerdeki ortalama atomik %F değişimi; +3,66±1,19, %Ca değişimi; +2,78±1,88, %P değişimi; -0,40±0,87, %Ca/P değişimi; +0,42±0,12 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre atomik %P değişimi hariç diğer parametrelerin ortalama % atomik değerlerindeki değişimin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmalar artan florid dozunun remineralizasyon etkinliğini arttırdığını göstermiştir [139, 142-144]. Florid (F) güçlü bir anti-karyojenik elementtir, ancak fazla miktarlarda tüketildiğinde, sistemik toksisite gözlenebilir [145, 146]. Florid dozuna ve maruz kalma süresine bağlı olarak akut veya kronik yanıtlar oluşabilir [145, 147]. Akut toksik doz 1-5 mg/kg arasında değişir. İnsanlarda akut oral florid zehirlenmesinin belirtileri; şiddetli bulantı, kusma, hipersalivasyon, karın ağrısı ve ishaldir. Ağır veya ölümcül durumlarda, bu belirtileri konvülsiyon, kardiyak aritmi ve koma takip etmektedir. Yüksek doz floride kronik olarak maruz kalmanın insanlarda dental florozis ve iskeletsel florozise neden olduğu bilinmektedir [147]. Dental florozis; minede opasite, lekelenme ya da pit oluşumuna neden olan yüzey ve yüzeyaltı dokularının porozitesinin artması ile karakterize bir mine hipomineralizasyonudur [148]. Ayrıca aşırı duyarlılık reaksiyonları, böbrek yetmezliği [147], nörotoksisite [149, 150], mukozanın immün fonksiyonunu etkilemesi [151] ve üreme hormonlarını azaltıp, üreme ile ilgili reseptör proteinlerin yapısını bozarak infertiliteyi azaltması [152] rapor edilen diğer kronik yanıtlarıdır. Floridin yararlarının yanı sıra bu dezavantajları araştırmacıları remineralizasyon için farklı yöntemler kullanmaya yöneltmiştir.

Yüksek çürük risk seviyesine sahip bireylerde florid tedavisi ile çürük sürecini kontrol etmek yeterli olmayabilir. Bu nedenle, günümüzde yeni remineralizasyon, çürümeyi önleyici ürünler ve yeni dağıtım sistemleri



geliştirilmiştir [132]. Mine remineralizasyonunda floride alternatif olarak; ozon [153, 154], lazer [155-157], biyoaktif cam [158], kalsiyum karbonat [159], kalsiyum fosfat [160], nano-hidroksiapatit [161, 162], teobromin [163], kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat [164, 165] ve mine matriks türevleri [125, 127, 166] gibi farklı materyallerin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur.

Sütteki koruyucu faktör olan kazein fosfopeptid (CPP), seçici çökeltme yöntemi kullanarak kazeinin tripsin enzimi ile parçalanması sonucunda elde edilmiştir [93, 98]. Kazein fosfopeptid (CPP), kazeinin protein dizilimini (-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu) içerir [6, 91, 93, 99, 100]. CPP, kalsiyum fosfatı CPP-amorf kalsiyum fosfat (ACP) kompleksi şeklinde stabilize edebilir [92].

Mine matriks protein türevi (EMD), embriyo halindeki domuzların gelişmekte olan dişlerindeki Hertwing epitel kök kınından salgılanan mine matriks proteinlerinin (EMP), saflaştırılmış asidik ekstresidir [121]. Çoğunluğunu amelogeninin oluşturduğu mine matriks proteini, hidrofobik yapıdadır [122]. Mine matriks türevlerinin %90'ını amelogenin, %10'unu prolinden zengin non-amelogenin, tuftelin, tuft protein, serum, ameloblastin, amelin ve tükürük proteinleri oluşturur [123]. Amelogenin-kalsiyum fosfat etkileşimi için farklı modeller önerilmiş olmasına rağmen amelogeninin mine biyoremineralizasyonu için önemli bir destekleyici olduğu ve kalsiyum fosfat nanokristal yapısının modulatoru olduğu kabul edilmiştir [8]. Amelogenin, kalsiyum ve fosfat iyonları in vitro şartlarda organize hidroksiapatit kristallerinin oluşturulması için önemli maddelerdir [9].

Bu bilgiler ışığında; bu çalışmada daimi diş minesinde, kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat ve mine matriks türevlerinin hem ayrı ayrı kullanıldığında hem de birlikte kullanıldığında remineralizasyon etkinliği değerlendirilmiştir. Literatürde bu iki materyalin birlikte kullanılarak remineralizasyon etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışma yoktur.

Reynolds ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında CPP-stabilize kalsiyum fosfat solüsyonlarının üçüncü molar dişlerde yüzeyaltı lezyonlarını remineralize ettiğini rapor etmişlerdir [90].

Shen ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada CPP-ACP içeren sakızların mine yüzeyaltı lezyonlarının remineralizasyonuna etkisini araştırmışlar; CPP-ACP içeren sakızlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, mine remineralizasyonunda önemli bir artış tespit etmişlerdir [99].

Somasundaram ve arkadaşları CPP-ACP içeren patların mine remineralizasyonu üzerindeki etkinliğini araştırmışlar; CPP-ACP içeren pat ile tedavi edilen mine yüzeyinde, floridli diş macunu ve kontrol grubuna göre lezyon derinliğinin daha az olduğunu rapor etmişlerdir [1].

Patil ve arkadaşları insan minesinde oluşturdukları yapay çürük lezyonunun remineralizasyonunda CPP-ACP, CPP-ACPF ve TCP-F gibi ajanların remineralizasyon etkinliğini araştırmışlar ve her bir grubun remineralizasyon etkinliğinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu rapor etmişlerdir [167].

Giulio ve arkadaşları CPP-ACP'nin aşındırılmış mine yüzeyi üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmalarında; CPP-ACP'nin topikal uygulamalarının interdental stripping sonrası mine remineralizasyonunun teşvik edilmesinde etkili olabileceği belirtilmiştir [168].

Zhou ve arkadaşları yaptıkları bir çalışma sonucunda; CPP-ACP içerikli pat kullanımının NaF ile karşılaştırıldığında remineralizasyon avantajları nedeniyle çocuklar için daha uygun olduğunu rapor etmişlerdir [165]. Bu çalışmalarla CPP-ACP ajanının remineralizasyon etkinliği desteklenmektedir.

EMP'nin, kristal oluşumunu başlatıp, rehberlik ederek, kristal büyümesini destekleyerek, mineral fazını koruyarak, mineral iyonlarını birleştirerek ve büyüme hızını düzenleyerek mine biyomineralizasyonunu düzenlediği bilinmektedir [125].

Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında EMP kullanarak çok sayıda yeni hidroksiapatit kristalleri elde etmiş ve EMP'nin hidroksiapatit kristal oluşumu ve büyümesinde önemli bir rol oynadığını kanıtlamışlardır. Bu sayede mine matriks proteinlerinin mine remineralizasyonunu indüklediği gösterilmiştir [127].

Chen ve arkadaşları hidroksiapatit nano çubukları elde etmek için EMP kullanarak mine mineralizasyon sürecini taklit etmişlerdir. Bu çubuklar sadece

kimyasal bileşen olarak değil aynı zamanda boyut olarak da olgun mineye benzer şekilde elde edilmiştir [169].

Thylstrup normal dişleri EMP'nin bol olduğu floritik süt dişleri ile karşılaştırmıştır. Her ikisini de %10'luk EDTA tamponunun içerisine yerleştirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda floritik dişler daha düşük çözünme göstermiştir. Böylece EMP'nin mine çürüğünü önlemede önemli bir role sahip olduğunu ifade etmişlerdir [170].

Xiang ve arkadaşları başlangıç mine çürük lezyonlarında EMD'lerin remineralizasyon etkinliği araştırmışlardır. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre; EMD'nin başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunun başlatılmasında önemli bir rol oynayabileceği, ancak bu lezyonların remineralizasyonunun tam olarak sağlanamadığı rapor edilmiştir [2]. Bizim çalışmamızda da EMD'nin, CPP-ACP ile birlikte kullanılarak, remineralizasyon etkinliğini arttırmak amaçlanmıştır.

Çürük araştırmalarında in situ ve in vivo deneylerdeki ilerlemelere rağmen in vitro testler hala yaygın olarak kullanılmaktadır [171]. İn vitro şartlarda yapay çürük lezyonu oluşturmak için farklı modeller tanımlanmıştır. Bunlar asidik jeller, tampon solüsyonları ve mikrobiyolojik modellerdir [172]. Asit tamponların kullanıldığı in vitro demineralizasyon modeli; asitli jelatin jeli veya kalsiyum, fosfat ve florid içeren, pH seviyesi dikkatlice ayarlanmış solüsyonların kullanıldığı en basit çürük oluşturma yöntemidir. Tampon solüsyonlarında; laktik asit, asetik asit veya her ikisi birden kullanılabilir. Bu yöntemde; örnekler çürük lezyonu oluşturabilmek amacıyla mine veya diş köklerinde pencereler oluşturularak günler hatta aylarca tampon solüsyonlarında tutulmaktadır. Bu lezyonlar histolojik olarak doğal lezyonlara benzer özellikler sergileyebilmektedirler [51].

İN vitro şartlarda başlangıç çürük lezyonu oluşturmak için çeşitli demineralizasyon solüsyonları tanımlanmıştır. Xue ve arkadaşları çalışmalarında 2,2 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , 2,2 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , ve 50 mM asetik asit (pH 4,5) içeren demineralizasyon solüsyonunu kullanmışlardır [173]. Preston ve arkadaşları 5 gün boyunca örnekleri 4,5'lik bir pH değerinde, 50 mM asetik asit, 2,2 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2,2 mM  $\text{CaCl}_2$  ve 0,5 ppm F ihtiva eden demineralizasyon solüsyonu içerisinde

bekleterek yapay çürük lezyonu oluşturmayı amaçlamışlardır [174]. Bizim çalışmamızda 2,2 mM CaCl<sub>2</sub>, 2,2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM asetik asit ihtiva eden pH'ı 4,4 olan demineralizasyon solüsyonu kullanılmıştır [175]. Yapay çürük lezyonu oluşturmak amacıyla örnekler demineralizasyon solüsyonunda 37 °C'de 4 gün boyunca bekletilmiştir [63].

Çürük, diş minesinin demineralizasyonu ile başlar. Yüzey altı minesinden kalsiyum ve fosfat iyonlarının kaybolması sonucu başlangıç lezyonu oluşur. Bu erken safhada yüzey altı lezyonu, diş yüzeyine kalsiyum ve fosfat iyonlarının difüzyonunu içeren bir remineralizasyon işlemi yoluyla tersine çevrilebilir [63]. Remineralizasyon işleminin gerçekleştirilebilmesi için uygun fizyolojik şartların oluşturulması gerekmektedir. Bizim çalışmamızda remineralizasyon solüsyonu olarak 1,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0,9 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 150 mM KCl ihtiva eden pH'ı 7 olan remineralizasyon solüsyonu kullanılmıştır [175]. Remineralizasyonun sağlanması için örnekler remineralizasyon solüsyonunda 37 °C'de 7 gün boyunca bekletilmiş ve remineralize edici ajanlar günde 2 kez 4 dk süre ile uygulanmıştır [63].

İn vitro ve in situ dental araştırmalarda genellikle insan dişlerinden elde edilen örnekler tercih edilmektedir. Çünkü bu örnekler çalışma hipotezinin daha uygun klinik substrat üzerinde test edilmesine izin verir [176]. İn vitro ve in situ dental araştırmalarda substrat olarak insan dişleri dışında primat, sığır, domuz, at ve köpek balığı dişleri kullanılmıştır. Bununla birlikte dental araştırmalarda insan dişlerinin yerine en yaygın kullanılan materyal sığır dişleri olmuştur [176]. Ancak sığır minesinin insan minesinden daha hızlı demineralize olduğu ve erozyona uğradığı rapor edilmiştir [177]. Deneysel çalışmalarda insan dişlerinin kullanılması; etik sorunlar, bulunmasının zor hale gelmesi [178], toplanan insan dişlerinin kaynağının ve yaşının kontrol edilmesinin zor olması [179] ve genellikle dişlerin çürük veya başka defektler nedeniyle çekilmesi sonucu yeterli miktarda sağlam örnek elde edilmesinin zor olması [176] gibi nedenlerden dolayı terk edilmeye başlanmıştır.

Bizim çalışmamızda insan dişlerinin bu dezavantaj ve limitasyonlarını minimuma indirmek amacıyla 23 ile 25 yaş arasındaki bireylerin ağız ortamına hiç sürmemiş, tamamen gömülü, çekim endikasyonu bulunan üçüncü büyük azı dişleri

kullanılmıştır. Böylece kök gelişimini tamamlamış ve ağız ortamı ile herhangi bir mineral alışverişi yapmamış dişler elde edilmiştir. Diş sürmesi ve mine organının bozulmasının ardından mine mineralizasyonu tamamlanır. Sadece mine yüzeyinde minenin oral çevreye maruz kalması nedeniyle demineralizasyon remineralizasyon süreçleri devam eder [180].

Bu çalışmada vestibül ve lingual yüzeylerinin daha düzgün olması ve mesio-distal genişliklerinin bir diştten 4 örnek elde edilmesine izin verecek genişlikte olması nedeniyle alt üçüncü büyük azı dişleri tercih edilmiştir. Ayrıca, çalışma için etik kurul onayı da alınmıştır.

Bir çalışmanın planlanma aşamasında yeterli büyüklükteki örneklem genişliğini tahmin etmek gerekir. Bunun birçok nedeni vardır. Öncelikli olarak güç analizi yardımıyla kaynakların ve emeklerin boşa harcanmasının önüne geçilir. Testin gücü, bir testin gerçekte var olan farkı bulabilme yeteneğidir. Bu nedenle II. tip hata miktarı ile ilişkilidir. II. tip hatanın yani var olan bir farkın bulunamama olasılığının 0,20 olduğu durumda, yapılacak hipotez testinde hedeflenen testin gücü 0,80 olacaktır. Örnek genişliği belirlemeye Power analizi denmesinin nedeni örnek genişliğini çalışmanın başında belirleyerek çalışacağımız gücü kontrol altına almaktır [181]. Bu çalışmada Power analizi İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda bir istatistik uzmanı tarafından yapılmıştır. Yapılan Power analizi sonucunda; %5 yanılma ve %80 güç ile gruplarda %Ca/P değerlerindeki ortalama değişimin 1,1 birim olması için her bir gruptan en az 8 örneğin olması gerektiği hesaplanmıştır. Bu analize göre çalışmamız her bir grupta 10 örnek olacak şekilde planlanmıştır.

Dişlerin çekim işleminden kullanılacağı ana kadar geçen sürede dehidrate olmasını önlemek amacıyla solüsyonlar içinde tutulması önerilmektedir. Distile su ve salin bu amaçla kullanılan solüsyonlardandır. Saklama ortamında mikroorganizmaların üremesini engellemek amacıyla etanol, formol, timol, sodyum hipoklorit, glutaraldehit gibi antimikrobiyal kimyasal maddeler ilave edilebilmektedir [182]. Moura ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada formaldehit solüsyonunun timol solüsyonu ile karşılaştırıldığında minenin demineralizasyona olan direncini arttırabileceği rapor edilmiştir [183]. Kullanılan saklama

solüsyonlarının çalışma sonucunu etkilememesi gerekmektedir. Bu nedenle bu çalışmada çekilen dişler deney süresine kadar %0,1 timol içeren deiyonize su içerisinde bekletilmiştir.

İn vitro çalışmalarda remineralize edici ajanların remineralizasyon etkinliğini değerlendirebilmek amacıyla çeşitli analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Bunlar arasında Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi [184], Mikro Bilgisayarlı Tomografi [185], Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi [186] ve Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi [187] gibi analiz yöntemleri vardır. Modern prospektif çürük çalışmaları bir dişin mineral içeriğindeki küçük değişikliklerin bile ölçülebilmesini gerektirir [63].

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), modern bilimin hemen hemen her alanında kullanılan iyi tanımlanmış bir tekniktir. SEM genellikle bir araştırmada destekleyici teknik olarak kullanılmaktadır. Enerji dağılımlı X ışını spektroskopisi (EDS, EDX, veya XEDS) bir numunenin element analizi veya kimyasal karakterizasyonu için SEM ile birlikte kullanılabilen analitik bir tekniktir [188]. Kantitatif X ışını analizi uygulamaları mineralizasyon araştırmaları için güçlü bir yöntemdir. Bu yöntemin numuneyi hedefleyen odaklanmış elektron ışını ile iyi tanımlanmış morfolojik alanların mineral analizini sağlama gibi bir avantajı vardır. Böylece dokuların nispeten dar bir alanı içindeki mineral bileşimini incelemek mümkündür [180].

Literatürde SEM-EDX analiz yöntemi kullanılarak yapılan çeşitli remineralizasyon çalışmaları mevcuttur [141, 189, 190]. Bizim çalışmamızda da minede oluşturduğumuz başlangıç çürük lezyonunun yapısı ve tedavi sonrasında oluşan değişikliklerin belirlenebilmesi amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Ayrıca uygulanan tedavi ajanlarının mine örneklerinin mineral düzeyinde oluşturduğu değişiklikler mikroanalitik bir teknik olan Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) kullanılarak değerlendirilmiştir. Böylece örneklerden demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası F, Ca, P ve Ca/P oranının ortalama % atomik ve % ağırlık değerleri elde edilebilmiştir.

## 5.2. Bulguların Tartışılması

### 5.2.1. Demineralizasyon Sonrası Elde Edilen Bulguların Tartışılması

Arnold ve arkadaşları insan diş tomurcuklarındaki ve daimi dişlerdeki mine dentin ve pre dentinde bulunan Ca, P ve C dağılımını EDX element analiz yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre; gelişmekte olan dişlerin mine prizmalarındaki Ca ve P içeriği, yüzeyden mine-dentin bağlantı noktasına doğru doğrusal bir artış göstermiştir. Daimi dişlerde mine ve sirkumpulpal dentindeki Ca ve P içeriği gelişmekte olan diş ile karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur. Farklı kalsiyum fosfat bileşimlerini yansıtan pre dentin ve dentin alanları arasında Ca/P oranı farklı iken, mineralize ve genç minede bu oran aynı bulunmuştur. Gelişmekte olan dişlerde mineralize minede ortalama ağırlık %Ca değeri 23,8, %P değeri 11,4 ve %Ca/P oranı 2,0 olarak bulunmuştur. Olgun minede ise ortalama ağırlık %Ca değeri 33,9, %P değeri 16,7 ve %Ca/P oranı 2,0 olarak bulunmuştur. Daimi dişlerde minede ortalama ağırlık %Ca değeri 42,7, %P değeri 19,9 ve %Ca/P oranı 2,1 olarak bulunmuştur [180].

Daimi dişlerde hipomineralize ve normal minenin mekanik özelliklerinin ve mikroyapısının değerlendirildiği bir çalışmada SEM-EDX analizi sonucu hipomineralize minede sağlam mine ile karşılaştırıldığında bağıl mineral içeriğinde yaklaşık %5'lik bir azalma rapor edilmiştir. Mineral fazı ve Ca/P oranı hipomineralize ve sağlam minede birbirine benzer bulunmuştur. Hipomineralize minede ortalama atomik %Ca değerleri 58,07; 59,75; 58,53, ortalama atomik %P değerleri 35,45; 37,03; 37,37 iken, sağlam minede ortalama atomik %Ca değerleri 60,49; 59,86, ortalama atomik %P değerleri 37,55; 37,44 olarak bulunmuştur [191].

Bizim çalışmamızda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama atomik %F, %Ca, %P değerlerinde ve %Ca/P oranlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

%F değerleri K grubunda 13,44, F grubunda 13,44, C grubunda 13,57, E grubunda 13,45, C+E grubunda ise 13,59 olarak bulunmuştur.

%Ca değerleri K grubunda 15,53, F grubunda 15,03, C grubunda 14,37, E grubunda 14,23, C+E grubunda ise 14,06 olarak bulunmuştur.

%P değerleri K grubunda 8,74, F grubunda 8,56, C grubunda 8,34, E grubunda 8,38, C+E grubunda ise 8,09 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değerler Mahoney ve arkadaşlarının [191] çalışmalarında elde ettikleri Ca ve P değerlerinden oldukça düşüktür. Bu durum EDX analizi ile veriler elde edilirken analiz sonuçlarına C ve O elementlerinin dahil edilmesinden kaynaklanıyor olabilir.

Liu ve arkadaşları çalışmalarında 3,3 ile 5,4 pH aralığında bir dizi farklı konsantrasyonlarda fosfat ile hidroksiapatitin çözünürlüğünü belirlemeyi amaçlamışlardır. 0,5 mmol/L fosfat kullanıldığında EDX ile element analizi sonucu titrant hidroksiapatitte %Ca değeri 24,46, %P değeri 14,51, %Ca/P oranı 1,68; pH 3,8 iken %Ca değeri 21,44, %P değeri 16,32, %Ca/P oranı 1,31; pH 4,3 iken %Ca değeri 23,73, %P değeri 15,01, %Ca/P oranı 1,58 olarak bulunmuştur [192]. Bizim çalışmamızda pH'ı 4,4 olan 50 mM asetik asit ile hazırlanan demineralizasyon çözeltisi ile minenin yüzeyel tabakasında meydana gelen mineral değişiklikleri ölçülmüştür. Elde edilen Ca ve P değerleri nispeten daha az, Ca/P oranı ise daha fazla bulunmuştur. Bu duruma çalışmamızda kullandığımız demineralizasyon çözeltisinin içeriğindeki farklılık katkıda bulunmuş olabilir.

Mahoney ve arkadaşları hipomineralize minede Ca/P oranını 2,07 [191], Jalevik ve arkadaşları 1,4 olarak bulmuşlardır [193]. Hegde ve arkadaşları demineralize minedeki Ca/P oranını 1,47 [63], Dong ve arkadaşları 1,53 bulmuşlardır [194]. Bizim çalışmamızda ise demineralizasyon sonrası %Ca/P oranı K grubunda 1,77, F grubunda 1,75, C grubunda 1,72, E grubunda 1,70, C+E grubunda ise 1,73 olarak bulunmuştur. Ca/P oranlarındaki bu farklılıklar hipomineralize ya da demineralize bölgelerin farklı kısımlarında varyasyonlar olmasından kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda bu farklılık düşünülerek her bir örneğin iki farklı bölgesinden ölçüm yapılmış ve bunların ortalaması alınmıştır. Elde edilen değerler ise benzer çalışmalarda elde edilen değerler aralığındadır [63, 191, 193, 194].

### **5.2.2. Ortalama Atomik %F Değerlerinin Tartışılması**

Eissaa ve arkadaşları ortodontik braketler etrafındaki mine demineralizasyonunun azaltılmasında florid salan (Grup 1: Transbond Plus) ve florid salınımı olmayan adezivlerin (Grup 2: Transbond XT) in vivo etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında SEM-EDX analiz yöntemini kullanarak mineral içeriğini



belirlemişlerdir. Birinci grupta ortalama ağırlık %F içeriği daha fazla bulunmuştur [195].

Arnold ve arkadaşları deneysel olarak oluşturulan çürük benzeri lezyonlar üzerinde süt ve floridlenmiş sütün etkinliğini araştırmışlardır. Örnekler 3 gün boyunca pH'ı 4,85 olan demineralizasyon solüsyonunda tutularak yapay çürük lezyonu oluşturulmuştur. Daha sonra 3 gün boyunca pH'ı 7 olan farklı solüsyonlarda tutularak remineralize edilmeye çalışılmıştır. Kantitatif element analizi ile floridlenmiş süt grubunda, lezyon gövdesi ve yüzeyel tabakadaki florid içeriğinin anlamlı bir şekilde arttığı rapor edilmiştir. [196]. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar ortalama %F değerlerinin flor içeren materyallerin uygulandığı gruplarda artış gösterdiğini desteklemektedir. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Naumova ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise farklı konsantrasyonlarda amin florid içeren remineralizasyon ajanlarının uygulanmasının ardından tedavi ve kontrol gruplarında F içeriğinde hem yüzeyel tabakada hem de lezyonun gövdesinde farklılık bulunamamıştır [197]. Bu durum kullanılan remineralizasyon ajanından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda remineralizasyon ajanlarının uygulanmasının ardından F, E ve C+E gruplarındaki ortalama atomik %F değerlerinde artış görülmüştür. Bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. %F değerlerindeki değişim F grubunda  $+3,66 \pm 1,19$ , E grubunda  $+1,80 \pm 1,01$ , C+E grubunda ise  $+1,62 \pm 1,38$  olarak bulunmuştur. K ve C gruplarındaki ortalama atomik %F değerlerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Buna göre flor ve EMD uygulamalarının minede F değerini arttırırken, CPP-ACP uygulamalarının minede F değerini azalttığı sonucuna varılabilir. Bu durum % F değerinin E grubunda C+E grubundan daha yüksek bulunması ile de desteklenebilir.

Çalışmamızda remineralizasyon ajanlarının uygulanmasının ardından elde edilen ortalama atomik %F değerleri K grubunda 13,61, F grubunda 17,10, C grubunda 12,60, E grubunda 15,25 ve C+E grubunda 15,21 olarak bulunmuştur. Ortalama atomik %F değeri en yüksek F grubunda, en düşük C grubunda

bulunmuştur. C grubunda %F değerinin K grubundan daha düşük olması, %Ca değerinin artması sonucu F elementinin yüzdesinin azalmasından kaynaklanmış olabilir.

### 5.2.3. Ortalama Atomik %Ca Değerlerinin Tartışılması

Naumova ve arkadaşları insan minesinde tekrarlayan demineralizasyon değişikliklerinde azalan florid konsantrasyonlarının etkinliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada remineralizasyon ajanı olarak 100, 10 ve 0,1 ppm florid içeren amin florid kullanılmış ve SEM-EDX element analiz yöntemi kullanılarak örneklerin Ca, P ve F içeriği belirlenmiştir. Ca ve P içeriği tüm deney gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde daha yüksek bulunmuştur [197].

Eissaa ve arkadaşları ortodontik braketler etrafındaki mine demineralizasyonunun azaltılmasında florid salan (Grup 1: Transbond Plus) ve florid salınımı olmayan adezivlerin (Grup 2: Transbond XT) in vivo etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında SEM-EDX analiz yöntemini kullanarak mineral içeriğini belirlemişlerdir. Birinci grupta ortalama ağırlık %Ca değeri daha fazla bulunmuştur [195].

Arnold ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada floridlenmiş süt grubundan elde edilen ortalama ağırlık %Ca değeri hem yüzeyel tabakada, hem lezyon gövdesinde, hem de translüsent bölgede süt grubundan elde edilen ortalama ağırlık %Ca değerinden daha yüksek bulunmuştur [196].

Eggerath ve arkadaşları farklı konsantrasyonlarda florid içeren temizleme tabletlerinin remineralizasyon potansiyelini EDX analiz yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Çalışma grubu olarak 1450 ve 4350 ppm NaF içeren tabletler kullanılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre tedavi gruplarında lezyonun gövdesinde Ca ve P içeriği kontrol grupları ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu ve yüksek konsantrasyonlarda kullanılan NaF'in erken çürük lezyonlarının remineralizasyonunda daha etkili olduğu bulunmuştur [198].

Arnold ve arkadaşları florid içerikleri farklı olan 4 farklı diş macununun (Grup 1: Plasebo diş macunu, Grup 2: Remineralizasyon solüsyonu, Grup 3: Elmex Anticaries, Grup 4: Elmex Sensitive, Grup 5: Blend-a-med Complete, Grup 6:

Colgate GRF) mine remineralizasyonu üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. Kantitatif element analizi sonucu örneklerin P, C, F içeriğinde ve Ca/P oranında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Sadece Ca içeriğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Ca içeriği Elmex Anticaries (1250 mg/l amin florid, pH 4,7) grubunda en yüksek olarak bulunmuştur [141].

Literatürde mevcut bu çalışmalar remineralizasyon ajanlarının minenin ortalama %Ca içeriğini arttırdığını desteklemektedir. Bizim çalışmamızda da remineralizasyon ajanlarının uygulanmasınan ardından F, C, E ve C+E gruplarındaki ortalama atomik %Ca değerlerinde artış görölmüştür. Bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. %Ca değerlerindeki değişim F grubunda  $+2,78 \pm 1,88$ , C grubunda  $+6,44 \pm 1,49$ , E grubunda  $+1,36 \pm 1,09$ , C+E grubunda ise  $+4,22 \pm 1,95$  olarak bulunmuştur. K grubundaki ortalama atomik %Ca değerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Buna göre tüm remineralizasyon ajanlarının minedeki Ca değerini arttırdığı ve bu artışın CPP-ACP remineralizasyon ajanın uygulandığı gruplarda daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu durum %Ca değerinin C grubunda C+E grubundan daha yüksek bulunması ile de desteklenebilir.

Çalışmamızda remineralizasyon ajanlarının uygulanmasınan ardından elde edilen ortalama atomik %Ca değerleri K grubunda 15,43, F grubunda 17,81, C grubunda 20,81 E grubunda 15,59 ve C+E grubunda ise 18,29 olarak bulunmuştur. Ortalama atomik %Ca değeri en yüksek C grubunda, en düşük K grubunda bulunmuştur.

#### **5.2.4. Ortalama Atomik %P Değerlerinin Tartışılması**

Eissaa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada %Ca ve %F değerlerinin aksine %P değerleri florid salınımı yapmayan adezivlerin kullanıldığı grupta florid salınımı yapan adezivlerin kullanıldığı gruptan daha fazla bulunmuştur [195]. Bu sonuçların aksine Arnold ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ortalama %P değerlerini floridlenmiş süt grubunda hem yüzeyel tabakada, hem lezyon gövdesinde, hem de translüent bölgede süt grubundan daha yüksek bulmuşlardır [196]. Benzer çalışmalardan elde edilen bu farklı sonuçlar ortalama %P değerlerine ait sonuçların farklılık gösterebileceğini desteklemektedir.

Eggerath ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise tedavi gruplarında lezyonun gövdesinde Ca ve P içeriğinin kontrol grupları ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu bulunmuştur. Yüzeysel tabakada ise herhangi bir farklılık bulunmamıştır [198]. Bizim çalışmamızda da ölçümler minenin yüzeysel tabakasında yapılmıştır. Bu sonuçlar çalışmamızın bulgularını desteklemektedir.

Çalışmamızda remineralizasyon ajanlarının uygulanmasının ardından C grubundaki ortalama atomik %P değerinde artış görülmüştür. Bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. %P değerlerindeki değişim C grubunda  $+1,69 \pm 0,99$  olarak bulunmuştur. K, F, E ve C+E gruplarındaki ortalama atomik %P değerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Buna göre CPP-ACP uygulamalarının minedeki P değerini arttırdığı, ancak diğer remineralizasyon ajanlarının minenin P içeriğinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı sonucuna varılabilir.

Çalışmamızda remineralizasyon ajanlarının uygulanmasının ardından elde edilen ortalama atomik %P değerleri; K grubunda 8,63, F grubunda 8,15, C grubunda 10,03, E grubunda 8,40 ve C+E grubunda 8,29 olarak bulunmuştur.

#### **5.2.5. Ortalama Atomik %Ca/P Oranlarının Tartışılması**

Zhou ve arkadaşları süt dişlerinin erken mine lezyonlarında CPP-ACP'nin remineralizasyon etkinliğini araştırmışlardır. CPP-ACP'nin etkinliği 500 ppm NaF solüsyonu ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda CPP-ACP içeren patın NaF ile karşılaştırıldığında; minenin mikroyapısını tamir ettiği, prizma ve interprizma da dahil olmak üzere hidroksiapatit kristal boyutunu ve Ca/P oranını önemli ölçüde arttırdığını rapor etmişlerdir. CPP-ACP içeren patın uygulandığı grupta Ca/P oranı  $1,637 \pm 0,096$  iken NaF'in uygulandığı grupta ise  $1,397 \pm 0,086$  olarak bulunmuştur [165]. Bizim çalışmamızda ise bu sonuçların aksine F grubundan elde edilen Ca/P oranları C grubundan daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılık; çalışmada süt dişi kullanılmasından, çalışmanın in situ olmasından ya da örneklerin Ca ve P değerlerinin Elektron Mikroprob (EPMA) kullanılarak elde edilmesinden kaynaklanmış olabilir.

Dong ve arkadaşları in vitro şartlarda trikalsiyum silikatın remineralizasyon etkinliğini araştırmışlardır. %0,25'lik sitrik asit (pH 3,8) kullanılarak demineralize edilen mine örneklerine günde 3 kez trikalsiyum silikat uygulanmış ve farklı zamanlardaki (1, 3, 5, 7 gün) mineral değişiklikleri SEM-EDX kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada EDX spektrumu ile remineralize tabakanın ana kompozisyonunun kalsiyum, fosfat ve oksijen olduğu belirlenmiştir. Ortalama %Ca/P oranı 1. gün 1,53 iken, 7. gün 1,62 olarak rapor edilmiştir [194].

Hegde ve arkadaşları CPP-ACP'nin mine yüzey altı lezyonlarının remineralizasyonu üzerindeki etkinliğini SEM-EDX analiz yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Örnekler 4 gün boyunca demineralizasyon solüsyonunda bekletilerek yapay çürük lezyonu oluşturulmuştur. Daha sonra günde 2 kez CPP-ACP ajanı uygulanmış ve yapay tükürük içerisinde bekletilmiştir. 7, 14, 21, 28, ve 35. günlerde SEM-EDX analizi yapılarak mineral içeriğindeki değişiklik değerlendirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre Ca/P oranı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir. Ca/P oranı 35. gün sonunda 1,47'den 1,93'e yükselmiştir [63].

Aras ve arkadaşlarının başlangıç mine lezyonlarının tedavisinde florid ilave edilmiş CPP-ACPF ile floridli sütün etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında SEM-EDX ile yapılan element analizi sonucu; MI Paste Plus, Floridli süt, floridli su ve deiyonize su gruplarında Ca/P oranı sırasıyla 4,43; 3,59; 2,89; 2,66 olarak bulunmuştur [113].

Topoloğlu'nun CPP-ACP içerikli patın mine demineralizasyonu üzerine etkisini incelediği tez çalışmasında; ortalama atomik %Ca/P oranları Grup 1'de (kontrol) 1,24, Grup 2'de (CPP-ACP içerikli pat) 1,54, Grup 3'de (CPP-ACP içerikli pat ve floridli diş macunu) 1,64, Grup 4'de ( floridli diş macunu) 1,53 olarak bulunmuştur [112].

Literatürde mevcut bu çalışmalar remineralize edici ajanların ortalama %Ca/P oranını arttırdığını desteklemektedir. Bizim çalışmamızda da remineralizasyon ajanlarının uygulanmasının ardından F, C, E ve C+E gruplarındaki ortalama atomik %Ca/P oranlarında artış görülmüştür. Bu artış istatistiksel olarak da anlamlı

bulunmuştur. %Ca/P oranlarındaki değişim F grubunda  $+0,42\pm 0,12$ , C grubunda  $+0,35\pm 0,16$ , E grubunda  $+0,15\pm 0,14$ , C+E grubunda ise  $+0,47\pm 0,14$  olarak bulunmuştur. K grubundaki ortalama atomik %Ca/P oranındaki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Buna göre tüm remineralizasyon ajanlarının minedeki Ca/P oranını arttırdığı bulunmuştur. Bu artış C+E grubunda C ve E gruplarından daha fazla bulunmuştur. Bu durum da EMD'nin CPP-ACP ile birlikte kullanıldığında CPP-ACP'nin etkinliğini arttırdığı hipotezini desteklemektedir.

Çalışmamızda remineralizasyon ajanlarının uygulanmasının ardından elde edilen ortalama atomik %Ca/P oranları; K grubunda 1,79, F grubunda 2,18, C grubunda 2,07, E grubunda 1,86 ve C+E grubunda ise 2,21 olarak bulunmuştur. Ortalama atomik %Ca/P oranı en yüksek C+E grubunda, en düşük K grubunda bulunmuştur.

Arnold ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada ise amin florid içeren diş macunlarının farklı pH'larda mine remineralizasyonu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kantitatif element analizi sonucunda gruplar arasında element içeriği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır [189]. Bu farklılık deney düzeneğinin diğer çalışmalardan farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. Araştırmacılar elde ettikleri bu sonuçlar ile hafif asidik floridli diş macunlarının mine remineralizasyonu üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceğini savunmuşlardır.

#### **5.2.6. SEM Bulgularının Tartışılması**

SEM diş sert dokularının rezorpsiyonunun in vitro olarak ölçülmesinde kullanılan ilk tekniktir ve günümüzde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik ile numune yüzeyine elektron dağıtılır ve alınan sinyal ile yüzey topografyası ve bileşimi hakkında bilgi sağlanır. SEM ile farklı derinliklere sahip numunelerin tamamına odaklanarak yüksek çözünürlüklü 3 boyutlu görüntüler elde edilebilir [199].

Giulio ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada asit ile demineralize edilen örnekleri CPP-ACP ile tedavi etmişlerdir. İncelenen tüm numunelerde hafif

interprizmatik doku çözünmesi ile birlikte başlangıç mine demineralizasyonu görülmüştür. Prizma kenarlarının tam olarak belirgin olmadığı gözlenmiştir [168].

Jayarajan ve arkadaşları çalışmalarında CPP-ACP ve CPP-ACPF'nin mine remineralizasyonu üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada kontrol grubunda mine yüzeyinde poroz defektler ve bu defektlerin etrafında zayıf mineralizasyon alanları görülmüştür. CPP-ACP grubunda interprizmatik alanın belirgin olduğu ve prizmatik sınırlar boyunca sık ve kalın remineralizasyon alanları görülmüştür. CPP-ACPF grubunda ise mine çubuklarının ve prizmatik maddenin belirgin olmadığı ancak kalsifiye alanların daha belirgin olduğu görülmüştür [107].

Zho ve arkadaşları florid salan materyallerin remineralizasyon etkinliklerini sığır dişlerinde araştırmışlardır. Çalışma grupları; (1) Clinpro™ XT vernik (CV), (2) F-vernik (FV), (3) Tooth Mousse (TM), (4) Fuji III LC® ışıkla sertleşen cam iyonomer pit ve fissür örtücü (FJ) ve (5) Baz Siman® cam polyalkenoate siman (BC) olarak oluşturulmuştur. Farklı remineralizasyon zamanlarında elde edilen SEM görüntüleri ile 5 grupta da sığır mine yüzey yapısının poroz pul benzeri apatitden düz apatite dönüştüğü görülmüştür. CV, TM, FJ ve BC gruplarında sığır mine yüzeyinde sıkı bağlı fluoro-apatit varlığı, FV grubunda gevşek bağlı florid ya da CaF<sub>2</sub> depozisyonu görülmüştür [200].

Çalışmamızda EDX mikroanalitik analiz yöntemi ile elde edilen verileri SEM görüntüleri de desteklemektedir. Sağlam mine homojen, pürüzsüz bir görünüme sahipken, demineralize minede artmış porozite ve yaygın çatlaklar gözlenmektedir. C+E, F ve C gruplarından sağlam mineye benzer görüntüler elde edilmiştir. E grubundan elde edilen görüntülerde ise sağlam mineye göre artmış porozite ve çatlaklar izlenmektedir. Elkassas ve arkadaşlarının yapay çürük lezyonlarında CPP-ACP ve floridin etkinliğinin değerlendirdikleri bir çalışmada da benzer görüntüler elde edilmiştir [201].

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP), mine matriks türevleri (Emdogain) ve florun insan daimi dişlerinde mine üzerindeki remineralizasyon etkinliğinin değerlendirildiği çalışmamızın sonuçlarına göre;

1. Çekilmiş dişlerden elde edilen mine örneklerinin demineralizasyon solüsyonuna yerleştirilmesinin ardından SEM-EDX analiz yöntemi kullanılarak elde edilen mineral içeriğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
2. Remineralizasyon prosedürünün uygulanmasının ardından SEM-EDX analiz yöntemi kullanılarak elde edilen mineral içeriğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
3. Remineralizasyon sonrası F, E ve C+E gruplarındaki ortalama atomik %F değerlerinde artış görülmüştür. Bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). K ve C gruplarındaki ortalama atomik %F değerlerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
4. Ortalama atomik %F değeri en yüksek F grubunda, en düşük C grubunda bulunmuştur.
5. Remineralizasyon sonrası ortalama atomik %F değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması sonucunda;
  - F grubundan elde edilen ortalama %F değeri, E ve C+E gruplarından elde edilen ortalama %F değerlerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
  - E grubunda elde edilen ortalama %F değeri, E+C grubundan elde edilen ortalama %F değerinden daha fazla bulunmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
  - E ve C+E gruplarından elde edilen ortalama %F değerleri, K grubundan elde edilen ortalama %F değerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



- K grubundan elde edilen ortalama %F değeri, C grubundan elde edilen ortalama %F değerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
6. Remineralizasyon sonrası F, C, E ve C+E gruplarındaki ortalama atomik %Ca değerlerinde artış görülmüştür. Bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). K grubundaki ortalama atomik %Ca değerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).
  7. Ortalama atomik %Ca değeri en yüksek C grubunda, en düşük K grubunda bulunmuştur.
  8. Remineralizasyon sonrası ortalama %Ca değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması sonucunda;
    - C grubundan elde edilen ortalama %Ca değeri, C+E grubundan elde edilen ortalama %Ca değerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
    - C+E grubundan elde edilen ortalama %Ca değeri, F grubundan elde edilen ortalama %Ca değerinden daha fazla olmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).
    - F grubundan elde edilen ortalama %Ca değeri, E ve K grubundan elde edilen ortalama %Ca değerlerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
    - E grubundan elde edilen ortalama %Ca değeri, K grubundan elde edilen ortalama %Ca değerinden daha fazla olmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).
  9. Remineralizasyon sonrası C grubundaki ortalama atomik %P değerinde artış görülmüştür. Bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). K, F, E ve C+E gruplarındaki ortalama atomik %P değerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).
  10. Remineralizasyon sonrası F, C, E ve C+E gruplarındaki ortalama atomik %Ca/P değerlerinde artış görülmüştür. Bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). K grubundaki ortalama atomik %Ca/P değerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

11. Ortalama atomik %Ca/P değeri en yüksek C+E grubunda, en düşük K grubunda bulunmuştur.
12. Remineralizasyon sonrası ortalama %Ca/P değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılması sonucunda;
- E grubundan elde edilen ortalama %Ca/P değeri, K grubundan elde edilen ortalama %Ca/P değerinden daha fazla olmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
  - C+E grubundan elde edilen ortalama %Ca/P değeri, F grubundan elde edilen ortalama %Ca/P değerinden daha fazla olmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
  - C+E grubundan elde edilen ortalama %Ca/P değerleri, C, E ve K gruplarından elde edilen ortalama %Ca/P değerinden daha fazla bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
13. Çalışmamızda EDX mikroanalitik analiz yöntemi ile elde edilen verileri SEM görüntüleri de desteklemektedir. Sağlam mine homojen, pürüzsüz bir görünüme sahipken, demineralize minede artmış porozite ve yaygın çatlaklar gözlenmektedir. C+E, F ve C gruplarından sağlam mineye benzer görüntüler elde edilmiştir. E grubundan elde edilen görüntülerde ise sağlam mineye göre artmış porozite ve çatlaklar izlenmektedir.

Tüm bu bilgiler ışığında;

1. F uygulamasının daimi diş minesini üzerinde oluşturulan yapay çürük lezyonlarının remineralizasyonunda etkili olduğu görülmüştür.
2. CPP-ACP uygulaması mine remineralizasyonunda F'ye benzer bir etkinlik göstermiştir. CPP-ACP ajanı mine remineralizasyonunda F'ye alternatif olarak kullanılabilir.
3. EMD'nin başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunun başlatılmasında önemli bir rol oynayabileceği, ancak bu lezyonların remineralizasyonunun tam olarak sağlanamadığı görülmüştür.

4. CPP-ACP ile EMD'nin birlikte kullanımının bu ajanların remineralizasyon etkinliğini arttırabileceği görülmüştür. Literatürde bu iki materyalin birlikte kullanıldığı mevcut bir remineralizasyon çalışması yoktur.

CPP-ACP ve Emdogainin birlikte kullanımında; maliyet açısından kar – zarar ilişkisinin ve remineralizasyon etkinliğinin değerlendirilebilmesi, uygulama sıklığı ile ilgili standart bir prosedürün oluşturulabilmesi, ağız-diş sağlığı ve genel sağlık üzerine muhtemel etkilerinin değerlendirilebilmesi amacıyla ilave çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Somasundaram, P., Vimala, N., Mandke, L.G. (2013). Protective potential of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate containing paste on enamel surfaces. *J Conserv Dent*, 16(2), 152-156.
2. Xiang, C., Ran, J., Yang, Q., Li, W., Zhou, X., Zhang, L. (2013). Effects of enamel matrix derivative on remineralisation of initial enamel carious lesions in vitro. *Arch Oral Biol*, 58(4), 362-369.
3. Goswami, M., Saha, S., Chaitra, T.R. (2012). Latest developments in non-fluoridated remineralizing technologies. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 30(1), 2-6.
4. Huang, S., Gao, S., Cheng, L., Yu, H. (2010). Combined effects of nano-hydroxyapatite and *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel lesion in vitro. *J Dent*, 38(10), 811-819.
5. Mensinkai, P.K., Ccahuana-Vasquez, R.A., Chedjieu, I., Amaechi, B.T., Mackey, A.C., Walker, T.J., Blanken, D.D., Karlinsey, R.L. (2012). In situ remineralization of white-spot enamel lesions by 500 and 1,100 ppm F dentifrices. *Clin Oral Investig*, 16(4), 1007-1014.
6. Reynolds, E.C. (1998). Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist*, 18(1), 8-16.
7. Reynolds, E.C., Cain, C.J., Webber, F.L., Black, C.L., Riley, P.F., Johnson, I.H., Perich, J.W. (1995). Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res*, 74(6), 1272-1279.
8. Fan, Y., Wen, Z.T., Liao, S., Lallier, T., Hagan, J.L., Twomley, J.T., Zhang, J.F., Sun, Z., Xu, X. (2012). Novel amelogenin-releasing hydrogel for remineralization of enamel artificial caries. *J Bioact Compat Polym*, 27(6), 585-603.
9. Tian, K., Peng, M., Ren, X., Liao, C., Fei, W. (2012). Regeneration of tooth-like hydroxyapatite depended on amelogenin functional section monolayer: a new approach for tooth repair. *Med Hypotheses*, 79(2), 143-146.

10. Molina, G.O., Brentegani, L.G. (2005). Use of enamel matrix protein derivative before dental reimplantation: a histometric analysis. *Implant Dent*, 14(3), 267-273.
11. Kubasad, G., Ghivari, S., Garg, K. (2012). Replantation of an avulsed tooth with an extended extra oral period. *Indian J Dent Res*, 23(6), 822-825.
12. Ten Cate, R.A. (1998). *Oral histology: development, structure and function*. St Louis: Mosby Company.
13. Lussi, A., Hellwig, E., Klimek, J. (2012). Fluorides - mode of action and recommendations for use. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 122(11), 1030-1042.
14. Salmela, E., Lukinmaa, P.L., Partenen, A.M., Sahlberg, C., Alaluusua, S. (2011). Combined effect of fluoride and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on mouse dental hard tissue formation in vitro. *Arch Toxicol*, 85(8), 953-963.
15. Simmer, J.P., Papagerakis, P., Smith, C.E., Fisher, D.C., Rountrey, A.N., Zheng, L., Hu, J.C. (2010). Regulation of dental enamel shape and hardness. *J Dent Res*, 89(10), 1024-1038.
16. Bluteau, G., Luder, H.U., De Bari, C., Mitsiadis, T.A. (2008). Stem cells for tooth engineering. *Eur Cell Mater*, 16, 1-9.
17. Simmer, J.P., Fincham, A.G. (1995). Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev Oral Biol Med*, 6(2), 84-108.
18. Bei, M. (2009). Molecular genetics of ameloblast cell lineage. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*, 312B(5), 437-444.
19. Christopher Dean, M. (2006). Tooth microstructure tracks the pace of human life-history evolution. *Proc Biol Sci*, 273(1603), 2799-2808.
20. Dean, J., Avery, D., McDonald, R. (2004). *Dentistry for the Child and Adolescent* (8th ed.). St. Louis: Mosby Company.
21. Goldberg, M., Septier, D. (2002). Phospholipids in amelogenesis and dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*, 13(3), 276-290.
22. Palmer, L.C., Newcomb, C.J., Kaltz, S.R., Spoerke, E.D., Stupp, S.I. (2008). Biomimetic systems for hydroxyapatite mineralization inspired by bone and enamel. *Chem Rev*, 108(11), 4754-4783.

23. Hu, J.C., Chun, Y.H., Al Hazzazzi, T., Simmer, J.P. (2007). Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*, 186(1), 78-85.
24. Moradian-Oldak, J. (2012). Protein-mediated enamel mineralization. *Front Biosci*, 17, 1996-2023.
25. Robinson, C., Kirkham, J., Brookes, S.J., Bonass, W.A., shore, R.C. (1995). The chemistry of enamel development. *Int J Dev Biol*, 39(1), 145-152.
26. Beniash, E., Metzler, R.A., Lam, R.S., Gilbert, P.U. (2009). Transient amorphous calcium phosphate in forming enamel. *J Struct Biol*, 166(2), 133-143.
27. Garcia-Godoy, F., Hicks, M.J. (2008). Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc*, 139, 25S-34S.
28. Smith, C.E. (1998). Cellular and chemical events during enamel maturation. *Crit Rev Oral Biol Med*, 9(2), 128-161.
29. Lu, Y., Papagerakis, P., Yamakoshi, Y., Hu, J.C., Bartlett, J.D., Simmer, J.P. (2008). Functions of KLK4 and MMP-20 in dental enamel formation. *Biol Chem*, 389(6), 695-700.
30. Robinson, C., Shore, R.C., Brookes, S.J., Strafford, S., Wood, S.R., Kirkham, J. (2000). The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med*, 11(4), 481-495.
31. Lubarsky, G.V., D'Sa, R.A., Deb, S., Meenan, B.J., Lemoine, P. (2012). The role of enamel proteins in protecting mature human enamel against acidic environments: a double layer force spectroscopy study. *Biointerphases*, 7(1-4), 14.
32. Goldberg, M., Septier, D., Lecolle, S., Chardin, H., Quintana, M.A., Acevedo, A.C., Gafni, G., Dillouya, D., Vermelin, L., Thonemann, B. (1995). Dental mineralization. *Int J Dev Biol*, 39(1), 93-110.
33. Le Norcy, E., Kwak, S.Y., Wiedemann-Bidlack, F.B., Beniash, E., Yamakoshi, Y., Simmer, J.P., Margolis, H.C. (2011). Potential role of the amelogenin N-terminus in the regulation of calcium phosphate formation in vitro. *Cells Tissues Organs*, 194(2-4), 188-193.

34. Moffatt, P., Smith, C.E., St-Arnaud, R., Simmons, D., Wright, J.T., Nanci, A. (2006). Cloning of rat amelotin and localization of the protein to the basal lamina of maturation stage ameloblasts and junctional epithelium. *Biochem J*, 399(1), 37-46.
35. Gao, Y., Wang, W., Sun, Y., Zhang, J., Li, D., Wei, Y., Han, T. (2010). Distribution of amelotin in mouse tooth development. *Anat Rec (Hoboken)*, 293(1), 135-40.
36. Touger-Decker, R., van Loveren, C. (2003). Sugars and dental caries. *Am J Clin Nutr*, 78(4), 881S-892S.
37. Konig, K.G., Navia, J.M. (1995). Nutritional role of sugars in oral health. *Am J Clin Nutr*, 62(1), 275S-283S.
38. Sanchez-Acedo, M., Montiel-Company, J.M., Dasi-Fernandez, F., Almerich-Silla, J.M. (2013). Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus detection by Polymerase Chain Reaction and their relation to dental caries in 12 and 15 year-old schoolchildren in Valencia (Spain). *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 18(6), e839-e845.
39. Welbury, R., Duggal, M., Hosey, M.T. (2005). *Paediatric dentistry*. Oxford , New York: Oxford medical publications.
40. Duggal, M.S., Curson, M.E.J. (2003). *Encyclopedia of Food Sciences, Food Technology and Nutrition* (2nd ed.). London: Academic Press Limited.
41. Cury, J.A., Tenuta, L.M. (2009). Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res*, 23 (1), 23-30.
42. Sturdevant, C.M., Barton, R.E., Sockwell, C.L., Strickland, W.D. (1985). *The Art and Science of Operative Dentistry*. St. Louis: Mosby Company.
43. Pinkham, J.R., Casamassimo, P.S., Fields, H.W., McTigue, D.J., Nowak, A.J. (2005). *Pediatric Dentistry*. Missouri: Elsevier Saunders.
44. Aoba, T. (2004). Solubility properties of human tooth mineral and pathogenesis of dental caries. *Oral Dis*, 10(5), 249-257.
45. Huang, T.T.Y., Jones, A.S., He, L.H., Darendeliler, M.A., Swain, M.V. (2007). Characterisation of enamel white spot lesions using X-ray microtomography. *Journal of Dentistry*, 35(9), 737-743.

46. Thylstrup, A., Fejerskov, O. (1986). *Textbook of Cariology*. Copenhagen: Munksgaard.
47. Featherstone, J.D. (2000). The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc*, 131(7), 887-899.
48. Buzalaf, M.A., Hannas, A.R., Magalhaes, A.C., Rios, D., Honorio, H.M., Delbem, A.C. (2010). pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. *J Appl Oral Sci*, 18(4), 316-334.
49. Deniz, C., Karabulut, C., Karabulut, B., Solak, H. (2010). Bakteriyolojik Teknikler ile Minede Yapay Çürük Oluşturma Yöntemleri. *SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2(2), 127-136.
50. Gilmour, A.S., Edmunds, D.H., Newcombe, R.G., Clark, M.F. (1993). An in vitro study into the effect of a bacterial artificial caries system on the enamel adjacent to composite and amalgam restorations. *Caries Res*, 27(3), 169-175.
51. Schemehorn, B.R., Orban, J.C., Wood, G.D., Ficher, G.M., Winston, A.E. (1999). Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent*, 10(1), 13-16.
52. Forssten, S.D., Bjorklund, M., Ouwehand, A.C. Streptococcus mutans, caries and simulation models. *Nutrients*, 2010. 2(3), 290-298.
53. Featherstone, J.D. (1996). Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater*, 12(3), 194-197.
54. Myasoedova, G.V., Mokhodoeva, O.B., Kubrakova, I.V. (2007). Trends in sorption preconcentration combined with noble metal determination. *Anal Sci*, 23(9), 1031-1039.
55. Dilber, E., Malkoç, M.A., Öztürk, A.N., Öztürk, F. (2013). Effect of various laser irradiations on the mineral content of dentin. *Eur J Dent*, 7(1), 74-80.
56. Swain, M.V., Xue, J. (2009). State of the art of Micro-CT applications in dental research. *Int J Oral Sci*, 1(4), 177-188.
57. Nakata, K., Nikaido, T., Nakashima, S., Nango, N., Tagami, J. (2012). An approach to normalizing micro-CT depth profiles of mineral density for monitoring enamel remineralization progress. *Dent Mater J*, 31(4), 533-540.



58. Griffiths, P., de Hasseth, J.A. (2007). *Fourier Transform Infrared Spectrometry* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
59. Wang, Z., Jiang, T., Sauro, S., Wang, Y., Thompson, I., Watson, T.F., Sa, Y., Xing, W., Shen, Y., Haapasalo, M. (2011). Dentine remineralization induced by two bioactive glasses developed for air abrasion purposes. *J Dent*, 39(11), 746-756.
60. Paschalis, E.P., Mendelsohn, R., Boskey, A.L. (2011). Infrared assessment of bone quality: a review. *Clin Orthop Relat Res*, 469(8), 2170-2178.
61. Önal, B., Özata, F., Diekwisch, T.G.H. (2003). *Dis sert dokularında taramalı elektron mikroskobu atlası*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
62. Goldstein, J. (2003). *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Pennsylvania: Academic Press.
63. Hegde, M.N., Moany, A. (2012). Remineralization of enamel subsurface lesions with casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: A quantitative energy dispersive X-ray analysis using scanning electron microscopy: An in vitro study. *J Conserv Dent*, 15(1), 61-67.
64. Hicks, J., Garcia-Godoy, F., Flaitz, C. (2004). Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent*, 28(2), 119-124.
65. Sjogren, K., Birkhed, D., Ruben, J., Arends, J. (1995). Effect of post-brushing water rinsing on caries-like lesions at approximal and buccal sites. *Caries Res*, 29(5), 337-342.
66. Morichini, D. (1803). Analisi chimica del dente fossile fatta dal Dottor Morecchini. *Mem. Mat. Fis. Soc. ital. Sci. (Modena)*, 10(1), 166-172.
67. Toumba, K.J. (1996). **In-vivo and in-vitro evaluation of a slow-release fluoride glass for the prevention of dental caries in high-risk children**. Thesis, University of Leeds Division of Child Dental Health, United Kingdom.
68. Tosun, G. (2002). **APF Jel ve APF Köpük ile Topikal Florid Uygulamasının Tükürük ve İdrar Flor Düzeyleri Üzerine Etkisinin Araştırılması**. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya

69. Bağlar, S. (2010). **Florürlü Gargaralarla Diş Minesinin Reaksiyon Kinetiğine Sıcaklığın Etkisi**. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
70. Everett, E.T. (2011). Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics. *J Dent Res*, **90**(5), 552-560.
71. Arslan, S. (2008). **Florozisli keçilerde tiroit hormonlarıyla flor düzeyleri arasındaki ilişki**. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
72. Fejerskov, O., Ekstrand, J., Burt, B.A. (1996). *Fluoride in Dentistry* (2nd ed.). Munksgaard, Copenhagen: Boisen Print.
73. Venkateswarlu, P. (1990). Evaluation of analytical methods for fluorine in biological and related materials. *J Dent Res*, **69**, 514-521; 556-557.
74. Varol, E., Varol, S. (2010). Çevresel bir Hastalık Olarak Florozis ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, **9**(3), 233-238.
75. Sjogren, K., Lingstrom, P., Lundberg, A.B., Birkhed, D. (1997). Salivary fluoride concentration and plaque pH after using a fluoride-containing chewing gum. *Caries Res*, **31**(5), 366-372.
76. Lamb, W.J., Corpron, R.E., More, F.G., Beltran, E.D., Strachan, D.S., Kowalsky, C.J. (1993). In situ remineralization of subsurface enamel lesion after the use of a fluoride chewing gum. *Caries Res*, **27**(2), 111-116.
77. Ten Cate, J.M. (1990). In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res*, **69**, 614-619; 634-636.
78. Larsen, M.J., Jensen, S.J. (1994). Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arch Oral Biol*, **39**(1), 23-27.
79. Hellwig, E., Lussi, A. (2001). What is the Optimum Fluoride Concentration Needed for the Remineralization Process? *Caries Res*, **35**(1), 57-59.
80. Koray, F. (1981). *Diş Çürükleri*. İstanbul: Altın Matbaacılık.
81. Rey, C., Collins, B., Goehl, T., Dickson, I.R., Glimcher, M.J. (1989). The carbonate environment in bone mineral: a resolution-enhanced Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study. *Calcif Tissue Int*, **45**(3), 157-164.
82. Axelsson, P. (1999). *Other caries-preventive factors, An Introduction to risk prediction and preventive dentistry*. Illinois: Quintessence Publishing Co.

83. Nelson, D.G., Jongebloed, W.L., Arends, J. (1983). Morphology of enamel surfaces treated with topical fluoride agents: SEM considerations. *J Dent Res*, 62(12), 1201-1208.
84. Eanes, E.D., Meyer, J.L. (1978). The influence of fluoride on apatite formation from unstable supersaturated solutions at pH 7.4. *J Dent Res*, 57(4), 617-624.
85. Fejerskov, O., Manji, F., Baelum, V. (1990). The nature and mechanisms of dental fluorosis in man. *J Dent Res*, 69, 692-700; 721.
86. Ismail, A.I., Bandekar, R.R. (1999). Fluoride supplements and fluorosis: a meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol*, 27(1), 48-56.
87. Clarkson, J.J., McLoughlin, J. (2000). Role of fluoride in oral health promotion. *Int Dent J*, 50(3), 119-128.
88. Hellwig, E., Lennon, A.M. (2004). Systemic versus topical fluoride. *Caries Res*, 38(3), 258-262.
89. Koch, G., Fejerskov, O., Tyylstrup, A., (1994). *Fluoride in caries treatment-clinical implications* (2nd ed.). Munsgaard, Copenhagen:
90. Reynolds, E.C. (1997). Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res*, 76(9), 1587-1595.
91. Azarpazhooh, A., Limeback, H. (2008). Clinical efficacy of casein derivatives: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc*, 139(7), 915-924; 994-995.
92. Çelik, E.U., Yazkan, B., Katırcı, G. (2011). Başlangıç çürük lezyonlarının tedavisi. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg*, 21(1), 48-56.
93. Çetin, B., Avşar, A., Ulusoy, A.T. (2011). Kazein içerikli besinler ve dental ürünler. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg*, 4, 24-31.
94. Aimutis, W.R. (2004). Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr*, 134(4), 989S-995S.
95. Cross, K.J., Hug, N.L., Palamara, J.E., Perich, J.W., Reynolds, E.C. (2005). Physicochemical characterization of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplexes. *J Biol Chem*, 280(15), 15362-15369.

96. Keleş, K. (2010). **Mine yüzeyindeki beyaz lezyonların “CPP-ACP” ile remineralizasyonu sonrası braket bağlanma dayanımlarının incelenmesi: in vitro çalışma.** Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
97. Shaw, J.H. (1950). Effects of dietary composition on tooth decay in the albino rat. *J Nutr*, 41(1), 13-24.
98. Reynolds, E.C., Riley, P.F., Adamson, N.J. (1994). A selective precipitation purification procedure for multiple phosphoserine-containing peptides and methods for their identification. *Anal Biochem*, 217(2), 277-284.
99. Shen, P., Cai, F., Nowicki, A., Vincent, J., Reynolds, E.C. (2001). Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res*, 80(12), 2066-2070.
100. Reynolds, E.C. (2009). Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Adv Dent Res*, 21(1), 25-29.
101. Rose, R.K. (2000). Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. *Arch Oral Biol*, 45(7), 569-575.
102. Morgan, M.V., Adams, G.G., Bailey, D.L., Tsao, C.E., Fischman, S.L., Reynolds, E.C. (2008). The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Res*, 42(3), 171-184.
103. Reynolds, E.C. (2006). Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and the remineralization of enamel. *Us Dentistry*, 51-54.
104. Iijima, Y., Cai, F., Shen, P., Walker, G., Reynolds, C., Reynolds, E.C. (2004). Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res*, 38(6), 551-556.
105. Rahiotis, C., Vougiouklakis, G. (2007). Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro. *J Dent*, 35(8), 695-698.
106. Cochrane, N.J., Saranathan, S., Cai, F., Cross, K.J., Reynolds, E.C. (2008). Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide

- stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res*, 42(2), 88-97.
107. Jayarajan, J., Janardhanam, P., Jayakumar, P. (2011). Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF on enamel remineralization - an in vitro study using scanning electron microscope and DIAGNOdent. *Indian J Dent Res*, 22(1), 77-82.
  108. Zhang, Q., Zou, J., Yang, R., Zhou, X. (2011). Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate creme on artificial early enamel lesions of primary teeth. *Int J Paediatr Dent*, 21(5), 374-381.
  109. Hamba, H., Nikaido, T., Inoue, G., Sadr, A., Tagami, J. (2011). Effects of CPP-ACP with sodium fluoride on inhibition of bovine enamel demineralization: a quantitative assessment using micro-computed tomography. *J Dent*, 39(6), 405-413.
  110. Clarkson, B.H., Feagin, F.F., McCurdy, S.P., Sheetz, J.H., Speirs, R. (1991). Effects of phosphoprotein moieties on the remineralization of human root caries. *Caries Res*, 25(3), 166-173.
  111. Brochner, A., Christensen, C., Kristensen, B., Tranaeus, S., Karlsson, L., Sonnesen, L., Twetman, S. (2011). Treatment of post-orthodontic white spot lesions with casein phosphopeptide-stabilised amorphous calcium phosphate. *Clin Oral Investig*, 15(3), 369-373.
  112. Topaloğlu, B. (2009). **Kazein Fosfopeptid-Amorf Kalsiyum Fosfat İçerikli Patın Mine Demineralizasyonu Üzerine Etkisinin İncelenmesi.** Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.
  113. Aras, S., Sütlaş, E. (2011). **Baslangıç Mine Lezyonlarının Tedavisinde Florid İlave Edilmiş Kazein Fosfopeptit Amorfoz Kalsiyum Fosfat (CPP-ACPF) ile Floridli Sütün Etkinliğinin Araştırılması.** Bilimsel Arastırma Projeleri, Ankara Üniversitesi, Ankara.
  114. Heijl, L. (1997). Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. *J Clin Periodontol*, 24(9-2), 693-696.
  115. Heijl, L., Heden, G., Svardstrom, G., Ostgren, A. (1997). Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol*, 24(9-2), 705-714.

116. Lyngstadaas, S.P., Wohlfahrt, J.C., Brookes, S.J., Paine, M.L., Snead, M.L., Reseland, J.E. (2009). Enamel matrix proteins; old molecules for new applications. *Orthod Craniofac Res*, 12(3), 243-253.
117. Bertl, K., An, N., Bruckmann, C., Dard, M., Andrukhov, O., Matejka, M., Rausch-Fan, X. (2009). Effects of enamel matrix derivative on proliferation/viability, migration, and expression of angiogenic factor and adhesion molecules in endothelial cells in vitro. *J Periodontol*, 80(10), 1622-1630.
118. Wiegand, A., Attin, T. (2008). Efficacy of enamel matrix derivatives (Emdogain) in treatment of replanted teeth--a systematic review based on animal studies. *Dent Traumatol*, 24(5), 498-502.
119. Thoma, D.S., Villar, C.C., Carnes, D.L., Dard, M., Chun, Y.H., Cochran, D.L. (2011). Angiogenic activity of an enamel matrix derivative (EMD) and EMD-derived proteins: an experimental study in mice. *J Clin Periodontol*, 38(3), 253-260.
120. Qu, Z., Andrukhov, O., Laky, M., Ulm, C., Matejka, M., Dard, M., Rausch-Fan, X. (2011). Effect of enamel matrix derivative on proliferation and differentiation of osteoblast cells grown on the titanium implant surface. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 111(4), 517-522.
121. Hammarstrom, L. (1997). Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol*, 24(9-2), 658-668.
122. Zeldich, E., Koren, R., Dard, M., Nemcovsky, C., Weinreb, M. (2008). EGFR in Enamel Matrix Derivative-induced gingival fibroblast mitogenesis. *J Dent Res*, 87(9), 850-855.
123. Brookes, S.J., Robinson, C., Kirkham, J., Bonass, W.A. (1995). Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. *Arch Oral Biol*, 40(1), 1-14.
124. Margolis, H.C., Beniash, E., Fowler, C.E. (2006). Role of macromolecular assembly of enamel matrix proteins in enamel formation. *J Dent Res*, 85(9), 775-793.
125. Jeong, C.C., Zhou, X.D., Li, J.Y., Li, W., Zhang, L.L. (2011). Possibilities and potential roles of the functional peptides based on enamel matrix proteins

- in promoting the remineralization of initial enamel caries. *Med Hypotheses*, 76(3), 391-394.
126. Ran, J.M., Ieng, J.J., Xiang, C.Y., Lv, X.P., Xue, J., Zhou, X.D., Li, W., Zhang, L.L. (2013). In Vitro Inhibition of Bovine Enamel Demineralization by Enamel Matrix Derivative. *Scanning*,
  127. Wang, Z.W., Zhao, Y.P., Zhou, C.R., Li, H. (2008). [The study on the enamel remineralization by enamel matrix proteins' inducing]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 39(4), 579-582.
  128. Rugg-Gunn, A. (2013). Dental caries: strategies to control this preventable disease. *Acta Med Acad*, 42(2), 117-130.
  129. Kunin, A.A., Belenova, I.A., Ippolitov, Y.A., Moiseeva, N.S., Kunin, D.A. (2013). Predictive research methods of enamel and dentine for initial caries detection. *EPMA J*, 4(1), 19.
  130. Chen, C.C., Chiou, S.J., Ting, J.J., Lin, Y.C., Hsu, C.C., Chen, F.L., Lee, C.H., Chen, T., Chang, C.S., Lin, Y.Y., Huang, H.L. (2014). Immigrant-native differences in caries-related knowledge, attitude, and oral health behaviors: a cross-sectional study in Taiwan. *BMC Oral Health*, 14(1), 3.
  131. Das, D., Misra, J., Mitra, M., Bhattacharya, B., Bagchi, A. (2013). Prevalence of dental caries and treatment needs in children in coastal areas of West Bengal. *Contemp Clin Dent*, 4(4), 482-487.
  132. Featherstone, J.D., Domejean, S. (2012). The role of remineralizing and anticaries agents in caries management. *Adv Dent Res*, 24(2), 28-31.
  133. Ulusoy, A.T., (2010). Pedodontide Güncel Koruyucu Yaklaşımlar. *J Dent Fac Atatürk Uni*, 3, 28-37.
  134. Oliveira, M.J., Martins, C.C., Paiva, S.M., Tenuta, L.M., Cury, J.A. (2013). Estimated fluoride doses from toothpastes should be based on total soluble fluoride. *Int J Environ Res Public Health*, 10(11), 5726-5736.
  135. Rugg-Gunn, A., Banoczy, J. (2013). Fluoride toothpastes and fluoride mouthrinses for home use. *Acta Med Acad*, 42(2), 168-178.
  136. Altenburger, M.J., Bernhard, J., Schicha, T.D., Wrbas, K.T., Hellwig, E. (2010). Comparison of in vitro fluoride uptake from whitening toothpastes

- and a conventional toothpaste in demineralised enamel. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 120(2), 104-113.
137. Hirata, E., Danelon, M., Freire, I.R., Delbem, A.C. (2013). In vitro enamel remineralization by low-fluoride toothpaste with calcium citrate and sodium trimetaphosphate. *Braz Dent J*, 24(3), 253-257.
  138. Cruz, R., Ogaard, B., Rolla, G. (1992). Acquisition of alkali-soluble fluoride by enamel through treatment with NaF-containing toothpastes in vitro. *Scand J Dent Res*, 100(2), 81-87.
  139. ten Cate, J.M., Buijs, M.J., Miller, C.C., Exterkate, R.A. (2008). Elevated fluoride products enhance remineralization of advanced enamel lesions. *J Dent Res*, 87(10), 943-947.
  140. Itthagarun, A., Thaveesanhpanich, P., King, N.M., Tay, F.R., Wefel, J.S. (2007). Effects of different amounts of a low fluoride toothpaste on primary enamel lesion progression: a preliminary study using in vitro pH-cycling system. *Eur Arch Paediatr Dent*, 8(1), 69-73.
  141. Arnold, W.H., dorow, A., Langenhorst, S., Gintner, Z., Banoczy, J., Gaengler, P. (2006). Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. *BMC Oral Health*, 6, 8.
  142. Schlueter, N., Klimek, J., Ganss, C. (2009). Effect of stannous and fluoride concentration in a mouth rinse on erosive tissue loss in enamel in vitro. *Arch Oral Biol*, 54(5), 432-436.
  143. Lagerweij, M.D., Buchalla, W., Kohnke, S., Becker, K., Lennon, A.M., Attin, T. (2006). Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. *Caries Res*, 40(2), 148-153.
  144. Lagerweij, M.D., ten Cate, J.M. (2002). Remineralisation of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoridated toothpaste: an in situ study. *Caries Res*, 36(4), 270-274.
  145. Pereira, H.A., Leite Ade, L., Charone, S., Lobo, J.G., Cestari, T.M., Peres-Buzalaf, C., Buzalaf, M.A. (2013). Proteomic analysis of liver in rats chronically exposed to fluoride. *PLoS One*, 8(9), e75343.
  146. Dimcevic Poesina, N., Balalau, C., Barca, M., Ion, I., Baconi, D., Baston, C., Baran Poesina, V. (2013). Testicular histopathological changes following



- sodium fluoride administration in mice. *Rom J Morphol Embryol*, 54(4), 1019-1024.
147. Kaminsky, L.S., Mahoney, M.C., Leach, J., Melius, J., Miller, M.J. (1990). Fluoride: benefits and risks of exposure. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1(4), 261-281.
  148. Harding, M.A., O'Mullane, D.M. (2013). Water fluoridation and oral health. *Acta Med Acad*, 42(2), 131-139.
  149. Sabour, S., Ghorbani, Z. (2013). Developmental fluoride neurotoxicity: clinical importance versus statistical significance. *Environ Health Perspect*, 121(3), A70.
  150. Choi, A.L., Grandjean, P., Sun, G., Zhang, Y. (2013). Developmental fluoride neurotoxicity: Choi et al. Respond. *Environ Health Perspect*, 121(3), A70.
  151. Liu, J., Cui, H., Peng, X., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Wang, H., Wu, B., Deng, Y., Wang, K. (2013). Decreased IgA+ B cells population and IgA, IgG, IgM contents of the cecal tonsil induced by dietary high fluorine in broilers. *Int J Environ Res Public Health*, 10(5), 1775-1785.
  152. Zhou, Y., Qiu, Y., He, J., Chen, X., Ding, Y., Wang, Y., Liu, X. (2013). The toxicity mechanism of sodium fluoride on fertility in female rats. *Food Chem Toxicol*, 62, 566-572.
  153. Nie, L., Li, X., Hu, D.Y. (2007). [Effect of ozone on the remineralization of enamel in vitro]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 42(2), 102-105.
  154. Duggal, M.S., Nikolopoulou, A., Tahmassebi, J.F. (2012). The additional effect of ozone in combination with adjunct remineralisation products on inhibition of demineralisation of the dental hard tissues in situ. *J Dent*, 40(11), 934-940.
  155. Poosti, M., Ahrari, F., Moosavi, H., Najjaran, H. (2013). The effect of fractional CO laser irradiation on remineralization of enamel white spot lesions. *Lasers Med Sci*.
  156. Liu, Y., Hsu, C.Y., Teo, C.M., Teoh, S.H. (2013). Subablative Er:YAG laser effect on enamel demineralization. *Caries Res*, 47(1), 63-68.

157. Tavares, J.G., Eduarda Cde, P., Burnett, L.H., Jr., Boff, T.R., de Freitas, P.M. (2012). Argon and Nd:YAG lasers for caries prevention in enamel. *Photomed Laser Surg*, 30(8), 433-437.
158. Farooq, I., Tylkowski, M., Muller, S., Janicki, T., Brauer, D.S., Hill, R.G. (2013). Influence of sodium content on the properties of bioactive glasses for use in air abrasion. *Biomed Mater*, 8(6), 065008.
159. Huang, Y., Duan, Y., Qian, Y., Huang, R., Yang, Z., Li, Y., Zhou, Z. (2013). Remineralization efficacy of a toothpaste containing 8% arginine and calcium carbonate on enamel surface. *Am J Dent*, 26(5), 291-297.
160. Vanichvatana, S., Auychai, P. (2013). Efficacy of two calcium phosphate pastes on the remineralization of artificial caries: a randomized controlled double-blind in situ study. *Int J Oral Sci*, 5(4), 224-228.
161. Comar, L.P., Souza, B.M., Gracindo, L.F., Buzalaf, M.A., Magalhaes, A.C. (2013). Impact of experimental nano-HAP pastes on bovine enamel and dentin submitted to a pH cycling model. *Braz Dent J*, 24(3), 273-278.
162. Kutsch, V.K., Chaiyabutr, Y., Milicich, G. (2013). Reconsidering remineralization strategies to include nanoparticle hydroxyapatite. *Compend Contin Educ Dent*, 34(3), 170-176; 177.
163. Amaechi, B.T., Porteous, N., Ramalingam, K., Mensinkai, P.K., Ccahuana Vasquez, R.A., Sadeghpour, A., Nakamoto, T. (2013). Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Res*, 47(5), 399-405.
164. Chen, Y., Zhou, Y., Li, S.J., Fang, P., Wei, Y., Tang, J.W. (2013). [Effect of the complex of casein phosphopeptide and amorphous calcium phosphate on reducing enamel demineralization and promoting remineralization]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 48(1), 32-36.
165. Zhou, C., Zhang, D., Bai, Y., Li, S. (2014). Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralization of primary teeth early enamel lesions. *J Dent*, 42(1), 21-29.
166. Wang, Z.W., Zhao, Y.P., Zhou, C.R., Liao, G.W. (2009). [Role of enamel matrix proteins in inducing biomimetic mineralization of the enamel: a study with quartz crystal microbalance technique]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 29(5), 966-969.

167. Patil, N., Choudhari, S., Kulkarni, S., Joshi, S.R. (2013). Comparative evaluation of remineralizing potential of three agents on artificially demineralized human enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent*, 16(2), 116-120.
168. Giulio, A.B., Matteo, Z., Serena, I.P., Silvia, M., Luigi, C. (2009). In vitro evaluation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) effect on stripped enamel surfaces. A SEM investigation. *J Dent*, 37(3), 228-232.
169. Chen, H., Clarkson, B.H., Sun, K., Mansfield, J.F. (2005). Self-assembly of synthetic hydroxyapatite nanorods into an enamel prism-like structure. *J Colloid Interface Sci*, 288(1), 97-103.
170. Thylstrup, A. (1979). A scanning electron microscopical study of normal and fluorotic enamel demineralized by EDTA. *Acta Odontol Scand*, 37(3), 127-135.
171. Argenta, R.M., Tabchoury, C.P., Cury, J.A. (2003). A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesqui Odontol Bras*, 17(3), 241-246.
172. Pacheco, L.F., Banzi, E.C., Rodrigues, E., Soares, L.E., Pascon, F.M., Corer-Sobrinho, L., Puppim-Rontani, R.M. (2013). Molecular and structural evaluation of dentin caries-like lesions produced by different artificial models. *Braz Dent J*, 24(6), 610-618.
173. Xue, J., Li, W., Swain, M.V. (2009). In vitro demineralization of human enamel natural and abraded surfaces: A micromechanical and SEM investigation. *Journal of Dentistry*, 37(4), 264-272.
174. Preston, K.P., Higham, S.M., Smith, P.W. (2007). The efficacy of techniques for the disinfection of artificial sub-surface dentinal caries lesions and their effect on demineralization and remineralization in vitro. *Journal of Dentistry*, 35(6), 490-495.
175. ten Cate, J.M., Duijsters, P.P. (1982). Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res*, 16(3), 201-210.

176. Yassen, G.H., Platt, J.A., Hara, A.T. (2011). Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci*, 53(3), 273-282.
177. Attin, T., Wegehaupt, F., Gries, D., Wiegand, A. (2007). The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel: Erosion-abrasion experiments. *J Dent*, 35(10), 773-777.
178. Almeida, K.G., Scheibe, K.G., Oliveira, A.E., Alves, C.M., Costa, J.F. (2009). Influence of human and bovine substrate on the microleakage of two adhesive systems. *J Appl Oral Sci*, 17(2), 92-96.
179. Zero, D.T. (1995). In situ caries models. *Adv Dent Res*, 9(3), 214-230; 231-234.
180. Arnold, W.H., Gaengler, P. (2007). Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. *Ann Anat*, 189(2), 183-190.
181. Kul, S. (2011). Sample Size Determination for Clinical Research. *Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 11, 129-132.
182. Tosun, G., Şener, Y., Şengün, A. (2005). The Effect of Various Storage Solutions on The Bond Strength of Resin Composite to Enamel. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 29(3), 2-6.
183. Moura, J.S., Rodrigues, L.K., Del Bel Cury, A.A., Lima, E.M., Garcia, R.M. (2004). Influence of storage solution on enamel demineralization submitted to pH cycling. *J Appl Oral Sci*, 12(3), 205-208.
184. Schemehorn, B.R., Wood, G.D., McHale, W., Winston, A.E. (2011). Comparison of fluoride uptake into tooth enamel from two fluoride varnishes containing different calcium phosphate sources. *J Clin Dent*, 22(2), 51-54.
185. Balakrishnan, A., Jonathan, R., Benin, P., Kuumar, A. (2013). Evaluation to determine the caries remineralization potential of three dentifrices: An in vitro study. *J Conserv Dent*, 16(4), 375-379.
186. Zhou, Y.Z., Cao, Y., Liu, W., Chu, C.H., Li, Q.L. (2012). Polydopamine-induced tooth remineralization. *ACS Appl Mater Interfaces*, 4(12), 6901-6910.

187. Gjorgievska, E., Nicholson, J.W. (2011). Prevention of enamel demineralization after tooth bleaching by bioactive glass incorporated into toothpaste. *Aust Dent J*, 56(2), 193-200.
188. Barbour, M.E., Rees, J.S. (2004). The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent*, 32(8), 591-602.
189. Arnold, W.H., Haase, A., Hacklaender, J., Gintner, Z., Banoczy, J., Gaengler, P. (2007). Effect of pH of amine fluoride containing toothpastes on enamel remineralization in vitro. *BMC Oral Health*, 7, 14.
190. Arnold, W.H., Forer, S., Heesen, J., Yudovich, K., Steinberg, D., Gaengler, P. (2006). The in vitro effect of fluoridated milk in a bacterial biofilm--enamel model. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 150(1), 63-69.
191. Mahoney, E.K., Rohanizadeh, R., Ismail, F.S., Kilpatrick, N.M., Swain, M.V. (2004). Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. *Biomaterials*, 25(20), 5091-5100.
192. Liu, Q., Chen, Z., Pan, H., Darvell, B.W. (2014). The effect of excess phosphate on the solubility of hydroxyapatite. *Ceramics International*, 40(2), 2751-2761.
193. Jalevik, B., Odelius, H., Dietz, W., Noren, J. (2001). Secondary ion mass spectrometry and X-ray microanalysis of hypomineralized enamel in human permanent first molars. *Arch Oral Biol*, 46(3), 239-247.
194. Dong, Z., Chang, J., Deng, Y., Joiner, A. (2010). In vitro remineralization of acid-etched human enamel with  $\text{Ca}_3\text{SiO}_5$ . *Applied Surface Science*, 256(8), 2388-2391.
195. Eissaa, O.E., El-Shourbagy, E.M., Ghobashy, S.A. (2013). In vivo effect of a fluoride releasing adhesive on inhibition of enamel demineralization around orthodontic brackets. *Tanta Dental Journal*, 10(2), 86-96.
196. Arnold, W.H., Cerman, M., Neuhaus, K., Gaengler, P. (2003). Volumetric assessment and quantitative element analysis of the effect of fluoridated milk on enamel demineralization. *Arch Oral Biol*, 48(6), 467-473.

197. Naumova, E.A., Niemann, N., Aretz, L., Arnold, W.H. (2012). Effects of different amine fluoride concentrations on enamel remineralization. *J Dent*, 40(9), 750-755.
198. Eggerath, J., Kremniczky, T., Gaengler, P., Arnold, W.H. (2011). EDX-Element Analysis of the In Vitro Effect of Fluoride Oral Hygiene Tablets on Artificial Caries Lesion Formation and Remineralization in Human Enamel. *Open Dent J*, 5, 84-89.
199. Field, J., Waterhouse, P., German, M. (2010). Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues in vitro. *J Dent*, 38(3), 182-190.
200. Zhou, S.L., Zhou, J., Watanabe, S., Watanabe, K., Wen, L.Y., Xuan, K. (2012). In vitro study of the effects of fluoride-releasing dental materials on remineralization in an enamel erosion model. *J Dent*, 40(3), 255-263.
201. Elkassas, D., Arafa, A. (2014). Remineralizing efficacy of different calcium-phosphate and fluoride based delivery vehicles on artificial caries like enamel lesions. *J Dent*.

## EKLER

### EK 1: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı

#### KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

<b>ETİK KURULU BİLGİLERİ</b>	ETİK KURULUN ADI	MALATYA KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İnönü Üniversitesi Merkez Kampüsü, 44280, Malatya, Türkiye
	TELEFON	+90 422 341 06 60 / 1219
	FAKS	+90 422 341 00 36
	E-POSTA	inu.dhek@inonu.edu.tr

<b>BAŐYURU BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	KAZEİN FOSFOPEPTİT AMORF KALSİYUM FOSFAT VE AMELOGENİNİN MİNE REMİNERALİZASYONUNA ETKİSİ			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	2013/146			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Çiğdem GÜLER			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŐTIRMACININ UZMANLIK ALANI	İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti AD			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŐTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	MALATYA			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
		Gözlensel ilaç çalışması	<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
DİĞER:	<input type="checkbox"/>						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2013/146	Tarih: 04.12.2013					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Rifat KARLIDAĞ
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	KAZEİN FOSFOPEPTİT AMORF KALSİYUM FOSFAT VE AMELOGENİNİN MİNE REMİNERALİZASYONUNA ETKİSİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Rifat KARLIDAĞ	Psikiyatri	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Metin GENÇ	Halk Sağlığı	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Saim YOĞLU	Biyoistatistik	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Türkan TOĞAL	Anesteziyoloji ve Rea.	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ahmet KARADAĞ	Çocuk Sağlığı ve Hast.	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Alaadin POLAT	Fizyoloji	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. H.Birgül CUMURCU	Psikiyatri	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	



## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

Doç. Dr. Yusuf YAKUPOĞULLARI	Tıbbi Mikrobiyoloji	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR	Tıbbi Farmakoloji	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Mehmet KARATAŞ	Tıp Tarihi ve Etik	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Neslihan ŞİMŞEK	Dış Hekimliği	İnönü Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Ömer Murat AYDIN	Nükleer Tıp Uzmanı	Malatya Devlet Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Metin TAY	Eczacı	Serbest Eczacı	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Zafer ERGÜZEL	Hukuk	İnönü Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Hasan KONAN	Sivil Üye	Zaloğlu Ltd. Şti.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*:Toplantıda Bulunma

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Gül KESKİN  
 Doğum Tarihi: 03.10.1986  
 Doğum Yeri: Malatya  
 Medeni Durum: Evli  
 E-mail: gul.keskin@inonu.edu.tr

### Eğitim Bilgileri

2010- İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (Doktora eğitimi )  
 2009 Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (Lisans eğitimi)  
 2004 Malatya Lisesi Y.D.A  
 2000 Atatürk İlköğretim Okulu  
 1997 Gazi İlköğretim Okulu

### Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Özeti Yayınlanan Bildiri, Poster:

1. Çiğdem Güler, Yücel Yılmaz, **Gül Beyret**, Dilek Uysal. Çocuklarda Renkli Kompomer Tercihinin Davranış Skalası Ve Memnuniyet Derecesi Üzerindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi. 18. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi. 1 - 3 Nisan 2011. Lütfi Kırdar Kongre ve Sergi Sarayı. İstanbul.
2. Çiğdem Güler, Ali Keleş, **Gül Keskin**, Mehmet Sami Güler, Şendoğan Karagöz. Farklı Renklerdeki Kompomerlerin Isı İletkenlik Özelliklerinin İncelenmesi. 19. Türk Pedodonti Derneği Kongresi. 4-7 Ekim 2012. Gloria Kongre Merkezi, Antalya.
3. Çiğdem Güler, **Gül Keskin**. Birinci Büyük Azı Dişlerinde Yaygın İdiyopatik Kök Rezorpsiyonu: Bir Olgu Raporu.20. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi. 07-10 Kasım 2013. Ommer Otel, Kayseri.
4. Çiğdem Güler, Nihal Beldüz Kara, **Gül Keskin**. Deforme Olmuş Lingual Arkla İlişkili Şiddetli Kök Rezorpsiyonu: Bir Olgu Raporu. 20. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi. 07-10 Kasım 2013. Ommer Otel, Kayseri.

5. Esra Ayhan Kızılcı, **Gül Keskin**. Reimplante Edilmiş Geç Avulsiyonlu Dişin 22 Aylık Takibi- Olgu Raporu. 20. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi. 07-10 Kasım 2013. Ommer Otel, Kayseri.

**Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Özeti Yayınlanan Bildiri, Poster:**

1. Çiğdem Güler, **Gül Keskin**, Alper Görgeç, Pınar Demir, Mustafa Altunsoy. Süt Dişlerinde Farklı Renklerdeki Kompomerlerin Mikrogerilim Bağlanma Dayanımlarının Değerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi. 26-28 Nisan 2012. Turgut Özal Kongre Merkezi, Malatya/TÜRKİYE.
2. Çiğdem Güler, Alper Görgeç, **Gül Keskin**, Pınar Demir. Rezin rengi ve ışık kaynaklarının bir kompozit rezin ve iki farklı kompomer restoratif materyalinin yüzey sertliği üzerine etkisinin değerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi. 26-28 Nisan 2012. Turgut Özal Kongre Merkezi, Malatya/TÜRKİYE.
3. Çiğdem Güler, Alper Görgeç, **Gül Keskin**, Pınar Demir. Sınıf V kaviteelerde iki farklı kompozit rezin ve üç farklı dentin bağlayıcı ajanın mikrosızıntı üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi. 26-28 Nisan 2012. Turgut Özal Kongre Merkezi, Malatya/TÜRKİYE.
4. Çiğdem Güler, **Gül Keskin**. Rare Hamamy Syndrome: Clinical and Dental Findings. 101. Dünya Diş Hekimliği Kongresi (FDI).28-31 Ağustos 2013 İstanbul/Türkiye.

**Katıldığı Kongreler:**

1. 18. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi. 1 - 3 Nisan 2011. Lütfi Kırdar Kongre ve Sergi Sarayı. İstanbul.
2. İnönü Üniversitesi Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi. 26-28 Nisan 2012. Turgut Özal Kongre Merkezi, Malatya/TÜRKİYE
3. 19. Türk Pedodonti Derneği Kongresi. 4-7 Ekim 2012. Gloria Kongre Merkezi, Antalya.
4. 101. Dünya Diş Hekimliği Kongresi (FDI).28-31 Ağustos 2013 İstanbul/Türkiye.
5. 20. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi. 07-10 Kasım 2013. Ommer Otel, Kayseri.

**Seminerler:**

1. Çocuk Diş Hekimliğinde Kompomerler
2. Diş Hekimliğinde Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat

**Yayınlar:**

1. Güler Ç., Keskin G., Görgen V.A., Demir P., Altunsoy M. Süt Dişlerinde Farklı Renklerdeki Kompomerlerin Mikrogerilim Bağlanma Dayanımlarının Değerlendirilmesi. Türkiye Klinikleri J Dental Sci 2013;19(2):106-12.
2. Keskin G., Güler Ç. Diş Hekimliğinde Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat: Bir Literatür Derlemesi. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg 2013;23(2):261-268.
3. Keskin G., Güler Ç. Çocuk Diş Hekimliğinde Kompomerler: Bir Literatür Derlemesi. Dicle Dişhekimliği Dergisi 2013; 14(1): 121-131.
4. Güler Ç., Keskin G. Dental Findings in Hamamy Syndrome. Journal of Genetic Counseling. Kabul Tarihi: 19.05.2014.