



**GLUTATYON İLAVE EDİLMİŞ GÜMÜŞ DİAMİN FLORÜRÜN SÜT DİŞİ
DENTİN ÇÜRÜKLERİNDE REMİNERALİZASYON VE RENK
DEĞİŞİKLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İN VİTRO OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hamide CÖMERT

**DOKTORA TEZİ
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Hamide CÖMERT

16/01/2024

GLUTATYON İLAVE EDİLMİŞ GÜMÜŞ DİAMİN FLORÜRÜN SÜT DİŞİ DENTİN
ÇÜRÜKLERİNDE REMİNERALİZASYON VE RENK DEĞİŞİKLİĞİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN İN VİTRO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

Hamide CÖMERT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2024

ÖZET

Gümüş diamin florür (GDF); aktif çürükleri durdurabilen topikal bir remineralizasyon ajanıdır. GDF uygulamalarının dezavantajı, dişlerde meydana gelen koyu renklenmedir. Bu dezavantaj, bu uygulamaların hasta ve ebeveyn kabulünü azaltabilmektedir. Bu tez çalışmasının amacı; GDF'ye ilave edilen GSH'nın, GDF renklenmesine ve remineralizasyonuna etkisinin KI ile karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmesidir. Sağlam ve çekilmiş 16 adet süt 2. azı dişinin her birinden dörder adet dentin örneği hazırlanmıştır. Her diştten elde edilen 3 adet dentin örneğinden 1'i kontrol, diğer 2'si deney gruplarında olacak şekilde rastgele dağıtılmıştır. Her bir süt dişinden kalan birer adet dentin örneği, başlangıç mikrosertlik değeri ölçümü için kullanılmıştır. Kontrol ve deney gruplarındaki örnekler; yapay çürük oluşturmak amacıyla demineralizasyon solüsyonu içerisinde bekletilmiştir. Ardından örnekler üzerinde renk ölçümü amacıyla bir kolorimetre kullanılmıştır. Demineralize örneklerle yapılan 2. mikrosertlik ölçümü sonrası; 1. gruba (kontrol grubu, n=16) %38'lik GDF, 2. gruba (n=16) %38'lik GDF ardından KI, 3. gruba (n=16) %38 GDF'nin içerisine ağırlıkça %5'lik glutatyon (GSH) eklenmiş solüsyon uygulanmıştır. Tüm gruplara, ağız ortamında oluşan pH değişikliklerini taklit etmek amacıyla pH siklusu uygulanmıştır. Tekrar renk ölçümü amacıyla aynı kolorimetre 48 adet dentin örneği üzerinde kullanılmıştır. Bu örneklerin üzerinde, son kez mikrosertlik ölçümü yapılarak değerler kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda; ağırlıkça %5'lik GSH'nın, GDF kaynaklı renk değişimi üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı ve GDF'nin remineralizasyon potansiyelini azaltmış olabileceği söylenebilir. Ayrıca KI uygulamasının; GDF kaynaklı renk değişimini azaltabilirken, beklenen remineralizasyon sürecinin etkilenmediği düşünülmektedir.

Bilim Kodu : 10101.03

Anahtar Kelimeler : Çocuk diş hekimliği, süt dişleri, gümüş diamin florür, diş renklenmesi, potasyum iyodür, glutatyon, remineralizasyon

Sayfa Adedi : 108

Danışman : Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ

IN VITRO EVALUATION OF THE EFFECT OF GLUTATHIONE ADDED SILVER
DIAMINE FLUORIDE ON REMINERALIZATION AND COLOR CHANGE IN
DENTIN CARIES OF PRIMARY TEETH

(Ph. D. Thesis)

Hamide CÖMERT

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2024

ABSTRACT

Silver diamine fluoride (SDF) is a topical treatment that can stop dental caries, although it has a drawback of causing staining on teeth, leading to reduced acceptance by patients and parents. The aim of this thesis is to comparatively evaluate the effect of GSH added to SDF on SDF coloration and remineralization in comparison with KI. Sixteen sound and extracted second primary molar teeth provided four dentin specimens each. Three specimens from each tooth were used, with one as a control and the other two assigned to experimental groups. Initial microhardness measurements were taken from one remaining dentin specimen from each primary tooth. Both control and experimental group specimens were exposed to a demineralization solution to simulate artificial caries development. A colorimeter was used to measure color on the specimens, and after the second microhardness measurement on demineralized specimens, the following treatments were applied to the groups: group 1 (control, n=16): 38% SDF, group 2 (n=16): 38% SDF followed by KI, group 3 (n=16) a solution with 5% GSH added by weight to 38% SDF. After undergoing pH cycling with all groups, the colorimeter was used again to measure color on 48 dentin specimens. The final microhardness measurement was conducted, and the results were statistically analyzed. The study concludes that 5% GSH by weight did not significantly prevent staining and may even have reduced SDF's remineralization potential. Furthermore, the application of KI appeared to reduce staining without affecting the expected remineralization process.

Science Code : 10101.03

Key Words : Pediatric dentistry, primary teeth, silver diamine fluoride, tooth staining, potassium iodide, glutathione, remineralization

Page Number : 108

Supervisor : Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca değerli bilgilerini ve zamanını benden esirgemeyen, tecrübeleriyle yol gösteren, desteğini ve sevgisini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ'e,

Değerli bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşan, Gazi Üniversitesi Çocuk Dış Hekimliği Ana Bilim Dalı öğretim üyeleri ve Tez İzleme Komitesi üyeleri kıymetli hocalarıma,

TDK-2023-8554 proje kodlu BAP projesi desteği ile tez çalışmama katkı sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine,

Akademik süreçte karşımıza çıkan zorluklara beraber göğüs gerdiğimiz, birlikte üzülüp birlikte güldüğümüz can dostlarım Dr. Dt. Sedanur GÜRDERE'ye, Uzm. Dt. Ecem Elif ÇEGE'ye, Uzm. Dt. Halime VAYVAYLI ERSOY'a ve Uzm. Dt. Şeyma İŞEN'e,

Hayatım boyunca bana sevgilerini ve desteklerini gösteren canım annem Nedret ÇELİK'e ve canım babam Necat ÇELİK'e

Canımın parçaları kardeşlerim Gamze ÇELİK ve Ece ÇELİK'e,

Uzakta olsalar da desteklerini her zaman hissettiğim ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili babaannem Hatice ÇELİK'e ve sevgili anneannem Cemile ERSOY'a,

Her koşulda en büyük destekçim, bir taneciğim, canım eşim Utku Kaan CÖMERT'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca; yakın zamanda kaybettiğim sevgili dedem Ahmet (Mehmet) ERSOY'u ve adını taşımaktan gurur duyduğum sevgili dedem Hamit ÇELİK'i, bana her zaman güç ve ilham kaynağı oldukları için anıyor ve bu tez çalışmasını onlara adıyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diş Mineral Yapısı ve Bileşenleri	3
2.2. Minenin Yapısı.....	3
2.3. Dentinin Yapısı	3
2.3.1. Dentinin inorganik yapısı.....	4
2.3.2. Dentinin organik yapısı.....	4
2.3.3. Dentinin histolojik yapısı	5
2.3.4. Dentin tipleri	7
2.4. Çürük.....	9
2.4.1. Demineralizasyon.....	9
2.4.2. Remineralizasyon.....	10
2.5. Gümüş Diamin Florür (GDF).....	11
2.5.1. Gümüş (Ag) ve gümüş bileşikleri	11
2.5.2. Gümüş diamin florürün içeriği ve mevcut konsantrasyonları.....	13
2.5.3. Gümüş diamin florürün etki mekanizması.....	15

2.5.4. Gümüş diamin florürün klinik uygulamaları.....	19
2.5.5. Gümüş diamin florür ile çürük yönetiminde vaka seçimi	22
2.5.6. Gümüş diamin florür uygulamasının yöntemi, sıklığı ve takibi	23
2.5.7. Gümüş diamin florür uygulamasının güvenilirliği.....	25
2.5.8. Gümüş diamin florür renklenmesi	27
2.6. İn-Vitro Yapay Çürük Modelleri	29
2.6.1. Asit jel ve tamponların kullanıldığı yapay çürük modelleri	30
2.6.2. pH siklus modelinin kullanıldığı yapay çürük modelleri	31
2.6.3. Bakteriyel asitlerin kullanıldığı çürük modelleri	31
2.6.4. Yapay çene modelleri.....	32
2.7. Demineralizasyon ve Remineralizasyon Süreçlerini Değerlendirme Yöntemleri	32
2.7.1. Yüzey mikrosertlik analizi	32
2.7.2. Elektron mikroskopları ve enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi	33
2.7.3. Kantitatif ışık etkili floresans (QLFTM).....	34
2.7.4. Optik koherens tomografi (OCT).....	34
2.7.5. Polarize ışık mikroskobu.....	34
2.7.6. Mikroradyografi	35
2.7.7. Konfokal lazer tarayıcı mikroskobu (CLSM)	36
2.8. Renk Analiz Sistemleri ve Elektronik Renk Ölçüm Cihazları.....	36
2.8.1. Renk analiz sistemleri	36
2.8.2. Elektronik renk ölçüm cihazları	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Etik Kurul Onayı.....	41

Sayfa

3.2. Örneklem Sayısının Belirlenmesi	41
3.3. Dentin Örneklerinin Hazırlanması	41
3.4. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	44
3.5. Dentin Örneklerinin Demineralizasyonu	46
3.6. pH siklusu.....	47
3.7.Çalışma Gruplarında Deney Materyallerinin Uygulanması.....	49
3.7.1.Gümüş Diamin Florür Uygulaması.....	49
3.6.2.Gümüş Diamin Florür ve Potasyum İyodür Uygulaması.....	50
3.6.3.Gümüş Diamin Florür ve Glutatyon Kombinasyonu Uygulaması.....	51
3.7.Renk Ölçümleri	52
3.8.Yüzey Sertliği Ölçümleri	55
3.10.İstatistiksel Yöntem.....	58
4. BULGULAR	59
4.1.Renk Ölçümü Bulguları	59
4.2.Yüzey Sertliği Ölçümü Bulguları.....	63
5. TARTIŞMA.....	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	79
KAYNAKLAR	81
EKLER.....	107
EK-1. Etik kurul onayı.....	108
ÖZGEÇMİŞ	112

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Piyasada mevcut bazı GDF ürünleri	14
Çizelge 4.1. Çalışma grupları ve farklı ölçüm zamanlarına göre ΔE^* ve L^* ölçümlerinin dağılımı	59
Çizelge 4.2. Çalışma gruplarına göre ΔE^* ortalamalarının karşılaştırılması.....	60
Çizelge 4.3. Çalışma grupları için farklı ölçüm zamanlarına göre L^* ölçümlerinin karşılaştırılması	61
Çizelge 4.4. Başlangıç ve son renk ölçümleri için çalışma gruplarına göre L^* ölçümlerinin karşılaştırılması.....	62
Çizelge 4.5. Çalışma grupları ve farklı ölçüm zamanlarına göre VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerinin dağılımı	64
Çizelge 4.6. Çalışma grupları için farklı ölçüm zamanlarına göre VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerinin karşılaştırılması	65
Çizelge 4.7. Farklı ölçüm zamanları için çalışma gruplarına göre VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerinin karşılaştırılması	66

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Munsell renk sistemi.....	37
Şekil 2.2. CIE L*a*b* renk sisteminde beyaz ve siyah.	38
Şekil 3.1. Deney prosedürünü anlatan şema	45
Şekil 4.1. Çalışma grupları için ΔE^* (renk değişimi) değerlerine ait kutu grafiği	60
Şekil 4.2. Çalışma gruplarında başlangıç ve son renk ölçümlerinde L* (parlaklık) değerlerine ait kutu grafiği.....	62
Şekil 4.3. Çalışma gruplarında başlangıç ve son renk ölçümlerinde L* (parlaklık) değerlerine ait çizgi grafiği.....	63
Şekil 4.4. Çalışma grupları ve farklı ölçüm zamanları için VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerine ait çizgi grafiği	67
Şekil 4.5. Çalışma grupları ve farklı ölçüm zamanları için VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerine ait kutu grafiği.....	67

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Akrilik bloğa sabitlenen süt azı dişi.....	42
Resim 3.2. Kesit alma cihazı.....	42
Resim 3.3. Bukkolingual ve meziodistal kesitler alınmış süt azı dişi.....	43
Resim 3.4. Mine yüzeylerinin elmas fissür frez ile kaldırılması	43
Resim 3.5. Akrilik bloğa sabitlenmiş dentin örnekleri	44
Resim 3.6. Polisaj ve zımpara cihazı	44
Resim 3.7. Manyetik karıştırıcı ile demineralizasyon solüsyonunun hazırlanması.....	46
Resim 3.8. pH metre	47
Resim 3.9. Etüv.....	48
Resim 3.10. Etüv içerisinde bekletilen örnekler	48
Resim 3.11. GDF Uygulaması	50
Resim 3.12. GDF'nin ardından KI Uygulaması	50
Resim 3.13. Vorteks tüp karıştırıcı	51
Resim 3.14. Sonikatör.....	51
Resim 3.15. GDF+GSH kombinasyonu uygulaması	52
Resim 3.16. Renk ölçümünde kullanılan kolorimetre	53
Resim 3.17. Kalibrasyon plakası ve kolorimetre	53
Resim 3.18. Ölçüm düzeneği	54
Resim 3.19. Ölçüm ucu ve örnek yüzeyi	54
Resim 3.20. Çevrimiçi dönüştürücü.....	55
Resim 3.21. Mikrosertlik test cihazı ve görüntülerin aktarıldığı bilgisayar	55
Resim 3.22. Cihazın tablasına yerleştirilmiş örnek, vickers ucu ve yükleme.....	56

Resim 3.23. 10 saniyede 50 gramlık kuvvet ve 40 defa büyütme ile yapılan ölçüm.....	56
Resim 3.24a. Sağlam örnekte 40 defa büyütülmüş mikroskop görüntüsü.....	57
Resim 3.24b. Demineralize örnekte 40 defa büyütülmüş mikroskop görüntüsü.....	57
Resim 3.25. Bilgisayar programı ile mikrosertlik ölçümlerinin hesaplanması.....	57



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
ΔE^*	Renk değişimi
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
-SH	Tiyol grubu
a^*	Kırmızı/yeşil renk koordinatı
Ag	Gümüş
AgF	Gümüş florür
AgI	Gümüş iyodür
$\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$	Diamin gümüş iyonu kompleksi
Ag_3PO_4	Gümüş fosfat
b^*	Sarı/mavi renk koordinatı
CaCl_2	Kalsiyum klorür
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroksiapatit
CH_3COOH	Asetik asit
F^-	Florür iyonu
Fe	Demir
K	Potasyum
KCl	Potasyum klorür
Kg	Kilogram
Kg-f	Kilogram-kuvvet
KHN	Knoop hardness number, Knoop sertlik değeri
KOH	Potasyum hidroksit
kV	Kilovolt
L^*	Parlaklık
Mg	Magnezyum
mg	Miligram

mm²	Milimetrekaare
Mn	Manganez
N	Newton
Na	Sodyum
NaF	Sodyum Florür
NaH₂PO₄	Mono sodyum fosfat
Sr	Stronsiyum
P	Fosfor
VHN	Vickers sertlik değeri
Zn	Çinko

Kısaltmalar

Açıklamalar

AAPD	Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi
ADA	Amerikan Diş Hekimliği Birliği
<i>A. naeslundii</i>	<i>Actinomyces naeslundii</i>
BSP	Kemik sialoprotein
CIE	Uluslararası Aydınlatma Komisyonu
CLSM	Konfokal lazer tarayıcı mikroskobu
CPP-ACPF	Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat florür
COVID-19	Koronavirüs hastalığı-2019
DMP-1	Dentin matriks protein-1
DPP	Dentin fosfoprotein
DSLR	Sayısal tek mercek yansımali kamera
DSP	Dentin sialoprotein
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
EDX	Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi
Eş.	Eşitlik
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FHA	Florohidroksiapatit
GDF	Gümüş diamin florür
GSH	İndirgenmiş glutatyon

IAPD	Uluslararası Pediatrik Diş Hekimliği Birliği
<i>L. acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
LD	Lethal dose
LMR	Longitudinal mikroradyografi
KI	Potasyum iyodür
M.Ö.	Milattan önce
MEPE	Matriks ekstraselüler fosfoglikoprotein
MMP	Matriks metalloproteinaz
NCP	Non kollajenöz protein
OCT	Optik koherens tomografi
QLFTM	Kantitatif ışık etkili floresans
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SIBLING	Küçük integrin bağlayıcı ligand N-bağlı glikoprotein
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TMR	Transversal mikroradyografi
WIM	Dalga boyundan bağımsız mikroradyografi

1. GİRİŞ

Gümüş diamin florür (GDF) aktif çürük lezyonlarını durduran ve invaziv olmayan bir tedavi seçeneğidir [1]. GDF; Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından “esansiyel ilaçlar” listesinde önerilen, kullanımı güvenli, düşük maliyetli bir ajandır [2]. Amerikan Dişhekimliği Birliği (ADA) ve Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi (AAPD); çocukların süt dişlerindeki aktif ve kaviteli çürükleri durdurmak için %38 GDF kullanılabileceği görüşündedir [3,4]. 2020 yılında Uluslararası Pediatrik Diş Hekimliği Derneği (IAPD), orta ve yüksek çürük riskli çocuklarda; ilerleyen veya kaviteli çürük lezyonlara topikal GDF uygulamasını önermiştir [5]. GDF; erken çocukluk çağı çürüklerini durdurma [3,6], kök çürüklerini durdurma [7], pit ve fissür çürüklerini önleme [8], sekonder çürükleri engelleme [9], hipomineralize dişleri yeniden mineralize etme [10], enfekte kök kanallarını dezenfeksiyonu [11] ve dentin hipersensitivitesini tedavi etme [12] gibi uygulamalarda kullanılmaktadır.

GDF tedavisi hem hekim hem de hasta açısından kolay ve kısa bir süreçtir. Hastaların korku ve kaygılarını hafifleten ve tedavi sırasında kooperasyonlarını geliştiren ağrısız uygulamayı hastalar genel olarak olumlu karşılamaktadır. Özellikle küçük çocukları, yaşlı yetişkinleri ve özel ihtiyaçları olan insanları tedavi etmek için yararlıdır. GDF tedavisi non-invazivdir ve aerosol üretmez. Düşük çapraz enfeksiyon riski nedeniyle özellikle COVID-19 pandemisi gibi olağanüstü durumlarda da çürük kontrolü için kullanılabilir.

GDF, çok sayıda üretici tarafından uygun bir maliyetle üretilir. Maliyeti ve uygulama sırasında basit ekipman gereksinimi, sağlık hizmetine ulaşmada zorluk yaşayan insanlara bir sağlık hizmeti olarak GDF tedavisi sunulmasına olanak tanır.

GDF uygulamalarının yaygın bir sonucu, durdurulan çürük lezyonları üzerindeki siyah renklenmedir. Bu dezavantaj, bu uygulamaların hasta ve ebeveyn kabulünü azaltabilmektedir [13-15]. Renklenmeyi azaltmak için GDF uygulamaları sonrası potasyum iyodür (KI) çözeltisi uygulanabilmektedir. KI çözeltisindeki iyodür iyonlarının, kalan serbest gümüş iyonları ile reaksiyona girerek renk değişimini önleyebildiği düşünülmektedir [16]. Çoğu çalışmada olumlu bir etki bildirilmiş olsa da yakın zamanlı bir sistematik incelemeye göre GDF + KI uygulaması için yeterli kanıt mevcut değildir [17]. GDF+KI ile

hayvan dişi ve insan daimi diş dentin dokusu üzerinde yapılan remineralizasyon çalışmaları mevcuttur, fakat süt dişi dentin rğnde GDF ve KI kullanımının remineralizasyon açısından değerlendiren çalışmalar literatürde sınırlıdır [18,19].

Glutasyon (indirgenmiş glutasyon, GSH), hücreleri serbest radikaller, peroksitler ve ağır metaller gibi reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerinden koruyan bir antioksidandır. GSH; gümüş parçacıklarının etrafında bir kaplama oluşturarak parçacıkların agregasyonunu azaltır ve gümüş iyonu salım hızını kontrol edebilir. Bu durumun GDF uygulanan bir dişin renklenmesinin azaltılabileceği düşünülmektedir. GSH ile modifiye edilmiş GDF kullanımı literatürde sınırlı sayıda çalışmada incelenmiş ve bu konuda daha fazla çalışma gereksinimi gözlemlenmiştir [20]. Ayrıca GSH katkılı GDF'nin, GDF ile amaçlanan çürük remineralizasyonuna etkisi bilinmemektedir. Bu nedenlerle GDF renklenmesini nleme ve renklenmeye karşı kullanılan materyallerin remineralizasyon sürecine etkisi üzerine yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı; GDF'ye ilave edilen GSH'ın, GDF renklenmesine ve remineralizasyonuna etkisinin KI ile karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diş Mineral Yapısı ve Bileşenleri

Mine, dentin ve sement; diş sert dokularını oluşturmaktadır. Mine, ameloblast hücreleri tarafından oluşturulan, pulpa-dentin kompleksini koruyan, dişin en dış tabakasıdır [21]. Dentin, pulpa-dentin kompleksinin sert doku kısmıdır ve dişin büyük kısmını meydana getirir [22]. Sement, kök bölgesindeki dentin yüzeyini kaplar ve periodontal liflere bir dayanak oluşturur [23].

2.2. Minenin Yapısı

Daimi diş minesinde; ağırlığın %96'sı inorganik bileşen, geri kalanı organik bileşenlerden ve sudan oluşmaktadır. Süt dişi minesinde ise bu oranlar, %92-93 inorganik, %4 organik matriks ve %3 su şeklindedir. En önemli inorganik bileşen hidroksiapatit [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HA] kristalleridir. Süt dişi minesini, prenatal dönemde meydana gelen iç tabaka, postnatal dönemde meydana gelen dış tabakadan oluşmaktadır. İç tabaka daha homojen bir yapıya sahipken dış tabakanın kalsifikasyonu fazladır ve mine prizmaları daha düzensizdir [21].

Mine; daimi dişlerde yaklaşık 1- 2 mm kalınlığa, süt dişlerinde 0.5-1 mm kalınlığa ulaşır [22]. Süt dişlerinin yüzeyi prizmatik yapılanma içermeyen aprizmatik mineden oluşurken, daimi dişlerde bu tabaka sadece servikal üçlü bölgesinde bulunur. Süt dişlerinde aprizmatik tabaka daimi dişlere göre daha kalındır [24-26].

2.3. Dentinin Yapısı

Dentin, pulpa-dentin kompleksinin sert doku kısmıdır ve dişin büyük kısmını meydana getirir. Dentin; dentini üretmiş olan odontoblastların sitoplazmik uzantılarını içeren dentin tübülleriyle oluşur [22].

Dentin dokusunun yaklaşık %70'i inorganik madde, %20'si organik matriks, %10'u ise sudur. Dentin, mineden daha az mineralize iken, kemik ve sementten ise daha mineralizedir [21,27]. Bu nedenle mineden daha radyolusent, pulpadan ise çok daha yoğun veya

radioopaktır. Dentin hafif elastiktir ve bu, çiğneme etkisinin, üzerini örten kırılgan mineyi kırmadan gerçekleşmesine izin verir. Bu esneklik kısmen, mine dentin sınırından pulpaya kadar uzanan matriks boyunca tübüller yapının bir sonucudur [28].

Daimi diş dentin dokusudan farklı olarak süt dişi dentini; mine dokusu gibi prenatal ve postnatal dönemler olmak üzere iki tabakadan oluşur. Prenatal dentin daha yoğun ve homojen, postnatal dentin ise daha az yoğun ve daha poröz bir yapıya sahiptir [29].

2.3.1. Dentinin inorganik yapısı

En önemli inorganik bileşen HA kristalleridir [30]. Hem peritübüler hem de intertübüler dentinde kalsiyum ve fosfat konsantrasyonları, süt dişlerinde daimi dişlere göre daha düşüktür [31].

Mineden farklı olarak dentinde, mineralizasyon sonrası da fizyolojik element alımı gerçekleşmektedir [32]. Fe (demir), Mg (magnezyum), Zn (çinko) ve Sr (stronsiyum) öncelikli olmak üzere, hidroksiapatit dokusu üzerinde önemli etkiye sahip birçok temel element mevcuttur [33]. Süt dişleri, daimi dişlere kıyasla daha fazla potasyum (K), manganez (Mn) ve Mg içerirken, aynı zamanda daha az miktarda sodyum (Na) fosfor (P) ve Zn içerirler [34].

Daimi diş dentinin mineral konsantrasyonunun daha fazla olması, diş kuvvetlere karşı daha fazla dayanıklılık kazandırmaktadır [35]. Fakat yaşlı süt dişi dentininde mineral yoğunluğu fazla olan sklerotik dentin oluşumu artabilmektedir. Bu sebeple yaşlı süt dişi dentininde hibrit tabaka daha ince oluşabilmektedir [36].

2.3.2. Dentinin organik yapısı

Dentin organik matriksi esas olarak tip I kolajen ve non kolajenöz proteinlerden (NCP) oluşmaktadır. Organik matriksin %90'ı kolajendir [30]. Kolajenin çoğunluğu tip I'dir [37], ancak eser miktarda tip III ve V rapor edilmiştir [38] Tip I kolajen, iki alfa1 (I) zincirinin ve 1 alfa 2 (I) zincirinin (%89) sarmalından meydana gelir, geri kalan %11 ise üç alfa1 (I) zincirinden oluşur. Bu zincirler, sarmal bir bobin yapısına sahip üçlü bir sarmal halinde birleştirilir [39]. Kolajen liflerin yaklaşık %3'ü ise, tip III veya tip V kolajenden oluşur [40].

NCP olarak adlandırılan %10'luk kısmını fosfoproteinler, proteoglikanlar, asidik glikoproteinler, büyüme faktörleri ve lipitler oluşturur [41]. Dentinin organik yapısında bulunan non kolajenöz proteinlerin büyük kısmı SIBLING (Small Integrin Binding Ligand, N-bağılı Glikoprotein) ailesinin üyesidir. SIBLING grubu NCP'ler; dentin sialoprotein (DSP), dentin fosfoprotein (DPP), dentin matriks protein-1 (DMP-1), osteopontin, kemik sialo-protein (BSP) ve matriks ekstraselüler fosfoglikoproteindir (MEPE). DSP, DMP-1 ve DPP dentine özgü proteinlerdir, bu proteinler dentin mineralizasyonu ile yakından ilgilidir [42].

Süt ve daimi dentin benzer bir organik matrikse sahip olmasına rağmen, süt dişi dentin matriksi endojen enzimatik degradasyona daha yatkındır; bu durum klinik olarak çürüğe ve hibrit tabaka degradasyonuna karşı daha yüksek duyarlılığa sebep olur [43,44].

2.3.3. Dentinin histolojik yapısı

Dentin tübülleri

Dentin, diş eksenel olarak kesildiğinde geniş bir S şeklinde mine-dentin birleşiminden pulpaya doğru uzanan tübüllerden oluşan bir yapıya sahiptir. Tübüllerin içinde, pulpaya doğru uzanan "odontoblastik uzantılar" bulunur. Pulpa odası yüzeyi, mine-dentin birleşimine göre daha az yer kapladığından; tübüllerin pulpaya yaklaştıkça birbirine yaklaşması ve tübül çaplarının da pulpaya doğru artması, bu bölgede tübül yoğunluğunun artmasına neden olmaktadır [30,45]. Mine-dentin birleşiminin yakınında oluşan dentin, geniş aralıklı ve yaklaşık 0.8–1.2 μm çapında ve tübüller arasındaki mesafe yaklaşık 10 μm olan tübüllere sahiptir. Bu veriler, 17.000–20.000/mm²'lik bir tübül yoğunluğu verir. Tübül yoğunluğu, pulpanın yakınında mm²'de yaklaşık 40.000'e yükselmektedir. [46].

Hem süt hem daimi dişlerde pulpaya yaklaştıkça tübül çapı artar. Bununla birlikte süt dişlerinde intertübüler matriks içerisinde dentin tübüllerine paralel olarak konumlanmış geniş kanallar olduğu gözlenmiştir [47]. Süt dişi dentininde tübül açılanmaları daimi dişlere göre daha diverjandır. Tübül açılanmaları özellikle furkasyon bölgesinde daha belirgindir. Süt dişlerinde mine-dentin birleşimi, daimi dişlere göre daha kıvrımlıdır ve mine aniden biter [48].

Daimi dişlerde dentinin tübül çapı ve yoğunluğunun, süt dişlerine göre fazla olduğu bildirilmektedir [49]. Yapılan çalışmalarda dentin mikrosertliği ile tübül yoğunluğu arasında ters bir ilişki olduğunu tespit edilmiştir [46]. Bu nedenle, süt dişlerinin kalıcı dişlere göre daha az mineralize olduğu ve dentin tübüllerinin daha düşük bir yoğunluğa sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlar, daha sonraki araştırmalarda da doğrulanmıştır [50,52].

Predentin

Dentinin pulpaya yakın yüzeyinde bulunan ve mineralize olmamış organik matriks alanına ise “predentin” adı verilmektedir. Makromoleküler yapısı tip I ve tip II kollajenden, geri kalan kısmı ise proteoglikanlardan, glikoproteinlerden, glikozaminoglikanlardan, gla proteinlerinden ve dentin fosfoproteininden oluşmaktadır [41,53]. Predentin, süt dişlerinde koronal bölgeden kökün orta üçlüsüne doğru giderek azalmaktadır ve apikal bölgede bulunmamaktadır [54].

Peritübüler ve intertübüler dentin

Tübüllerin etrafındaki dentin daha fazla mineralizedir; yaklaşık olarak tübül çapının kalınlığında olan bu mineralizasyon bölgesine "peritübüler dentin" adı verilir. Bu bölgenin dışında mineral içeriği daha düşüktür; bu bölgeler “intertübüler dentin”i içerir [55].

Tip I kolajen, intertübüler dentinin ana proteindir (%90), oysa peritübüler dentinde kollajen fibrilleri gözlenmez [37]. Bu iki farklı dentin yapısının kolajen olmayan proteinlerinin bileşiminde de farklılıklar bildirilmiştir [56-58].

İnterglobüler dentin

İnterglobüler dentin, mineralize olmayan veya hipomineralize dentin alanlarını tanımlamak için kullanılan terimdir. En çok manto dentininin hemen altında bulunan çevresel (sirkumpulpal) dentinde bulunur. Dentin tübüleri interglobüler dentinden geçer, ancak bu alanlarda peritübüler dentin yoktur [22].

İnkremental çizgiler

Dentin aşamalı olarak üretilir, her gün belirli bir miktarda matriks birikimi olur ve ardından birikimi bir duraksama takip eder. Bu durum inkremental veya von Ebner çizgileri olarak bilinen değişikliklerle sonuçlanır. Muhtemelen her 5 günde bir artışlarla oluşan ve 20 mm'lik hatlarla meydana gelen çizgiler, von Ebner'in tarif ettiği çizgiler olduğu düşünülmektedir. Bu çizgilerin, süt dişlerinde ve daimi birinci azı dişlerinde hipokalsifiye bantları temsil ettiği gösterilmiştir. Doğum öncesi dentin ve doğum sonrası dentin, yenidoğan çizgisi olarak bilinen vurgulu bir kontur çizgisiyle ayrılmaktadır. Bu çizgi, doğumda veya doğuma yakın dönemde meydana gelen hormonal ve beslenme değişiklikleri de dahil olmak üzere çevresel etkiyi yansıtmaktadır [28].

2.3.4. Dentin tipleri

Dentin gelişimine ve histolojik yapısına göre primer, sekonder ve tersiyer dentin olarak sınıflandırılır.

Primer dentin

Diş gelişiminin başlangıcından tamamlanmasına kadar geçen sürede oluşan dentin “primer dentin” olarak adlandırılır. Primer dentin oldukça düzenli bir tübüler yapıya sahiptir. İlk oluşan primer dentin manto dentindir. Mine ya da sementin hemen altında, primer dentin tabakasının en üstünde yer alır. Kalınlığı yaklaşık 150 µm'dir ve daha az mineralize olduğundan daha yumuşak bir yapıdadır [30,45].

Çevresel (sirkumpulpal) dentin, manto dentinin altında kalan primer dentindir. Kök tamamlanmadan önce oluşur Çevresel (sirkumpulpal) dentin, dentin tabakasının büyük bölümünü oluşturur. Dentinogenezisin ilk aşamalarında incedir, kalınlığı sürekli olarak artar [48].

Çevresel dentinin büyük kısmı intertübüler dentin tarafından oluşturulurken, peritübüler dentin tübüllerin lümeni çevresinde bulunur. Manto dentini ile karşılaştırıldığında, çevresel dentin biraz daha mineralizedir, daha küçük ve sıkı bir şekilde paketlenmiş kollajen liflerine sahiptir [48].

Sekonder dentin

Sekonder dentin, kök tamamlandıktan sonra oluşan dentindir. Dişin gelişimi tamamlanıp dişin fonksiyona başlamasından sonra, yaşam boyu oluşumu devam eder [45]. Sekonder dentinin yapısı, primer dentine göre daha az tübül içerir ve daha az düzenlidir. Sekonder dentin oluşumu ile, zaman içerisinde pulpa odası daralır.

Primer ve sekonder dentinin birleştiği yerde genellikle tübüllerde bir bükülme vardır [48]. Sekonder dentinde minerallerin organik matrikse oranı primer dentin ile aynıdır. Aralarındaki en büyük fark, geri çekilmekte olan pulpanın çevresindeki odontoblastların kademeli olarak daralmasına bağlı, tübüllerde gözlemlenen ‘‘S’’ şeklindeki kıvrımların daha belirgin hale gelmesinden kaynaklanan morfolojik farklılıktır [37]. Özellikle molar dişlerde pulpa odasının periferinde sekonder dentin eşit şekilde birikmez. Pulpa odasının tabanına ve tavanına sekonder dentinin daha fazla birikmesi, pulpa odasının boyut ve şeklinde asimetrik bir azalmaya neden olur.

Tersiyer dentin

Tersiyer dentin (reaktif dentin, reparatif dentin) atrizyon, çürük veya restoratif bir dental prosedür gibi çeşitli uyaranlara tepki olarak üretilir. Tüm pulpa-dentin sınırı boyunca oluşan primer veya sekonder dentinden farklı olarak, tersiyer dentin yalnızca uyarıdan doğrudan etkilenen hücreler tarafından üretilir. Üretilen tersiyer dentinin kalitesi, şekli ve miktarı, uyaranın yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak başlatılan hücresel tepki ile ilişkilidir. Tersiyer dentin, sekonder dentin benzeri tübüllere sahip olabilir, tübüller sayıca seyrek ve düzensiz bir şekilde düzenlenebilir veya tübül içermeyebilir. Tersiyer dentin, önceden var olan odontoblastlar tarafından oluşturulduğunda reaksiyoner dentin olarak adlandırılırken, farklılaşmış odontoblast benzeri hücreler tarafından oluşturulan dentin ise ‘‘reparatif dentin’’ olarak sınıflandırılır [22].

Sklerotik dentin

Sklerotik dentin, yavaş ilerleyen çürük, atrizyon veya erozyon gibi dış uyaranlara yanıt olarak dentin tübüllerinin kalsifiye materyalle dolmasını ifade eder. Bu, dentinin geçirgenliğini azalttığı ve pulpayı uzun süre canlı tuttuğu için bir savunma tepkisi olarak

kabul edilir. Bu oluşumunun ilk evresi dentin çürüğünün ilk evresi gibi görünmektedir [59]. Biriken mineral, peritübüler dentinden farklıdır. Mineral konsantrasyonu daha yüksek olmasına rağmen, sklerotik dentindeki kristallerin boyutu normal dentinden daha küçüktür. Sklerotik dentin daha serttir ve daha düşük kırılma tokluğuna sahiptir ancak normal dentin ile aynı elastik özelliklere sahiptir [48].

2.4. Çürük

Diş çürüğü; diş sert dokularının, diyet ile alınan karbonhidratların bakteriyel fermentasyonundan kaynaklanan organik asitler (asetik, laktik ve propiyonik asitler vs.) tarafından lokalize yıkımıdır [60]. Asidik yan ürünler, ilk olarak mine veya sementte yıkımları gerçekleştirir. Yıkım dentine ulaştığında, mineye kıyasla çok daha hızlı ilerler ve mineral içeriği, mekanik özellikleri ve optik görünüm farklılıklarını yansıtan farklı bölgeler oluşturur [61-63]. Bakteriler ve yıkıcı enzimler, dentin tübülleri yoluyla da daha derin tabakalara hızlı nüfuz edebilirler. Dentin ve tükürük kaynaklı matriks metalloproteinazlar ile bakteriyel proteolitik enzimler, dentinin organik yapısının yıkımında etkilidir [64].

Diş çürüğü, farklı dokularda süreç olarak farklılık gösterir. Mine, diş germindeki ektodermal dokudan meydana gelirken, dentin ve pulpa kompleksi mezenkimal dokudan gelişmiştir. Mine avasküler ve hücrelidir. Bu sebeple dış uyaranlara karşı savunma yanıtı vermezken; dentin ve odontoblastlar, spesifik savunma tepkilerine sahip vital bir doku olarak kabul edilir. Mine mikro gözenekli bir yapıdır; bu nedenle ağız boşluğundan gelen uyaranlar, sağlam minede bile komşu dentin dokusunu etkileyebilmektedir. Mine demineralizasyonunun bir sonucu olarak artan porozite ile alttaki dentin ve pulpa dokularının reaksiyonu gözlenebilmektedir [60].

2.4.1. Demineralizasyon

Demineralizasyon; mine, dentin, sement ve kemik gibi sert dokuların HA kristallerinden mineral iyonlarının uzaklaştırılmasıdır. Fermente olabilen herhangi bir karbonhidrat, asidojenik bakteriler tarafından metabolize edilebilir ve yan ürünler olarak organik asitler oluşturabilir [65]. Asitler hidrojen iyonları üretmek üzere ayrışır [66,67]. Hidrojen iyonları, minerali kolayca çözerek kalsiyum ve fosfatı serbest hale getirir. pH düştükçe, asitler alt tabakalardaki mine ve dentine difüze olur [68].

Hidroksiapatit kristallerinin bütünlüğü bozulmadan önemli miktarda mineral kaybı olabilir. Böyle bir durumda sıcak, soğuk, basınç ve ağrıya karşı yüksek hassasiyet beklenir. Bununla birlikte, bu kristallerin kafes yapısının bütünlüğünün bozulması kaviteasyonun bir sebebidir [69]. İnorganik yapının demineralizasyonuna eşlik eden organik yapının denatürasyonu kaviteasyon ile sonuçlanır [70].

Dentinde demineralizasyon

Dentin çürüğü, dışta bakteriyel enfekte bir tabakayı ve altında "etkilenmiş dentin" olarak adlandırılan demineralize bölgeyi içerir [71]. Çürük, mine-dentin birleşimine ulaştığında; dentindeki demineralizasyonun ilk belirtisi kahverengi renklenmedir. Bu renklenme, kolajenden oluşan dentin kolajenindeki biyokimyasal değişikliğinin bir sonucudur [60]. Hidroksiapatitin çözünmesini takiben dentinin organik kısmı, yani kollajen fibriller, enzimatik olarak bozunur. Bakteriyel kolajenazlar ve MMP'ler gibi konaktan türetilen proteolitik enzimler, dentin organik matriksin yıkımından sorumludur [70].

2.4.2. Remineralizasyon

Dentin; enfekte tabakanın ağız ortamından uzaklaştırılması durumunda, çürükten etkilenen alanları remineralize edebilmesi açısından dinamiktir [72,73]. Demineralizasyon aşaması; tükürük kalsiyum ve fosfat, tükürük proteinleri, antibakteriyel maddeler ve florür gibi birçok faktör tarafından inhibe edilebilir, hatta tersine çevrilebilir. Ağız içi pH yükseldiğinde; tükürük veya dış kaynaklardan alınan kalsiyum, fosfat ve florür iyonlarının demineralize dokudaki artık kristalitler üzerine birikebilir [74,75]. Mineral iyonlarının tekrar hidroksiapatit kristallerine geri kazandırılmasına "remineralizasyon" denir. Mevcut çalışmalarda, çürüğün remineralizasyonunun mümkün olduğu gösterilmiştir [72,73,76-78]. Remineralize kristaller, pH düşüşlerine karşı çok daha dirençlidir. Florür remineralizasyonu hızlandırır ve yeni oluşan mineral asit saldırılarına karşı çok daha dayanıklıdır [79].

Dentinde remineralizasyon

Dentin, mineralize dokunun matriksinin hacim olarak yaklaşık %50 oranında protein içermesi ve kollajen fibrillerinden oluşması nedeniyle, bileşim açısından mineye kıyasla daha kompleks bir materyaldir. Dentinin ve kemiğin ağırlık taşıma özellikleri büyük ölçüde

intrafibriller mineralizasyondan kaynaklanır [80]. Demineralize dentinin remineralizasyonundan; intrafibriller hidroksiapatit oluşturulması, açık dentin tübüllerinin tıkanması ve mikro yapının yeniden organize edilmesi beklenmektedir [81]. Bu sebeplerden dolayı dentin remineralizasyonu, in vivo veya in vitro ortamda mine remineralizasyonundan daha zordur [82]. Sağlam minenin karbonat içeriği yaklaşık %3 iken dentinde bu oran %5-6'dır. Bu nedenle dentindeki inorganik yapı, asitte daha fazla çözünür. Dentindeki kristaller minedekinden daha küçüktür; sonuç olarak dentinde çözünme süreci mineye kıyasla daha kısa sürelerle ihtiyaç duyar.

Dentin remineralizasyonunda organik matriks

Tip 1 kolajen dentin remineralizasyonunu belirgin derecede uyarmazken [72,83], dentin matrisinin kolajen olmayan bileşenleri (SIBLING'ler, osteokalsin, proteoglikanlar), dentin remineralizasyonu sırasında doğrudan kristal oluşumu ve kristal büyümesi ile etkileşime girebilir [84,85]. Dentinin kolajen lifleri boyunca dizilmiş NCP'ler, mineralizasyon sürecinde ve fiziksel özelliklerde rol oynar [86]. Özellikle DPP ve DMP-1, kalsiyum ve kolajen fibrillere yüksek afinite gösterirler [42]. Odontoblastlar, mineralizasyonun başlaması için bir ön koşul olan kondroitin sülfat gibi bir asit mukopolisakkarit salgılar. Bu mukopolisakkarit, dentin matrisinde mineralizasyon bölgesine taşınır; kalsiyumu çeker ve minerallerin hücrelerden ekstraselüler matrikse taşınmasında görev alır [87]. Kolajen fibriller arasında kristal oluşumu başlar ve dışa doğru genişleyerek anizotropik ve uzun hidroksiapatit (HA) kristalleri oluşur [88].

2.5. Gümüş Diamin Florür (GDF)

2.5.1. Gümüş (Ag) ve gümüş bileşikleri

Gümüşün (Ag) insanlık tarihinde kullanımı uzun bir uygulama geçmişine sahiptir. Günümüzden yaklaşık bin yıl önce; Japon kadınları arasında 'ohaguro' denen, dişlerin siyaha boyandığı bir gelenek mevcut idi. Bu geleneğin, estetik amaçlı yaygın olmasına rağmen diş çürüklerini de önlediği görülmüştür. Yapılan arkeolojik çalışmalarda, Japon halkı arasında erkeklerde çürük ve diş kaybı prevalansı kadınlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, boyamanın içeriğindeki bazı metallerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir [89].

Gümüşün ilk tıbbi kullanımı su dezenfeksiyonu ve depolanması olduğu düşünülmektedir. M.Ö. 1000 yılında ise, gümüş kaplarda tutularak ışığa maruz kalan suyun içilebilir hale geldiği keşfedilmiştir. Yunanlar ve Romalılar suyu taze tutmak için gümüş kaplarda depolamışlardır [90,91]. 1869'da Ravelin, gümüş ve diğer metal türevlerinin antimikrobiyal etkilerinin görülebileceği en düşük konsantrasyonları bildiren ilk araştırmacıdır [92]. 1880'lerin başında, Alman tıp doktoru Karl Credé, seyreltik gümüş nitrat çözeltilerinin yenidoğan göz enfeksiyonları insidansını %10,8'den %2'nin altına düşürdüğünü bulmuştur [93]. Yanıklarda kullanılan gümüş nitratin da on dokuzuncu yüzyılda kullanım sıklığı artmıştır [94].

Diş hekimliğinde gümüş bileşikleri, 1840'larda süt dişlerinde yeni çürük oluşumunu önlemek amacıyla gümüş nitratin (AgNO_3) kullanılmasıyla literatüre girmiştir [95]. Diş hekimliğinde saf gümüş, ağız ortamındaki nemden dolayı oksitlenerek "gümüş sülfür" oluşturduğu için kullanılmamaktadır [96]. 1893'te Von Naegeli, gümüş nitratin (AgNO_3) yüksek etkili bir antimikrobiyal ajan olduğunu göstermiştir [97]. Diş hekimliğinde bilimsel yöntemlerle AgNO_3 incelenmesi, dentin tübüllerine ne kadar nüfuz ettiği üzerine yapılan bir çalışma ile gerçekleşmiştir [98]. 1917'de Howe, çürük lezyonlarına doğrudan AgNO_3 uygulamıştır ve buna Howe'un çözeltisi adını vermiştir [98]. Diğer gümüş bileşiği olan gümüş florür (AgF) ise, 1960'ların sonunda diş hekimliğinde kullanılmaya başlanmıştır [99]. 1969'da Nishino, AgF 'nin diş çürüğünün yayılımını durdurduğunu ileri sürmüştür [100]. AgF , gümüş iyonları ve florür iyonları içeren renksiz sulu, oldukça alkali ($\text{pH} = 11$) bir çözeltilidir. Aynı zamanda AgF , indirgeyici ajan olarak kalay florür (SnF_2) kullanılan, iki aşamalı bir uygulama prosedürü gerektirmektedir [97]. 60.000 ppm florür içeren %40'luk AgF formu, Avustralya'da çocuklarda diş çürüğünü durdurmak amacıyla uzun zamandır kullanılmaktadır [101].

Gümüş diamin florür (GDF), 1960'larda Japonya'daki Osaka Üniversitesi'nde, Profesör Reiichi Yamaga, Misuho Nishino ve meslektaşları tarafından geliştirilmiştir. İlk olarak çocuklardaki diş çürüklerini durdurma etkisiyle tanıtılmıştır [102]. 1969 yılında Japonya'da, çocukların süt dişlerindeki çürük lezyonları durdurmak için kullanılmıştır [103]. Japonya, 1960'larda GDF'nin terapötik ajan olarak kullanılmasını onaylayan ilk ülke olmuştur [104]. Uzun yıllardır Japonya, Arjantin, Avustralya, Brezilya ve Çin gibi ülkelerdeki diş hekimleri GDF'yi çürük önleyici ve durdurucu ajan olarak kullanmışlardır [105]. Brezilya'da GDF,

orta veya yüksek derecede diş çürüğü aktivitesi olan 0-3 yaş çocuklar için uzun bir süredir desteklenmektedir [106].

%38'lik GDF, dentin hipersensitivitesini önleme endikasyonu ile, 2014 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Dentin hassasiyeti endikasyonu ile FDA tarafından klinik kullanım için onaylandıktan sonra GDF, 2015 yılında ABD pazarına girmiştir [107]. 2016'da FDA, şiddetli erken çocukluk çağı çürüklerini tedavi etmek eden bir ilaç olarak GDF'nin onaylanması başvurusunu kabul etmiştir ve GDF'ye “‘çığır açan tedavi (breakthrough therapy)’” statüsü vermiştir. Bu statü, tedavisi olmayan yaşamı tehdit eden bir hastalık için ilgili yeni ilaç başvurusunu değerlendirme ve yardımcı olma taahhüdüdür. Bu gelişmeler GDF'nin diş çürüklerini tedavi eden ilk FDA ilacı olacağını düşündürmektedir [108]. 2016 yılında California Üniversitesi'nde (San Francisco, ABD) oluşturulan bir komite tarafından GDF'nin diş çürüklerini durdurma amacıyla kullanılması için bir protokol yayınlanmıştır [107]. GDF, çürük önleme endikasyonu ile 2017'de Kanada'da onaylanmıştır. 2018'de Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi (AAPD) de GDF'nin çürük tedavisinde kullanımı destekleyen bir kılavuz kabul etmiştir. Amerikan Diş Hekimleri Birliği Erişim ve Önlemenin Geliştirilmesi Konseyi, GDF'nin çürükler için kullanılmasını destekleyen bir bildiri yayınlamıştır [108]. 2020'de Amerikan Diş Hekimleri Birliği, çürük yönetimi için GDF kullanımını desteklemiştir [3]. İngiltere'de GDF, dentin hipersensitivitesinde ve kavite dezenfeksiyonunda kullanım endikasyonuna sahiptir. Bu durum, hekim tarafından mevcut kanıtlar temelinde hastanın yararına olduğuna karar verildiğinde “‘endikasyon dışı’” olarak kullanılabileceği şeklinde yorumlanmıştır [16].

2021'de DSÖ, GDF'yi hem yetişkinler hem de çocuklar için DSÖ Temel İlaçlar Model Listesine dahil etmiştir. DSÖ, GDF'nin herkesin her zaman erişebilmesi gereken bir ilaç olduğunu ve hükümetlerin GDF'nin kendi halkları için erişilebilir ve karşılanabilir olmasını sağlaması gerektiğini belirtmektedir [2]. Fakat GDF, henüz tüm ülkelerde mevcut değildir.

2.5.2. Gümüş diamin florürün içeriği ve mevcut konsantrasyonları

GDF; renksiz, alkali bir topikal ajandır [97]. Kimyasal olarak, diamin gümüş iyonu kompleksi $[Ag(NH_3)_2^+]$ ve florür iyonu (F^-) içerir [109]. Amonyak iyonları gümüş iyonları ile birleşerek diamin-gümüş iyonu adı verilen kompleks bir iyon üretir ve bu kompleks

gümüş florürden (AgF) kararlıdır [110]. Çünkü metal amin kompleksleri aköz komplekslerden daha kararlıdır. Aynı zamanda bu kompleks diamin gümüş florür olarak da adlandırılır [111].

GDF, AgF'ye göre çeşitli avantajlara sahiptir. GDF, AgF kadar alkali olmadığından indirgeyici madde gerektirmez [97]. Mine tabakasında az çözünen CaF_2 oluşturur. Aynı zamanda AgNO_3 gibi nitrat grubu içermediği için yakıcı değildir [112].

Günümüzde ABD ve Avrupa piyasasında %38'lik GDF ürünleri mevcut iken, özellikle Brezilya'da %12 ve %30'luk daha düşük konsantrasyonlarda GDF ürünleri pazarlanmaktadır [113] (Çizelge 2.1.). Hem %12'lik hem de % 38'lik GDF ürünleri, belirgin antibakteriyel potansiyele sahiptir [114]. İki randomize kontrollü çalışmada, GDF konsantrasyonunun ve uygulama sıklığının çürük kontrolü üzerindeki etkisi incelenmiştir [115,116]. Sonuç olarak %38'lik GDF'nin %12'lik GDF'den daha etkili olduğu bulunmuştur. Başka bir çalışmada araştırmacılar; %38'lik GDF konsantrasyonunun, kolajenaz aktivitesinin inhibe edilmesinde ve kolajen bozulmasının önlenmesinde düşük konsantrasyonlara göre daha etkili olduğunu bulmuşlardır [117].

Çizelge 2.1. Piyasada mevcut bazı GDF ürünleri.

Ürün	Oran	Üretici	Ülke
Advantage Arrest	%38	Elevate Oral Care	Amerika Birleşik Devletleri
Cariestop	%30 ve %12	Biodinamica	Brezilya
Dengen Caries Arrest	%38	Dengen Dental	Hindistan
Fagamin	%38	Tedequim	Arjantin
e-SDF	%38	Kidsedental	Hindistan
Saforide	%38	Toyo Seiyaku Kasei	Japonya
Cariclear	%38	Ammdent	Hindistan
Riva Star	%38	SDI Dental	Avusturalya
Ancarie	%12 ve %30	Maquira	Brezilya
Cariostasul	%12 ve %30	Iodontosul	Brezilya
Fluoroplat	%38	NAF Laboratories	Arjantin
Topamine	%38	DentaLife	Avusturalya
Bioride	%30	Dentsply	Brezilya
Cariostatic	%10	Iodon Laboratory	Brezilya

%38'lik GDF solüsyonu yüksek konsantrasyonlarda gümüş (yaklaşık 253.900 ppm) ve florür (yaklaşık 44.800 ppm) içerir ve pH değeri 10 ile 12 arasındadır. %38'lik bir GDF çözeltisi, %8'lik bir amonyak çözeltisinde çözülmüş %25'lik gümüş iyonları ve %5'lik florür iyonlarından oluşur [118]. Ancak çalışmalarda, farklı GDF ürünlerinde gümüş ve florür iyon konsantrasyonunda farklılıklar bulunmuştur [119,120]. Bunun nedeni olarak, %38'lik bir GDF çözeltisinin, toplamda %38'e ulaşan herhangi bir gümüş, florür ve amonyak kombinasyonu olabilmesidir. Gümüş, florür ve amonyak konsantrasyonları ortalama bir aralıkta olabileceği için, GDF tam olarak %38 olmayabileceği belirtilmiştir [121]. GDF; diğer gümüş bileşiklerine benzer şekilde ışık altında kararsızdır ve gümüş iyonlarına ayrışır. Bu nedenle, GDF ışık geçirmez bir şişede saklanmalıdır. Klinik pratikte şişeden çıktıktan sonra en kısa sürede kullanılmalıdır [118].

2.5.3. Gümüş diamin florürün etki mekanizması

Gümüş diamin florürün etki mekanizması; mikroorganizmalar üzerindeki etkisi ve diş dokuları üzerindeki etkisi olarak iki grupta sınıflandırılabilir.

Gümüş diamin florürün mikroorganizmalar üzerine etkisi

GDF; karyojenik biyofilmlerin oluşumunu ve büyümesini inhibe edebilir [122,123] ve *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) adezyonunu engelleyebilir. GDF' nin *S. mutans* için minimum inhibe edici konsantrasyonu ve minimum bakterisidal konsantrasyonu, gümüş amonyum nitrat ve sodyum florürden daha düşüktür; bu, GDF'nin bakteriyel büyümeyi inhibe etmede gümüş amonyum nitrat ve sodyum florüre kıyasla daha etkili olduğunu gösterir [124].

GDF, *Actinomyces naeslundii* (*A. naeslundii*) ve *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) suşlarına karşı da güçlü antimikrobiyal etkiye sahiptir [124,125].

GDF, mine ve dentine derinlemesine nüfuz eder [126,127]. GDF'nin dentin içindeki nüfuzu yaklaşık 1200 mikrometredir. Bu etkileşim hem gümüş hem florür bileşenleri ile gerçekleşmektedir [127].

Gümüş iyonları

Gümüş iyonları, biyofilm oluşumunu engelleyen bakterisidal metal katyonlarıdır [128]. Gümüşün çeşitli antibakteriyel mekanizmaları nedeniyle bakterilerin direnç geliştirmeleri zordur [129]. Bu mekanizmalar; bakteri hücre duvarı yapılarına nüfuz, enzimatik aktivite inhibisyonu ve bakteriyel DNA replikasyonu inhibisyonudur. Bu süreçler bakteri ölümünü sağlarken, biyofilm oluşumunu engellemektedir [130].

Bazı araştırmacılar, karyojenik bakterilerin çoğunu yok etmek için 10-40 ppm gümüş iyonunun yeterli olduğu belirtmişlerdir [131]. Bir çalışmada, gümüş iyonlarının *S. mutans* için anında öldürücü olduğu bulunmuştur [132]. Gümüş ile etkisiz hale getirilen bakteriler, bazı araştırmacılarca “zombiler” olarak adlandırılmıştır. Bu ölü bakterilerin, canlı bakteriler için öldürücü “gümüş iyonu rezervuarı” olduğu belirtilmiştir [133].

Florür iyonları

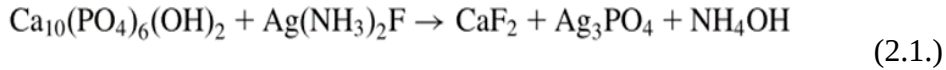
Yüksek konsantrasyondaki florür, asidojenik bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkilere sahiptir. Florür iyonları, karbonhidrat alımını engellemek için bakteriyel enzimlerin doğrudan inhibisyonu yoluyla enzimlere bağlanır. Ayrıca florür iyonları, hücre zarlarının proton geçirgenliğini artırarak bir antibakteriyel etki üretir [134,135].

Gümüş diamin florürün diş dokuları üzerine etkisi

Remineralizasyon

%38’lik GDF ($\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$), 44.800 ppm florür içermektedir. Bu konsantrasyon, dental kullanım için mevcut florür ajanları arasında en yüksek olanıdır. GDF ile hidroksiapatit kristalleri ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) arasında meydana gelen kimyasal reaksiyon, pH’ın yükselmesine ve florür rezervuarlarının oluşumuna yardımcı olan gümüş fosfat (Ag_3PO_4) ve kalsiyum florür (CaF_2) meydana getirir [136,137].

GDF ile diş sert dokuları arasındaki kimyasal etkileşim Eş. 2.1.’de görülmektedir [9,138].



Diş yüzeyindeki CaF_2 , yüzeye gevşek bir şekilde bağlanır. Araştırmacıların ağız boşluğundaki bu gevşek bağlı CaF_2 hakkında farklı görüşleri olsa da birçoğu kararsız CaF_2 'nin bir depo görevi gördüğünü ve florür iyonlarını asidik bir ortamda düzenli bir şekilde florohidroksiapatit (FHA) oluşturmak için salındığını kabul etmektedir [139]. Böylece hidroksiapatite göre aside dirençli FHA yüzeyi, diş yüzeyini asit saldırısına karşı koruyabilir [140]. Böylece hem FHA hem de CaF_2 , GDF'nin remineralizasyon ve çürük lezyonlarına karşı korumada önemli bir rol oynar.

GDF ile hidroksiapatit arasındaki reaksiyonun, hidroksiapatit kristallerine bağlı nanoskopik metalik gümüş parçacıklarının oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir [136]. Gümüş parçacıklarının hidroksiapatite dahil edilmesi, daha önce belirtilen gümüşün antibakteriyel ve antikaryojenik özellikleri nedeniyle önemlidir, böylece durdurulan lezyon üzerinde sekonder çürük gelişimi engellenebilir [16].

GDF, mine lezyonlarında remineralizasyonu teşvik eder, lezyon derinliğini azaltır ve yeni lezyonların gelişimini engeller [141].

GDF'nin dentin çürükleri üzerinde remineralizasyon etkisi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [136]. %38 oranındaki GDF, dentin çürüklerini durdurmada etkilidir [113,116]. GDF, lezyon derinliğini ve mineral kaybını azaltarak dentin mikrosertliği artırır, böylece mevcut çürük lezyonların remineralizasyonunu teşvik eder ve yeni lezyonların gelişimini engeller [142,143].

GDF uygulamasından sonra ilk oluşan mineral çökeltileri kalsiyum fosfatlar ve gümüş tuzlarıdır [144]. Kalsiyum fosfatlar, kalsiyum, florür ve fosfor içeren iğne şeklindeki çökeltiler olabilir. Gümüş tuzları, gümüş ve klorür içeren kristaller olabilir [130]. Bir çalışmada, çökelen parçacıkların köşeli ve daha büyük olduğu görülmüştür, bu durum ikinci bir kristalleşmenin varlığını akla getirmektedir [145].

Tersiyer dentin oluşumu

GDF, tersiyer dentin oluşumunu destekler [146]. Yapılan çalışmalarda, indirekt GDF uygulamalarıyla tersiyer dentin oluşumu gözlenmiştir [147-159]. Ancak oluşan dentinin kalınlığından ve kalitesinden çalışmalarda bahsedilmemiştir. GDF ile hafif ve orta derece pulpal irritasyon sağlanarak tersiyer dentin oluşumu uyarılır [150]. Tersiyer dentin oluşum hızı, pulpada meydana gelen travmanın şiddeti ile doğrudan ilişkilidir [151]. Travmaya mikroorganizmalar ve yan ürünleri, restoratif prosedürler veya kullanılan restoratif materyaller neden olabilir [146].

Kolajen degradasyonunun inhibisyonu

Mine çürükleri ile dentin çürüklerinin oluşum süreci aynı değildir. Daimi diş minesinde; ağırlığın %96'sı inorganik bileşen, geri kalanı organik bileşenlerden ve sudan oluşmaktadır. Süt dişi minesinde ise bu oranlar, %92-93 inorganik, %4 organik matriks ve %3 su şeklindedir. Dentin dokusunun yaklaşık %70'i inorganik madde, %20'si organik matriks, %10'u ise sudur. En önemli inorganik bileşen hidroksiapatit kristalleridir [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] [21]. Organik matriksin %90'ı ise kolajendir (tip I kolajen) [30]. Dentindeki kollajen fibrilleri, mineral kısım için bir yapı iskelesi görevi görür [152].

Aktif bir çürük lezyonundaki asidik ortamda, dentin kolajenini yok eden kolajenazlar aktive olur. GDF, matriks metaloproteinazlar (MMP'ler) ve sistein katepsinler gibi kollajenazlar üzerinde inhibe edici bir etkiye sahiptir [117,153]. MMP'ler, dentin matrisinde ve tükürükte bulunan endopeptidazlardır. MMP'ler, özellikle MMP-2 (jelatinaz A), MMP-8 (nötrofil kolajenazlar) ve MMP-9 (jelatinaz B), çürük lezyonlarında kolajen parçalanmasında çok önemli bir rol oynar [117]. Sistein katepsinler (katepsin B ve K) dentin çürüğü lezyonlarında ve pulpada bulunan proteolitik enzimlerdir. MMP'lerin ve sistein katepsinlerin aktivasyonu, dentin çürük lezyonlarında kolajen yıkımına katkıda bulunur. Kolajenazların inaktivasyonu ve kolajen degradasyonunun önlenmesi, GDF kullanılarak çürük lezyonların durdurulmasına katkıda bulunur [137,139].

2.5.4. Gümüş diamin florürün klinik uygulamaları

Klinik olarak GDF; diş çürüklerini ve hipomineralize dişleri remineralize etmek, dentin hipersensivitesini azaltmak, kök kanallarını dezenfekte etmek, dental erozyonu yönetmek ve gingivitis tedavisi amacıyla kullanılabilir [118].

Çürük yönetiminde GDF uygulamaları

Yakın zamana kadar diş çürükleri, çürük dokunun tamamen çıkarılması ve eksik diş dokusunun bir restorasyon materyali ile tamamlanması anlamına gelen geleneksel ‘‘drill and fill’’ yani "oy ve koy" felsefesiyle yönetiliyordu. Tedavi prosedürünün standart bir parçası olarak tüm çürük dokuların çıkarıldığı radikal yaklaşım, artık savunulmamaktadır [154]. Ayrıca daha az sağlam doku tahribatının, uzun vadede daha başarılı olduğu görülmektedir [155,156]. GDF ile çürük yönetimi; bakteriyel enfeksiyonu kontrol ederek ve dişleri remineralize ederek gerçekleşen ve restoratif olmayan çürük tedavisidir. Uluslararası Pediatrik Diş Hekimliği Derneği (IAPD), Amerikan Dişhekimliği Birliği (ADA) ve Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi (AAPD); çocukların süt dişlerindeki aktif kaviteli lezyonları durdurmak için %38 GDF kullanılabileceği görüşündedir [3-5]. Bir meta analize göre; GDF'nin, süt dişlerindeki dentin çürüklerini durdurma oranını %81 olarak bildirilmiştir [157]. Sistematik bir derlemede; %30 ve %38'lik konsantrasyonlardaki GDF'nin, cam iyonomer siman (CİS), diş fırçalama, interim terapötik restorasyonlar ve florür vernik gibi uygulamalara göre süt dişlenme döneminde diş çürüklerini durdurmada daha etkili olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, %30 ve %38'lik GDF konsantrasyonlarının, süt dişlerinde ve daimi birinci azı dişlerinde çürük önleyici potansiyel gösterdiği belirtilmiştir [158].

30 aylık takipli randomize klinik bir çalışmada, okul öncesi çocuklarda üst anterior süt dişlerinin dentin çürük lezyonlarını durdurmada %38 GDF solüsyonunun %5 NaF (sodyum florür) verniğinden daha etkili olduğu belirtilmiştir [159]. Okul öncesi çocuklarda aktif ve kaviteli dentin çürüğü durdurma üzerine yapılan 30 aylık klinik bir çalışmada; yıllık GDF uygulaması, 3 haftalık NaF verniği veya 3 haftalık GDF uygulamalarından daha etkili olduğu tespit edilmiştir [160].

36 aylık randomize kontrollü bir çalışma, GDF'nin yılda iki kez uygulanmasının sadece süt

dişlerinde ve birinci büyük azı dişlerinde aktif çürükleri durdurmakla kalmayıp aynı zamanda yeni çürüklerin gelişimini de önleyebileceği bildirilmiştir; süt dişlerinde koruyuculuk oranı %79,7, birinci büyük azılarda %65,0 bulunmuştur [161].

GDF kök çürüklerinde de kullanılmaktadır. Mevcut kanıtlar, GDF tedavisinin kök çürüklerini durdurmak için etkili bir ajan olduğunu göstermektedir [162,163].

Hipomineralize dişlerde GDF uygulamaları

GDF, hipomineralize dişlerin yönetimi için basit, ağrısız ve invaziv olmayan bir tedavidir. GDF uygulaması, hipomineralize dişlerde hipersensitiviteyi azaltır ve diş üzerindeki çürük lezyonları hızla durdurur. Klinik bir çalışmada, yılda iki kez GDF uygulamasının, hipomineralize azı dişlerinde çürük gelişimini önlediğini ve dentin hassasiyetini azalttığını bulunmuştur. Çalışmada; hipomineralize dişlerde tekrarlanan GDF uygulamalarının, dentin hassasiyetinde derin ve uzun süreli bir rahatlama sağladığı sonucuna varılmıştır [164].

Dentin hassasiyetinde GDF uygulamaları

GDF ile yapımı teşvik edilen florohidroksiapatit (FHA), dentin tübüllerini bloke ederek dentin hipersensitivitesinin giderilmesine yardımcı olur [123]. Ayrıca gümüş iyonları, dentin yüzeyinde ve dentin tübüllerinde gümüş tuzları olarak çökelmektedir [165]. Çalışmalarda, gümüş birikintilerinin dentin tübüllerinin derinliklerine nüfuz edebildiği bulunmuştur [145,147,148].

2014 yılında, Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), GDF'yi diş hassasiyetini azaltmada kullanılmak üzere onaylamıştır [107]. İki randomize kontrollü çalışmada, GDF'nin dental hassasiyeti azaltma potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur [166,167]. Çalışmaların birinde; GDF'nin, uygulamadan hem 24 saat hem de 7 gün sonra yetişkin hastalar arasında hassasiyeti önemli ölçüde azaltabileceği bulunmuştur [166]. Diğer çalışmada; GDF'nin, dentin tübüllerini tıkayabilen kalsiyum florür ve gümüş iyodür oluşumunu uyaracağı belirtilmiştir [167].

GDF, restoratif tedavilerde lokal anestezi ihtiyacını ortadan kaldırabilir. Diş hekimleri; GDF ile tedavi edilen çürük lezyonu, cam iyonmer siman veya kompozit rezin ile lokal anestezi olmaksızın restore edebilir [118].

Kök kanalı dezenfeksiyonunda GDF uygulamaları

Endodontik tedavide kök kanalındaki mikroorganizmaların yok edilmesi, başarılı tedavi için esastır. Kök kanal dezenfeksiyonu, antibakteriyel ajanlarla irrigasyon ile mekanik temizleme ve şekillendirme yoluyla elde edilir. Tedavi seansları arası antimikrobiyal bir pansuman kullanımı ayrıca kök kanal boşluğu içinde bakteriyel eliminasyona katkıda bulunur.

GDF, çevresel dentindeki bakterileri etkisiz hale getirebilmekte ve öldürebilmektedir [142,168]. Yapılan çalışmalarda; endodontik tedavilerde %3,8 GDF solüsyonu ile irrigasyonun, kök kanallarındaki *E. faecalis* biyofilmlerini uzaklaştırmada etkili olduğu bulunmuştur [168,169]. GDF kaynaklı gümüş tuzları, dentin tübüllerine çökelir ve dezenfekte edilmiş dentin tübüllerinin yeniden enfekte olmasını önler. Araştırmacılar; gümüş tuzlarının, zaman içinde gümüş iyonlarının kademeli olarak salınmasına izin veren rezidüel bir etki sağlayabileceğini öne sürmüşlerdir. Gümüşün kademeli olarak salınmasının, diğer irriganlar ve pansumanlara göre daha uzun süreli bir antimikrobiyal etki göstereceği düşünülmektedir [16]. Ayrıca araştırmacılar; GDF'nin kök kanalının geçirgenliğini azalttığı, yüzey sertliğini artırdığı ve kırılma direncini güçlendirdiği bildirilmişlerdir [170,171]. Ancak, laboratuvar çalışmalarının sonuçlarını doğrulayan klinik çalışmalar eksiktir [118].

Dental erozyonda GDF uygulamaları

Dental erozyon, diş yapısının bakteri olmaksızın asit atakları sebebiyle çözünmesidir [172]. GDF'nin, remineralizasyon özelliklerine sahip etkili bir anti-erozyon ajanı olduğu düşünülmektedir. Bir in-vitro çalışmada, GDF uygulamasından sonra diş minesinde gümüş içeren hidroksiapatit kristalleri görülmüştür [173]. Başka bir çalışmada, GDF'nin mine ve dentindeki dental erozyonu azaltmada etkili olduğu bulunmuştur [174].

Süt dişleriyle yapılan bir in vitro çalışmada; GDF dental erozyonun önlenmesinde CPP-ACPF (kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat florür), NaF vernikler kadar etkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca gruplar arasında renklenme açısından istatistiksel olarak anlamlı bir

fark görülmemiştir [175].

GDF; klinik çalışmalardaki etkinliği onaylandıktan sonra, dental erozyon tedavisinde kullanılabilir [118].

Diş eti enflamasyonunda GDF uygulamaları

GDF'nin periodontal enfeksiyonlarda yeni bir terapötik ajan olabileceği düşünülmektedir. Bir in vitro çalışmada, GDF'nin şiddetli periodontitise neden olan periodontal patojenlere karşı önemli antibakteriyel özellikler gösterdiği bildirilmiştir [176]. Bir klinik çalışmada, GDF'nin hiperplastik diş eti iltihabını tedavi etmek için kullanılabileceği bildirilmiştir [177]. Bir yıllık takipli klinik çalışmada; GDF'nin, gingivitisi olan erişkinlerin diş eti sağlığını yan etkisiz olarak iyileştirdiği bulunmuştur [178].

2.5.5.Gümüş diamin florür ile çürük yönetiminde vaka seçimi

AAPD kılavuzlarında belirtilen, GDF kullanımı endikasyonuna sahip hasta grupları aşağıdaki gibidir [179]:

- Ön veya arka dişlerde aktif çürük lezyonları olan yüksek çürük riskli hastalar,
- Davranışsal veya tıbbi tedavi zorluklarının eşlik ettiği çürük lezyonları olan hastalar,
- Hepsinin tek bir ziyarette tedavisinin mümkün olmadığı çok sayıda çürük lezyonu olan hastalar,
- Tedavisi zor çürük lezyonları olan hastalar,
- Ağız ve diş bakımına erişemeyen ve erişmede zorluk çeken hastalar.

AAPD kılavuzlarına göre GDF uygulaması için diş seçim kriterleri şunları içerir [179]:

- Pulpa enflamasyonunun klinik belirtisi veya spontan ağrı olmamalıdır.
- Pulpayla ilişkili olmayan çürük lezyonları seçilmelidir. Mümkünse, çürük lezyonlarının derinliğini değerlendirmek için radyografi alınmalıdır.
- Bir mikro fırça ile erişilebilir oldukları sürece herhangi bir yüzeydeki çürük lezyonları uygulama yapılabilir. Ortodontik separatörler, proksimal lezyonlara erişime yardımcı olmak için kullanılabilir.

Hu vd.'nin çeşitli protokolleri inceleyerek belirledikleri, GDF uygulaması için uygun endikasyona sahip hasta grupları şunlardır [180]:

- Çok sayıda tedavi seansına ihtiyacı olan, yüksek çürük riskli hastalar,
- Hem ön hem de arka süt dişlerinde dentine uzanan, tedavi edilebilir çürük lezyonları olan hastalar,
- Genel anestezi altında diş tedavisi gerektiren, davranış yönlendirme tekniklerine cevap vermemiş hastalar,
- Ağız ve diş tedavisi hizmetlerine sınırlı erişimi olan hastalar,
- Bir mikro fırça ile ulaşabilecek konumda çürük lezyonları bulunan hastalar.

GDF kullanımı için kontrendikasyonlar şunlardır:

- Gümüş alerjisi [16,180],
- Klinik veya radyografik bulgulara göre pulpa ile ilişkili çürük lezyon [180],
- Tedavi edilecek çürük lezyonla ilişkili spontan ağrı [180],
- Periapikal patolojinin belirtileri veya semptomları [16],
- Ebeveyn veya hasta itirazı [180],
- Ciddi derecede deskuamatif diş eti iltihabı veya mukozit [16],
- Hamilelik [16],
- Emzirme [16].

2.5.6. Gümüş diamin florür uygulamasının yöntemi, sıklığı ve takibi

Uygulama öncesi hazırlık

Işığa hassasiyetinden dolayı GDF, koyu renkli ambalajlarda muhafaza edilmelidir. Klinik pratikte şişeden çıktıktan sonra en kısa sürede kullanılmalıdır [118].

GDF'nin lekeleme potansiyeli sebebiyle çalışma yüzeyleri örtülmeli, hasta ve hekimler için önlükler ve koruyucu gözlükler temin edilmelidir [16]. İdeal olarak, rubber dam ile tam izolasyon sağlanmalıdır; ancak bu durum her zaman mümkün olmayabilmektedir. Bazı GDF ürünleri, tedavi gören dişlerin ve bitişik dişlerin mukozasına uygulanacak ışıkla sertleşen bir

“likit dam” içerir [16]. Mevcut değilse, diş etinin üzerine vazelin sürülebilir ve izolasyon için pamuk rulolar kullanılabilir [111]. GDF ile cilt lekelenme riskini en aza indirmek için dudak ve oral bölge çevresine vazelin veya kakao yağı sürülmesi önerilmektedir. Etkili izolasyon, uygulamayla ilişkili diş eti, cilt ve mukozal tahrişi en aza indirmektedir [16,111,179].

Çürük kaldırma prosedürü

Chu vd., GDF uygulamasından önce çürük kaldırmanın önemli bir yararı olmadığını belirtmişlerdir [159]. Greenwall-Cohen vd. ise, bakteri yükünü azaltmak için GDF uygulamasından önce yumuşak, nekrotik, enfekte dentinin çıkarılmasını tavsiye etmişlerdir [16]. Crystal vd., GDF'nin dentin ile doğrudan teması gerektiğinden, gıda artıklarından arındırılmış yüzeyleri tavsiye etmişlerdir [181].

AAPD kılavuzunda; denatüre dentin ile GDF'nin daha iyi temasını sağlamak için kaviteden artıkların çıkarılması tavsiye edilmektedir, fakat uygulama öncesi çürük dentinin kaldırılmasına gerek olmadığı da belirtilmiştir [179].

Uygulama yöntemi

Uygulama, mikrofırça ile gerçekleştirilir. Mikro fırça, GDF solüsyonuna tamamen daldırılmalı ve doğrudan diş yüzeyine uygulanmalıdır. Bir seansta bir damla GDF'den daha fazlası kullanılmamalıdır [179]. GDF ideal olarak bir ila üç dakika temas ettirilmelidir; mümkünse uygulama süresi en az bir dakika olmalıdır. Süre olarak daha kısa bir uygulama gerçekleştiyse, değerlendirme için hastanın yeniden çağırılması tavsiye edilmektedir. Solüsyon kuruyana kadar nazikçe basınçlı hava uygulanmalı ve diş üç dakika kadar izole tutulmalıdır [179]. Ardından fazlalık uygun bir şekilde pamuk pelet veya bir gazlı bezle temizlenebilir [16]. GDF'yi süt dişlerine uygularken, başlangıç çürük lezyonlarına sahip olabilecek kalıcı ön dişlerin GDF ile temas edip renklenmemesine dikkat edilmelidir [179].

AAPD; GDF tedavisinden sonra, tedavi edilen ve edilmeyen tüm dişlere %5'lik sodyum florür verniği tavsiye etmektedir [179].

Uygulama sıklığı

İki randomize kontrollü çalışmada, yıllık ve altı aylık GDF uygulamaları karşılaştırılmıştır [116,117]. Her ikisinde de altı aylık GDF uygulamasının çürükleri durdurmada yıllık uygulamaya göre daha etkili olduğu bulunmuştur.

AAPD kılavuzlarında, çürük sürecinin durdurulması için birkaç defa GDF uygulamasını gerekebileceği veya durdurmayı sürdürmek için yeni uygulamaların gerekli olabileceği öngörülmüştür. Aynı zamanda yılda bir yerine altı ayda bir GDF uygulamasının, başarıyı arttıracığı belirtilmiştir [179].

Takip

Çürük lezyonlarının durdurulmasında tek seferlik GDF uygulamasının etkinliği, kavitenin boyutuna ve dişin konumuna bağlı olarak ile yüzde 47 ile 90 arasında değişmektedir [181,182]. Ön dişlerde, arka dişlere göre daha yüksek başarı oranları gösterilmiştir [190]. Uygulama yapılan dişler 2-4 hafta sonra kontrol edilmelidir. Çürük koyu ve sert görünmüyor ise, GDF'nin yeniden uygulanması gerekebilmektedir [179].

2.5.7. Gümüş diamin florür uygulamasının güvenilirliği

Toksisite

%38'lik GDF, 44.800 ppm gibi yüksek bir konsantrasyonda florür iyonları içerir [109]. Bununla birlikte, 11,3 mg florür içeren standart bir % 5'lik florür verniğe kıyasla bir damla yalnızca 2,24 mg florür içerir [109]. Dental florozis, aşırı florür alımından kaynaklanır. Yüksek florür konsantrasyonlu (44.800 ppm) %38'lik GDF, küçük çocuklarda çok fazla uygulandığında florozise yol açabilir. İki yılda bir %38'lik GDF uygulamasının çocuklarda florozis riski oluşturmayacağı düşünülmektedir [109]. Florozisin şiddeti, plazmadaki florür konsantrasyonu ile ilişkilidir [191]. 3-13 yaş arası 55 çocuk ile yapılmış klinik bir çalışmada %38'lik GDF (yüzde 5,0 ile 5,9 florür ve yüzde 24,4 ile 28,8 gümüş içeren çözelti) uygulamasının güvenli olduğu ve serum florür ve gümüş konsantrasyonlarının çok az toksisite riski oluşturduğu gösterilmiştir [185]. Bir çalışmada; küçük bir çocukta florür toksisitesi riskinin, 20 süt dişinin tamamına GDF uygulansa bile düşük olduğu gösterilmiştir

[186].

GDF'nin FDA tarafından onayı sürecinde, oral ve subkutan öldürücü dozunu (Lethal Dose 50, LD50) belirlemek için kobay çalışmaları yapılmıştır. Oral uygulama ile ortalama LD50 520 mg/kg ve deri altı uygulama ile 380 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bir damla (25 µL) 5 diş tedavi etmek için yeterlidir ve 9,5 mg gümüş diamin florür içerir. En küçük çocuğun 10 kg aralığında olacağı varsayıldığında, doz 0,95 mg/kg olacaktır [107]. Bir çalışmada, her seansta uygulanan GDF miktarının 27,5 µg/mm² olduğu bildirilmiştir [124]. Uygulanan bu GDF miktarı az olmasına rağmen önlem alınmalı ve çok küçük çocuklarda sık uygulamalardan kaçınılmalıdır [111].

ABD Çevre Koruma Ajansı, gümüş ve gümüş tuzları ile kronik maruziyetten güvenli bir şekilde korunmak için ömür boyu maruz kalmayı 1 gram olarak ayarlamıştır. GDF uygulanan 3 diş için farmakokinetik çalışmalarda ölçülen en yüksek doz 2,37 mg dir, bu değer ömür boyu 400'den fazla GDF uygulamasını mümkün hale getirmektedir [187]. 6 sağlıklı yetişkin üzerinde yapılan bir klinik çalışmada, GDF uygulamasından sonra serumdaki florür konsantrasyonlarının toksisite riskinin çok az olduğu bulunmuştur [187]. 55 çocuk üzerinde yapılan başka bir çalışmada, GDF'nin güvenli olduğu ve serum florür konsantrasyonlarının çok az toksisite riski oluşturduğu belirlenmiştir [185].

Olası yan etkiler

Durdurulan çürük lezyonun renklenmesi dışında, GDF tedavisi ile ilişkili başka bir önemli komplikasyon literatürde bildirilmemiştir [118]. Fakat GDF uygulamalarının diş eti boyanması, diş eti kızarıklığı, diş eti iltihabı, diş eti beyazlaması ve diş eti ağrısıyla sonuçlanabileceği belirtilmektedir [159,166,188]. Diş etindeki beyaz yanıklar genellikle bir ila iki gün içerisinde iyileşmektedir [161]. Diğer semptomların da yedi gün içerisinde düzeldiği bildirilmiştir [16].

AAPD kılavuzlarına göre; ciddi pulpa hasarı veya reaksiyon bildirilmemiş olmasına rağmen, GDF açık pulpalara yerleştirilmemelidir [179]. Sistematik bir derlemede; GDF'nin en fazla geri dönüşümlü (reversible) pulpa enflamasyonuna neden olabileceği ve bu durumun da biyoyumlu olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada; kalan dentin dokusunun ince olması durumunda (0.25-0.50 mm) ve açık dentin tübülleriyle GDF'nin derin nüfuzuna rağmen,

GDF'ye enflamatuvar tepkiye neden olmadığı gösterilmiştir [148]. İnsan dişlerinin ex vivo olarak mikroskop ile incelendiği bir çalışmada, GDF'nin sadece yerleştirildiği yerde ve altında dentin tübüllerini sınırlı penetrasyonla kapattığı ve tübüllerin normal görüldüğü saptanmıştır. Tedavi edilen çürüklerle ilişkili pulpa dokusu, gümüş çökeltisi olmadan kronik inflamatuvar infiltrasyon ve tersiyer dentin oluşumu gösterdi. Çalışmada, GDF'nin pulpa üzerindeki yan etkilerinin minimum olduğu sonucuna varılmıştır [148].

2.5.8. Gümüş diamin florür renklenmesi

Gümüş bileşikler, temas ettiği yüzeylerde koyu renklenme meydana getirir. Bu dezavantaj, GDF uygulamalarında hasta ve ebeveyn kabulünü azaltabilmektedir [13]. Renklenmenin, uygulama sonrası oluşan gümüş fosfat (Ag_3PO_4) sebebiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Ag_3PO_4 sarı renkli, çözünürlüğü düşük bir bileşiktir [189]. Bu bileşik, ışık ve ısıya maruz kaldıktan sonra kademeli olarak siyah metalik gümüşe indirgenir [190].

GDF uygulaması sonrası ilk iki dakikada, dentin yüzeyinde renklenme başlar. Uygulama sonrası 5. dakikadan 5. saate kadar renklenmenin yoğunluğunda kademeli bir artış meydana gelir [191]. Maksimum renk değişimi ise ilk 12 saatte gerçekleşir. Bazı araştırmacılarca ise uygulamadan sonraki 6. saate kadar renklenmede artış ifade edilmiştir [192]. Renklenmenin metalik doğası gereği diş beyazlatma renk değişimini ortadan kaldırmamaktadır [16].

Potasyum iyodür (KI)

Renklenmeyi azaltma amacıyla GDF uygulamaları sonrası potasyum iyodür (KI) solüsyonu uygulamaları birçok çalışmada incelenmiştir. KI çözeltisindeki iyodür (I) iyonlarının, kalan serbest gümüş iyonları ile reaksiyona girerek Ag_3PO_4 oluşumunu ve bunun sonucunda oluşan renk değişimini önleyebilir [16]. Premolar dişlerle yapılan bir in vitro çalışmada, GDF tedavisinden sonra KI uygulamasının dentin renklenmesini azalttığı belirtilmiştir [201]. 3-6 yaş çocuk hastalarla yapılan randomize klinik bir çalışmada; KI kullanımı, işlem sonrası GDF'nin sebep olduğu renklenmeyi önemli ölçüde azaltmıştır. Fakat takip seanslarında GDF + KI grubunda da estetik görünümü etkileyen belirgin renk değişimi kaydedilmiştir [202]. Yetişkin hastalardaki kök çürükleri ile yapılan klinik bir araştırmada, uzun vadede potasyum iyodür uygulamasının, GDF ile durdurulmuş çürük lezyonlarının renklenmesini azaltmadığı gösterilmiştir [195]. Çoğu çalışmada olumlu bir etki bildirilmiş

olsa da GDF + KI uygulaması için yeterli kanıt mevcut değildir. 2020 yılında yayınlanan bir sistematik incelemede; GDF + KI ile GDF renklenmesi arasında pozitif fakat minimal bir ilişki bildirilirken, ele alınan altı farklı çalışmanın KI solüsyonunun avantajını istatistiksel olarak anlamlı göstermede başarısız olduğu saptanmıştır [17]. Bu incelemede, yeterli kanıtın mevcut olmadığı, dahil edilen çalışmaların farklı çalışma tasarımlarına sahip olduğu ve çalışmaların 30 günlük takiple sınırlı olduğu belirtilmiştir.

Süt dişi dentin çürüğünde GDF'nin ardından KI kullanımının remineralizasyon açısından değerlendiren çalışmalar literatürde sınırlıdır [18,19]. 3-6 yaş çocuk hastalarla yapılan randomize klinik bir çalışmada hem GDF hem de GDF + KI, süt dişlerindeki çürük lezyonlarının durdurulmasında etkiliydi [194]. Kaviteli süt dişi çürüklerine sahip hastalarla yapılan 12 aylık bir klinik çalışmada; KI kullanımını GDF renklenmesini azalttığı gösterilmiştir, fakat KI ile çürüğün durdurulma ihtimalinin de azaldığı belirtilmiştir [196]. KI solüsyonu, tamamen solüsyon içerisine daldırılmış bir mikro fırça ile uygulanır. Başlangıçta beyaz bir çökelti olarak gümüş iyodür (AgI) oluşur. Çökelti renksiz hale gelene kadar tekrar tekrar KI uygulanmalıdır. Restoratif bir işlem yapılacaksa, çökelti durulanmalı ve diş hava ile kurutulmalıdır. Mukoza ile temas durumunda, bölgenin iyice yıkanması önerilmektedir [16].

Tiroid tedavisi gören, potasyum veya iyota karşı bilinen alerjisi olan hastalar için KI uygulamaları endike değildir. Bu sebeple de GDF renklenmesine karşı yüksek etkili ve biyouyumlu bir materyal arayışı devam etmektedir.

Glutatyon (İndirgenmiş Glutatyon, GSH)

Sistein, glutamik asit ve glisin içeren suda çözünen bir tripeptit olan glutatyonun aktif formu indirgenmiştir [197]. Yapısında bir sülfhidril (tiyol grubu, -SH) grubu içerir. Bu fonksiyonel grup ile hücreleri serbest radikaller, peroksitler ve ağır metaller gibi reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerinden korur. Metal şelatörleri ve radikal söndürücüler gibi çeşitli mekanizmalarla işlev gören bir antioksidandır [198,199].

Flor ile GSH arasındaki etkileşim bilinmektedir. Bir çalışmada, 25 ppm seviyesinde flor içeren içme suyunun sıçanlara uygulanmasıyla oluşturulan oksidatif strese bağlı olarak GSH'ın kullanımının arttığı gösterilmiştir [200]. Artan oksidatif stres ve florürün antioksidan

fonksiyon üzerindeki etkisi diğer birçok çalışmada da doğrulanmıştır [201-203].

GSH, Ag^+ iyonunun kan plazmasından detoksifikasyonunda rol oynamaktadır [204]. GSH; Ag^+ iyonunun etrafında bir kaplama oluşturarak parçacıkların agregasyonunu azaltır. GSH, GDF uygulamasıyla ortaya çıkan serbest Ag^+ iyonları ile reaksiyona girerek iyon salım hızını kontrol edebilir. Böylece Ag_3PO_4 oluşumu ve bunun sonucunda oluşan renk değişimini önleyebildiği düşünülmektedir [20]. GSH uygulaması ile GDF kaynaklı renklenmenin önlenmesi üzerine literatürde dört farklı çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalardan ilki in vitro olarak çekilmiş sığır dişlerinde yapılmıştır ve “GSH, KI’e göre mine ve dentindeki renklenmeyi azaltmada daha etkilidir.” hipotezine ulaşılmıştır [20]. Diğer iki in vitro çalışmanın biri çekilmiş insan süt molar dişleri üzerinde, diğeri çekilmiş insan küçük azı dişleri üzerinde gerçekleştirilmiştir [205,206]. Bu çalışmalardan birinde GSH ile etkili bir şekilde renklenmenin azalabileceği belirtilmiştir [205]. Literatürdeki son çalışma ise 6 aylık takipli bir klinik çalışmadır. Bu çalışma, 20 çocuk hastanın 60 adet aktif çürüklü anterior süt dişi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda; %20 GSH’ın %38 GDF ile kombinasyonunun, GDF’nin çürük durdurma potansiyelini etkilemeden renklenmesini azaltmada etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir [208].

GSH’nın, GDF’nin biyokimyasal özellikleri üzerindeki konsantrasyona bağlı etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bir in vitro çalışmada, GSH katılımının GDF’nin kimyasal özellikleri ve antibakteriyel etkinliği üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. GDF’ye eklenen ağırlıkça %5 GSH; GDF’nin antibakteriyel özelliklerini önemli ölçüde etkilemezken, renklenmeyi en aza indirmek için en iyi seçenek olduğu ifade edilmiştir. Gelecekteki çalışmaların; GSH ile modifiye edilmiş GDF’nin remineralizasyon potansiyelini değerlendirmeye odaklanması gerektiği araştırmacılarca belirtilmiştir [207].

2.6. İn-Vitro Yapay Çürük Modelleri

İn-vitro yapay çürük modellerinin sınıflandırılması; asit tamponların kullanıldığı yapay çürük modelleri, bakteriyel asitlerin kullanıldığı çürük modelleri, pH siklus modelinin kullanıldığı çürük modelleri ve yapay çene modelleri şeklindedir.

2.6.1. Asit jel ve tamponların kullanıldığı yapay çürük modelleri

Asit tamponların kullanıldığı modeller

Organik asitler

Genellikle laktik asit veya asetik asit gibi organik asitlerin kullanıldığı bu model, çürük modellerinin en basitidir. Asit tamponun pH seviyesi kalsiyum ve fosfat iyonlarıyla 4,5 ila 5,0 olarak ayarlanır. Bu hafif asitler, inorganik asitlere göre doğal çürüklere daha çok benzeyen demineralize lezyonlar oluşturur [209]. Örneklerin tampon solüsyon içerisinde günlerce veya aylarca bekletilmesi gerekebilir. Araştırma sorusuna bağlı olarak çözeltiye florür iyonları eklenebilir. Bu modelde tampon çözeltinin karışım oranı da önemlidir, kalsiyum hızla tükenir ve fosfat hızla birikerek demineralizasyonu tersine çevirmeyi yavaşlatabilir [79].

İnorganik asitler

Hidroklorik asit, fosfat asit ve sitrik asit gibi inorganik asitler ise genellikle asit erozyonunu simüle eden modeller için kullanılmaktadır. pH değerleri 1,0 kadar düşebilen bu asitler, organik asitler gibi doku içerisine penetrasyon sağlamadığından ve yüzeysel bir demineralizasyon sağladıklarından dolayı tercih edilmemektedir [209].

Asit jellerin kullanıldığı modeller

Uygulama kolaylığı ve teknik hassasiyetinin az olması sebebiyle tercih edilen asit jel yönteminde, örnek yüzeylerinde düzensiz bir demineralize saha olduğu bilinmektedir [210]. Kullanılan iki yaygın asidik jel, karboksimetilselüloz bazlı asit jel ve etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) jelidir [211]. Substratın üstüne uygulanan jelin miktarı, viskozitesi, temas alanı demineralizasyon miktarı üzerinde etkilidir [212].

2.6.2. pH siklus modelinin kullanıldığı yapay çürük modelleri

Günlük yaşamda ağız boşluğundaki pH seviyesi, beslenme ile değişiklik gösterir; bu nedenle pH değişimlerinin deney ortamına yansıtılması önemlidir. pH siklus (döngü) modeli, sağlam diş örneklerinin kalsiyum fosfat çözeltileri kullanılarak demineralizasyon dönemlerine ve simüle edilmiş tükürük etkileşiminin sebep olduğu remineralizasyon dönemlerine maruz bırakıldığı bir laboratuvar deneyidir [213]. Güncel pH siklus modellerinin kökeni Ten Cate ve Duijsters'ın çalışmalarına dayanmaktadır [214]. Bu modellerde uzun süreli asit maruziyeti olan demineralizasyon periyotları, asit yüklemesinin diş yüzeyi ve yüzey altı üzerinde klinik olarak meydana gelen yıkıcı etkilerini taklit etmek için tasarlanırken, remineralizasyon periyotları tükürüğün koruyucu ve onarıcı etkilerini taklit eder [215]. Bununla birlikte, pH siklus modellerinin bir dezavantajı, çürük önleyici ajanların antibakteriyel etkisinin bu modellerle en iyi şekilde çalışamamasıdır [216].

Dentin dokusunun mineye göre daha yüksek olan kritik bir pH değerine sahip olması ve daha yavaş gerçekleşen ve daha fazla konsantre florür gerektiren remineralizasyon süreci, dentin örneklerinin kullanıldığı pH siklus modellerinde göz önünde bulundurulmalıdır [217]. Örnek olarak süt dişi dokularının kullanıldığı çalışmalarda, pH siklusu 7 günlük süreyi aşmamalıdır. Aksi halde örnekler aşınmakta ve lezyonun derinliği ayrıntılı şekilde izlenememektedir [218].

Mevcut olan pH siklus modelleri, florürlü ajanların etkinliğini saptamak ve diğer çürük önleyici tedavilerle ilişkisini değerlendirmek için uygundur. Fakat diş fırçalama, tükürük bileşimi, bakterilerin varlığı ve çiğneme gibi faktörler yansıtılamamaktadır. pH siklus modellerini in vivo koşullara mümkün olduğunca yakın hale getirmek için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır. Özellikle; kolajenazlar veya jelatinazlar gibi MMP'lerin eklendiği pH siklus modelleri üzerine yapılacak çalışmalarla, demineralize dentin organik matrisin bozunmasında MMP'nin biyokimyasal rolü simüle edilebilir [217]

2.6.3. Bakteriyel asitlerin kullanıldığı çürük modelleri

Bu modelde diş örnekleri çeşitli şekillerde hazırlanan bakteriyel demineralizasyon sistemlerinde bekletilir. Bu sistemlerde çeşitli bakteri kültürleri ve besleyici ajanlar

kullanılmaktadır. Yüksek karyojenik patojenitesi ve laktik asit üretimi sebebiyle *S. mutans*, tek tür biyofilmlerinde en yaygın olarak kullanılan mikroorganizmadır [219,220]. Bununla birlikte, tek tür biyofilm modelleri klinik olarak anlamlı değildir. Çok türlü biyofilmlerin antibiyotiklere ve antimikrobiyal bileşiklere karşı daha dirençli olduğu gösterilmiştir [221]. Bu nedenle, özellikle biyoaktif restoratif materyallerin kullanıldığı in-vitro çalışmalarda çok-türlü biyofilm modelinin uygulanması tercih edilebilir [222].

2.6.4. Yapay çene modelleri

Çürük sürecini simüle etmek için bakteri (saf suşlar, karışık suşlar, plak vs.), tükürük (insan veya sığırdan genellikle gerçek tükürük), çekilmiş dişler ve diyet bileşenleri laboratuvar ortamında birleştirilerek yapay çene modelleri oluşturulabilir [223]. Teorik olarak yapay çene modelleri, tükürüğün temizlenmesi ve yenilenmesi dahil olmak üzere ağzın tüm bileşenlerini bir araya getirmelidir. Fakat pratikte, yapay çene modelleri ile in situ veya in vivo modeller kadar iyi bir sonuç elde edilememiştir [79].

2.7. Demineralizasyon ve Remineralizasyon Süreçlerini Değerlendirme Yöntemleri

2.7.1. Yüzey mikrosertlik analizi

Knoop, Brinell, Rockwell ve Vickers mikrosertlik testleri, yüzey mikrosertlik ölçüm yöntemleridir. İncelenen materyale göre yöntem belirlenmektedir. Diş hekimliğinde, dental materyal ve organik dokuların mikrosertlik analizi için Knoop ve Vickers testleri tercih edilmektedir. Knoop ve Vickers mikrosertlik testleri, mikro boyuttaki elmas ucun kuvvet uygulaması ile gerçekleştirilmektedir. Bu testler tekrarlanabilir ölçümlere olanak sağlar [224]. Bu yöntemde, mikrometrik boyutlardaki Knoop ve Vickers elmas uçlar, belirli bir süre boyunca belirli bir kuvvet ile numune yüzeyinde konumlandırılır. Elmas ucun numunede bıraktığı girinti uzunluğu mikroskobik olarak mikrometre cinsinden belirlenir. Elde edilen veriler, mineral kaybı veya kazancına ilişkin dolaylı kanıt sağlayabilmektedir. Girinti alanı ne kadar küçükse elde edilen sertlik değeri o kadar büyük olur, bu değer de materyalin daha sert olduğunu gösterir [225].

Knoop ve Vickers sertlik ölçümleri arasındaki fark, esas olarak kesicinin penetrasyon

derinliğidir. 100 mikrometrelik bir girinti uzunluğu için Knoop girintisi yaklaşık 3,5 mikrometreye nüfuz ederken, Vickers elması yaklaşık 14 mikrometrelik bir alana ulaşır [224].

Demineralizasyon ve remineralizasyonun değerlendirilmesinde yüzey mikrosertlik analizlerinin bazı dezavantajları bulunmaktadır:

- Düz ve pürüz içermeyen numune yüzeyleri gereklidir,
- Veriler yalnızca nitelikseldir,
- Lezyonun şekli, mineral yükünün dağılımı gibi durumlar girinti uzunluğu değerlerini etkileyebilir.
- Köşegen uzunlukları ile lezyon derinliği arasındaki doğrusal bir ilişki, yalnızca sınırlı bir lezyon derinliği değerleri aralığında geçerlidir [226,227].

Knoop sertlik testi

Knoop sertlik testi, uygulanan yükün 3,6 kg-f'yi (kilogram-kuvvet; 35 N) aşmadığı ince plastik, metal levhalar ve kırılğan malzemeler için uygundur. Bu yöntem çok hafif yük uygulamalarında son derece hassas mikro girintiler ürettiğinden, ilgili bir alana göre sertliği değişen materyalleri incelemek için kullanılabilir [224].

Vickers sertlik testi

Vickers yönteminde mikrosertliği ölçülecek numune yüzeyine kare tabanlı tepe açısı 136° olan, piramit şekilli bir elmas uç ile kuvvet uygulanarak dörtgen bir girinti oluşturulur. Dörtgen girintinin köşegenleri ölçülerek belirlenir, köşegen uzunluğunun ortalama değeri formülde yerine yazılarak sertlik değeri hesaplanır [225].

2.7.2. Elektron mikroskopları ve enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi

Elektron mikroskobunda elektron enerjisi kullanılarak görüntü elde edilmektedir. Günümüzde diş hekimliğinde en çok kullanılan elektron mikroskopları taramalı elektron mikroskobu (scanning electron microscopy-SEM) ve aktarmalı elektron mikroskobudur (transmission electron microscopy-TEM). TEM, belirli bir numunenin içindeki hücresel ve

hücre dışı matris altyapısını incelemek için yüksek çözünürlük gücüne sahiptir. SEM, boyutsal topografyayı inceleyerek numune yüzeyinin gözlemlenmesine izin verir; SEM'in yüksek çözünürlüklü gücü ve geniş odak derinliği olduğundan, görüntüler üç boyutlu bir görünümle görünür [228].

Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) bir numunenin kimyasal içeriği için kullanılan analitik bir tekniktir. EDX elementin atomik yapısının analizi için SEM ile kullanılmaktadır. Bu sistemle SEM ile yapısal analiz yapılırken, EDX ile element analizi yapılabilmektedir. Elementlerin kantitatif olarak belirlenmesi bilgisayar bazlı bir program kullanılarak elde edilmektedir [229].

2.7.3. Kantitatif ışık etkili floresans (QLFTM)

QLFTM yöntemi, diş dokusunda demineralizasyonu takiben oluşan ışık saçılma kaybının ölçülmesi ve saptanan değişimlerin kantitatif olarak belirtilmesi esasına dayalı bir yöntemdir. Bu yöntemde; yeşil fon üzerinde koyu renkli olarak görüntülenen alanlar, demineralizasyonun olduğu bölgelerdir. QLFTM ile diş dokularında, 30 mikrometre (0.03 mm) derinliğine kadar analiz gerçekleştirilebilmektedir [230].

2.7.4. Optik koherens tomografi (OCT)

Optik koherens tomografi (OCT), ışığın farklı yüzeylerden geçerken gösterdiği yansıma farklılıklarına dayanarak yüksek çözünürlüklü kesitsel görüntüler sağlayan bir görüntüleme sistemidir. Bu yöntemde X-ışınları yerine, dokuya yüksek düzeyde penetre olan ve biyolojik hasar yaratmayan geniş bantlı, kızılötesine yakın bir diod lazer ışığı (800-840 nm) kullanılır. OCT ile mine dentin, sement ve mukozaya ait dokular birbirinden ayırt edilebilir [231-233]. Bu yöntem, histolojik olarak yapıların ayırt edilmesini gerektirmeden diş çürüğünün nitelik ve niceliksel olarak değerlendirilmesini sağladığı için dentin görüntülemesinde önemli bir ilerlemedir [234].

2.7.5. Polarize ışık mikroskobu

Titreşimleri tek bir doğrultuda olan ışık dalgalarına ‘‘polarize ışık’’ adı verilmektedir. Polarize mikroskop; ışığın polarizasyonu, yani kutuplanma durumundan yararlanarak

yapılan mikroskoptur. Diş dokusunun organik kısımlarının ve demineralizasyona bağlı oluşan poröz bölgelerin ışığı kırma indekslerinin farklı olması prensibiyle görüntüler elde edilir [235]. Polarize ışık mikroskobu mineral kaybını ve mineral kazancını niteliksel olarak gösterebilir, fakat mineral ölçümü söz konusu olduğunda verileri nicel olarak yorumlamak zordur [224].

2.7.6. Mikroradyografi

Mikroradyografi yöntemi; X-ışını absorpsiyonu yoluyla mineral miktarının ölçümüdür. Üç farklı mikroradyografik tekniği; longitudinal (uzunlamasına, LMR) mikroradyografi, transversal (enine, TMR) mikroradyografi ve dalga boyundan bağımsız mikroradyografi (WIM) şeklinde isimlendirilmiştir.

Transvers mikroradyografi (TMR)

TMR'de incelenen numune ince kesitler halinde hazırlanır, dentin dokusu ile çalışılacaksa yaklaşık 200 mikrometrelik kesitler alınır. Kesitler, bir kalibrasyon kaması ile bir film parçası üzerine yerleştirilir, ardından tek renkli x-ışınları ile ışınlanır. X-ışınlarının absorpsiyonu, filmin optik yoğunluğuna doğrudan yansır. Bu yöntemle dokuların mineral yapısı, yoğunluğu ve dağılımı direkt ve kantitatif ölçümlerle belirlenebilir [236].

Uzunlamasına (longitudinal) mikroradyografi (LMR)

Bu yöntemde, TMR'ye göre daha kalın (yaklaşık 0,5 mm kalınlığında) kesitler hazırlanır. Ortaya çıkan mikroradyografik görüntüler bir mikrobilgisayar vasıtasıyla bir dansitometre altında otomatik olarak taranır. Daha sonra, birim alandaki mutlak mineral miktarı hesaplanır [237]. LMR'de en önemlisi; tekniğin tahribatsız olması ve dentindeki mineral miktarının tekrar belirlenebilmesidir. Teknik esas olarak kesitler üzerinde kullanılmaktadır, ancak doğal diş yüzeylerinde de ölçüm yapılabilir [238].

Dalga boyundan bağımsız mikroradyografi (WIM)

WIM yönteminde, dişlerdeki mineral içeriğinin tahribatsız tespiti için polikromatik yüksek enerjili x-ışınları (~ 60 kV) kullanılır. Bu yöntemde, doğal eğimli yüzeyleri olan veya olmayan, 0,3 ila 6 mm kalınlığındaki mine ve dentin numunelerinde birim alan başına mineral miktarı ölçülebilmektedir [239].

2.7.7. Konfokal lazer tarayıcı mikroskobu (CLSM)

Konfokal lazer tarayıcı mikroskobu (CLSM), elektron mikroskobu ile ışık mikroskobunun ara formudur. CLSM, özellikle yarı saydam biyolojik örneklerin yüksek çözünürlükte analizinde kullanılır. CLSM ile penetrasyon derinliğinin ölçümünde, örnekteki porözitelere infiltre olabilen boyayıcı ajan uygulaması yapılmaktadır. Boyanan bölgelerde ışığın saçılması ve yansımaları dikkate alınarak mineral oranlarındaki değişiklikler hakkında bilgi edinilir. [240].

2.8. Renk Analiz Sistemleri ve Elektronik Renk Ölçüm Cihazları

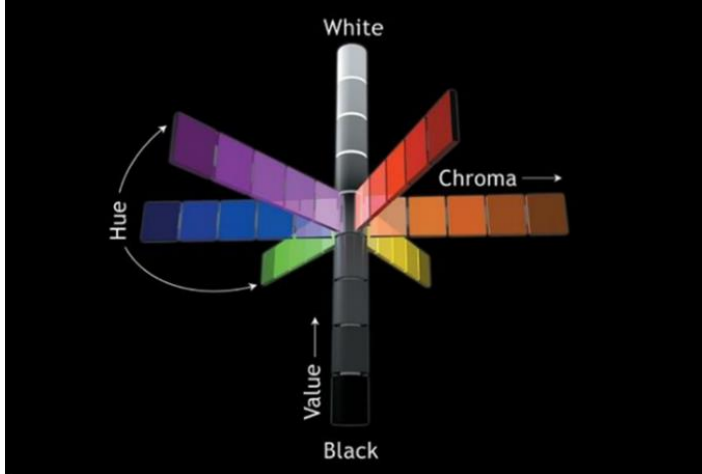
2.8.1. Renk analiz sistemleri

Objenin renk parametrelerini tanımlamak amacıyla renk sistemleri kullanılmaktadır. Diş hekimliğinde Munsell, CIE ve CIE $L^*a^*b^*$ renk sistemleri tercih edilmektedir [241].

Munsell renk sistemi

20. yüzyılın başında Profesör Albert H. Munsell, her rengin diğer tüm renklerle mantıksal bir ilişkisi olduğunu bulmuştur [242]. Her rengin doğru bir şekilde tanımlanması için düzenli bir sistem kurmuştur. Oluşturduğu Munsell renk koordinat sistemi, renklerin ton (hue), doygunluk (chrome), parlaklık (value) parametrelerini içerir [243].

Günümüzde Munsell renk sistemi, renk ölçümü yapılan bilimsel araştırmalarda nadiren kullanılır (Şekil 2.1.) [243].



Şekil 2.1.Munsel renk sistemi [252]

CIE ve CIE L*a*b* renk sistemleri

Boyama ve Renk Bilimcileri Derneği'nin (Society of Dyers and Colourists) “Renk Ölçüm Komitesi” (Colour Measurement Committee) ve CIE (Commission Internationale de l'Eclairage, Uluslararası Aydınlatma Komisyonu) tarafından geliştirilen renk gösterim sistemleri ve formüllerinden günümüzde sıklıkla yararlanılmaktadır [243].

Munsell renk sistemindeki gibi CIE renk sistemlerinde de bir rengin lokasyonu koordinatla belirlenir. CIE sisteminde üç parametre kullanılır: X, Y ve Z. Başka bir CIE renk sisteminde ise L^* , a^* ve b^* olmak üzere üç parametre kullanılır [243]. CIE $L^*a^*b^*$ renk sistemi, geliştirildiği 1976 yılından beri yaygın şekilde kullanılmaktadır. Çoğu teknoloji tabanlı renklendirme sistemi, eşleştirilecek bir diğ ile seçilen bir renk arasındaki renk farkını belirlemek için CIE $L^*a^*b^*$ renk sisteminden ΔE^* 'yi kullanır [244]. Diğer bir deyişle, ΔE^* renk değişimini ifade eder. Munsell renk sistemindeki parlaklık, ton ve doygunluk; CIE $L^*a^*b^*$ 'da L^* , a^* ve b^* olarak ifade edilir [243]. L^* parlaklığı ifade eder ve 0 ile 100 arasında değer alır. 0 siyahı, 100 beyazı temsil etmektedir (Şekil 2.2.). Δa^* ve Δb^* sırasıyla yeşil-kırmızı (a^*) ve mavi-sarı (b^*) koordinatlarındaki farklardır. $+a^*$ kırmızıyı, $-a^*$ ise yeşili belirtir. $+b^*$ sarıyı, $-b^*$ ise maviyi belirtir [243,244].

	CIE-L*a*b		CIE-L*a*b
L	100	L	0
A	0	A	0
B	0	B	0
CIE-L*a*b		CIE-L*a*b	

Şekil 2.2. CIE L*a*b* renk sisteminde beyaz ve siyah

L, a ve b harfleri yanlarında bulunan '*' işareti ile belirtilir; bu işaret, diğer renk sistemleriyle karışmasını önlemek amacıyla kullanılır. ΔE^* , bir diş ile referans arasındaki farkı belirleyen unsurdur ve matematiksel bir eşitlikle belirlenir. ΔE^* değerin bulunabilmesi için iki farklı ölçümdeki L^* , a^* ve b^* değerlerinin bulunup eşitliğe yerleştirilmesi gerekir [245].

2.8.2. Elektronik renk ölçüm cihazları

Spektrofotometre

Spektrofotometreler; kullanımı kolay, son derece hassas ve yüksek doğruluk veren cihazlardır. Görünür ışık spektrumu boyunca birçok noktada (yaklaşık olarak her 10 nanometrede bir) bir nesneden yansıyan ışık dalga boylarını ölçer. Ölçüm sırasında parlaklık, doygunluk ve ton değerleri için görünür ışıma enerjisi miktarını kaydeder [244,246].

Bilimsel bir araştırma için en uygun spektrofotometre, bir nesnenin içine yerleştirilmesine ve birçok farklı açı ve yönden ışığa maruz bırakılmasına izin veren 'küre spektrofotometre'dir. Bu cihaz nesnenin yansıma özelliklerinin en doğru ve kesin spektral analizini verir. Ancak klinik diş hekimliği uygulamalarında; cihaz içerisine diş yerleştirilemeyeceği için, ışığın diş yüzeyine yönlendirildiği 'yansıma spektrometre cihazları' kullanılır [244].

Kolorimetre

Kolorimetreler, diğ er adıyla tristimulus kolorimetreleri, insan gözünün algıladığı rengi doğrudan ölçmek üzere tasarlanmıştır. Tristimulus (    uyartılı renk), bir rengin elde edilmesi için gerekli olan üç renk bileşeninin (kırmızı, yeşil, mavi) yüzde oranlarıdır. Kolorimetreler de tristimulus metoduna göre çalışır, bir nesnenin rengini belirlemek için görünür spektrumun üç ya da dört alanındaki ışığı filtreler [244].

Hem in vivo hem de in vitro çalışmalarda, doğal dişlerin ve dental materyallerin rengiyle ilgili diş araştırmalarının çoğu kolorimetreler kullanılarak yapılmıştır. Bununla birlikte, kolorimetreler tipik olarak spektrofotometrelerden daha düşük doğruluğa sahiptir. Ayrıca filtrelerin eskimesi de doğruluğu etkileyebilir [243].

Dijital kameralar ve görüntüleme sistemleri

Literatürde mevcut bazı çalışmalarda ‘‘renk belirleme’’ amacıyla kullanılan dijital kameralar, aslen renk ölçüm araçları olarak sınıflandırılmazlar. Bu cihazlar yakalanan görüntünün renk özelliklerini ortaya çıkarırlar. Dijital kameralar ve görüntüleme sistemleri, renkli bir görüntü oluşturmak için kullanılan kırmızı, yeşil ve mavi görüntü bilgilerini alır. Bir DSLR (Digital single reflex camera, Sayısal tek mercek yansımali kamera) kamera sistemi, tekrarlanabilir pozlama, büyütme ve renk doğruluğu oluşturmak için dijital kameralar arasında idealdir. İlk görüntü yakalama işleminin ardından görüntülerin saklanması, alınması ve daha sonra bir bilgisayar ekranında veya baskıda görüntülenmesi için bir yazılım iç akışıyla işlenmesi gerekir. Bir görüntü dosyasındaki her bir renk noktasını tanımlamak için özel formüller belirlenebilse de ışığın dişlerin i  katmanları ve yüzey özellikleriyle etkileşime girmesiyle oluşan genel renk görünümü etkisini iletmek için en iyi yöntem olarak dijital fotoğraflar kullanılmalıdır [243].

Dijital kameralar son derece verimli ve kullanımı kolay cihazlardır; ancak uygulayıcının becerisini en üst düzeye çıkarmak için bilgisayar teknolojisi ve standart fotoğrafçılık hakkında temel bir eğitime ihtiyaç vardır [243].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasının amacı; GDF'ye ilave edilen GSH'ın, GDF renklenmesine ve remineralizasyonuna etkisinin KI ile karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmesidir.

3.1. Etik Kurul Onayı

Çalışmanın etik kurul onayı Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 16.01.2023 tarihinde E-21071282-050.99-560874 sayılı karar ile (EK-1) alınmıştır.

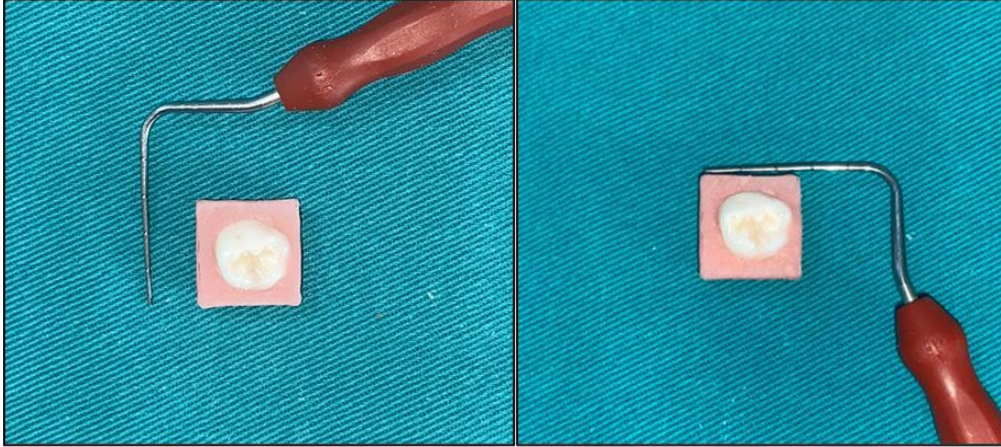
3.2. Örneklem Sayısının Belirlenmesi

Örneklem sayısının belirlenmesi amacıyla çalışma öncesinde ‘‘güç analizi’’ gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın ana hipotezlerinin analizlerinde üç ve daha fazla bağımlı ve bağımsız grupların karşılaştırılmalarının yapılması planlanmış ve yapılacak istatistiksel metotlara göre hesaplanan en büyük örneklem boyutu esas alınmıştır. Bu çalışmada ‘‘G. Power-3.1.9.2’’ programı kullanılarak, %95 güven düzeyinde örneklem büyüklüğü hesaplanmıştır. Analiz sonucunda $\alpha=0,05$, standardize etki büyüklüğü, en yüksek örneklem sayısını verecek şekilde, daha önce bu alanda yapılan benzer bir çalışmadan yararlanılarak olarak alındığında ve 0,80 teorik güç ile üç bağımsız grup için minimum örneklem hacmi 30 olarak hesaplanmıştır [205]. Grup başı minimum 10 örneğin çalışmaya dahil edilmesi gerektiği bulunmuştur. Araştırmacılar tarafından örneklem boyutu grup başına 16 diş olarak belirlenmiştir.

3.3. Dentin Örneklerinin Hazırlanması

Çalışma; çekilmiş, görsel muayene ve radyografiye göre çürüksüz, 16 adet 2. süt azı dişi ile yürütülmüştür. Persiste, mobil ve ortodontik sebeplerle çekilmiş 2. süt azı dişleri kullanılmıştır. Çürük, restorasyonlu, gelişim bozukluğu olan dişler ile çekim sırasında kron bölgesi hasar görmüş dişler çalışmaya dahil edilmemiştir. Dişler %0,1'lik timol eklenmiş distile su içerisinde bekletilmiştir ve çekim zamanından itibaren 3 ay içerisinde kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan dişlerin kronları, mine-sement sınırından elmas separe (Meisinger, Neuss, Almanya) ile su soğutması altında köklerinden ayrılmış ve kron pulpası ekskavatör yardımı ile uzaklaştırılmıştır. Ardından dişler soğuk akril (İntegra, Birleşik Grup Dental, Ankara, Türkiye) ile hazırlanan bloklara, oklüzal 1/3'lük kısmı akril kalıp dışında kalacak şekilde gömülmüştür (Resim 3.1).

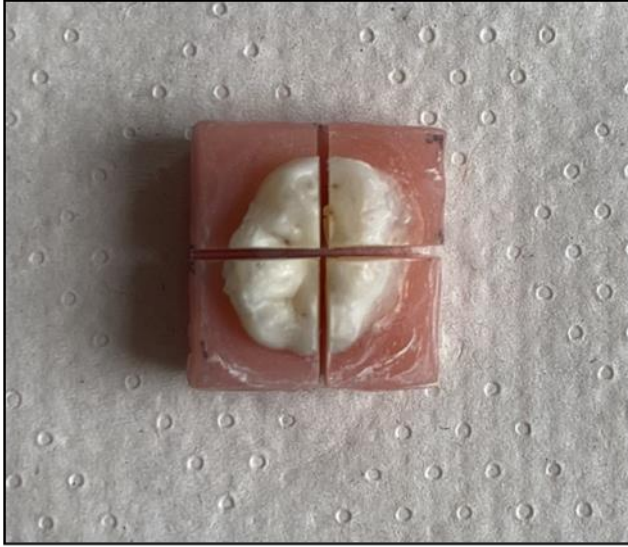


Resim 3.1. Akrilik bloğa sabitlenen süt azı dişi

Sabitlenen dişler; Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarında bulunan düşük hızlı sulu kesit alma cihazıyla (Met kon Microcut 201, Metkon A.Ş., Bursa, Türkiye) (Resim 3.2.) bir adet bukkolingual kesit ve bir adet meziodistal kesit ile dört parçaya ayrılmıştır (Resim 3.3.).



Resim 3.2. Kesit alma cihazı



Resim 3.3. Bukkolingual ve meziodistal kesitler alınmış süt azı dişi

16 farklı diştan elde edilen 64 adet sağlam örnekteki mine yüzeyleri, her 4 örnek için kalın grenli elmas fissür frezler (FC Diamond, G&Z Instrumente, Lustenau, Avusturya) kullanılarak okluzal yüzeyden itibaren mine dentin birleşimine kadar kaldırılmıştır (Resim 3.4.) [247].



Resim 3.4. Mine yüzeylerinin elmas fissür frez ile kaldırılması

Dentin yüzeyleri açığa çıkarılmış 64 örnek, oklüzal 1/3'lük kısımları dışarıda kalacak şekilde tekrardan akrilik blok içerisine sabitlenmişlerdir (Resim 3.5.). Ardından örnekler, zımparalama cihazı (Resim 3.6.) ile (Metkon Gripo 2V polisaj ve zımpara makinası, Metkon A.Ş., Bursa, Türkiye) sırasıyla 500, 800, 1000, 1500 ve 2000 gridlik kâğıt zımparalarla (Atlas Abrasives, Türkiye) zımparalanıp alüminyum oksit parlaticı ile cilalanmıştır.

Cilalama sonrasında örnekler distile su ile yıkanıp kurutulmuştur. Açığa çıkarılan dentin yüzeylerinin sınırlarına iki kat şeffaf tırnak cilası (Kalyon, İstanbul, Türkiye) uygulanmıştır.



Resim 3.5. Akrilik bloğa sabitlenmiş dentin örnekleri

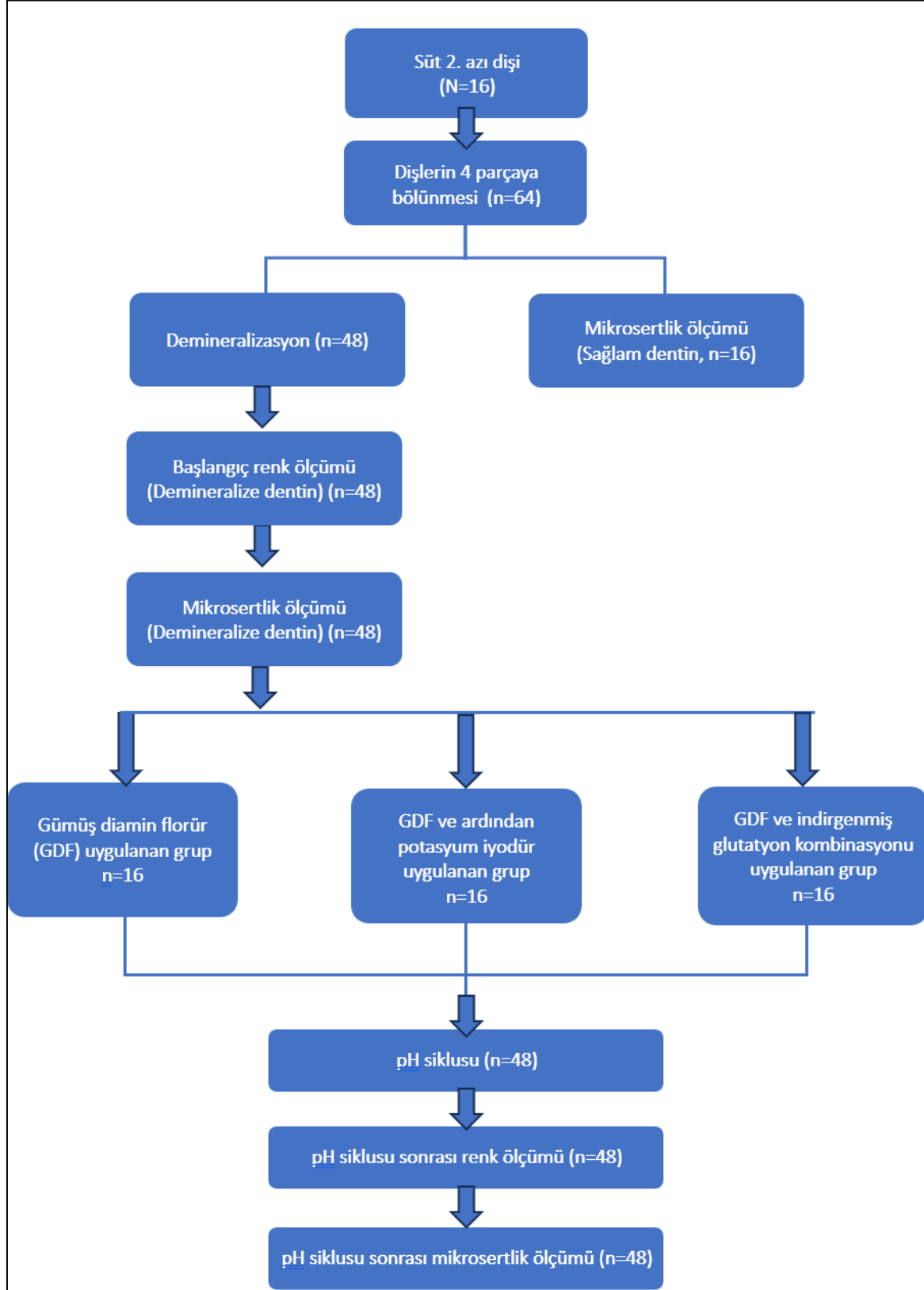


Resim 3.6. Polisaj ve zımpara cihazı

3.4. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmadaki prosedürlerin aynı diş üzerinde değerlendirilebilmesi amacıyla; her diştten elde edilen 3 adet dentin örneğinden 1'i kontrol (GDF), diğer 2'si deney gruplarında (GDF+KI ve GDF+GSH) olacak şekilde rastgele gruplara ayrılmıştır (n=16). Her bir diştten kalan birer

adet dentin örneği, toplamda 16 adet dentin örneği ise yalnızca başlangıç mikrosertlik değeri ölçümü için kullanılmıştır. Deney prosedürünü anlatan şema Şekil 3.1’de görülmektedir.



Şekil 3.1. Deney prosedürünü anlatan şema

3.5. Dentin Örneklerinin Demineralizasyonu

Kontrol ve deney gruplarında yer alan 48 adet örnek, başlangıç çürük lezyonu oluşturmak amacıyla 96 saat boyunca demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Her bir örnek 15 ml demineralizasyonu kapaklı cam kaplar içinde bekletilip, solüsyonlar 24 saatte bir tazelenmiştir. Demineralizasyon solüsyonundan çıkarılan örnekler distile su ile yıkanıp kurulanmıştır.

Çalışmada, literatürde birçok defa yararlanılmış olan ‘‘Ten Cate’nin demineralizasyon solüsyonu’’nun içeriği esas alınmıştır [248]. Bu solüsyon içeriği çalışmamıza benzer çalışmalarda da kullanılmıştır [249]. Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde hazırlanan demineralizasyon solüsyonu; 2,2 mM CaCl_2 (kalsiyum klorür), 2,2 mM NaH_2PO_4 (mono sodyum fosfat), 0,05 M CH_3COOH (asetik asit) içeriklidir. 1,0 M KOH (potasyum hidroksit) ile 4,4’ e ayarlanmıştır.

Demineralizasyon solüsyonunun hazırlanmasında, Sigma-Aldrich (Merck, Almanya) marka laboratuvar kimyasalları kullanılmıştır. Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde bulunan manyetik karıştırıcı (Dahian, Güney Kore) ile solüsyonun homojenizasyonu sağlanmıştır (Resim 3.7).



Resim 3.7. Manyetik karıştırıcı ile demineralizasyon solüsyonunun hazırlanması

3.6. pH siklusu

Kontrol ve deney gruplarında yer alan deney materyali uygulanmış 48 adet örneğe; ağız ortamında gün boyu oluşan pH değişikliklerini taklit etmek amacıyla, pH siklusu 7 gün boyunca uygulanmıştır [226]. pH siklusta Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde hazırlanan demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarından yararlanılmıştır. Solüsyonların hazırlanmasında, literatürde birçok defa kullanılmış olan demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarının içeriği esas alınmıştır [210, 249-253]. pH siklusunda kullanılan demineralizasyon solüsyonu, dentin örneklerinin demineralizasyon prosedüründeki solüsyon ile aynı içeriktedir.

Hazırlanan remineralizasyon solüsyonu; 1,5 mM CaCl_2 , 0,9 mM Na_2HPO_4 , 0,15 mM KCl (potasyum klorür) içeriklidir. Solüsyonun pH'ı, pH metre cihazı (Mettler Toledo, İsviçre) kullanılarak 7,0'ye ayarlanmıştır (Resim 3.8).



Resim 3.8. pH metre

Örnekler, vücut ısısını taklit etmek amacıyla Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında bulunan 37 °C'ye ayarlanmış etüv (Nüve, Ankara, Türkiye) içerisine yerleştirilmiştir (Resim 3.9). Bir döngü 24 saat sürmüştür ve 7 gün boyunca tekrar edilmiştir. Örnekler;

- 3 saat demineralizasyon solüsyonunda,
- 2 saat remineralizasyon solüsyonunda,
- 3 saat demineralizasyon solüsyonunda,
- 16 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir [253].



Resim 3.9. Etüv

Solüsyonlar her gün taze olarak hazırlanmıştır ve değiştirilmiştir. Her bir örnek 15 ml solüsyon içeren kapaklı cam kaplar içinde bekletilmiştir (Resim 3.10). Demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonları için ayrı kaplar kullanılmıştır. Solüsyonların tazelenmesi sırasında kaplar yıkanmış ve kurulanmıştır.



Resim 3.10. Etüv içerisinde bekletilen örnekler

3.7.Çalışma Gruplarında Deney Materyallerinin Uygulanması

Her bir diştten elde edilen ve demineralizasyon solüsyonunda bekletilen üç örnekten birine, kontrol grubu olarak GDF uygulaması yapılmıştır. Kalan iki örneğin birine GDF ve KI uygulamaları yapılmış, diğer örneğe ise GDF ve GSH kombinasyonu uygulanmıştır.

1. Grup (kontrol grubu): GDF solüsyonu (SDI Riva Star-Step 1, SDI Dental Ltd. Avusturalya) üreticinin önerdiği şekilde uygulanmıştır (n=16).
2. Grup: GDF (SDI Riva Star-Step 1, SDI Dental Ltd. Avusturalya) uygulamasının ardından KI (SDI Riva Star-Step 2, SDI Dental Ltd. Avusturalya) üreticinin önerdiği şekilde uygulanmıştır (n=16).
3. Grup: GDF'nin içerisine ağırlıkça %5'lik GSH (Honor İlaç Sanayi Ltd. Türkiye) eklenerek hazırlanan solüsyon uygulanmıştır (n=16).

3.7.1.Gümüş Diamin Florür Uygulaması

Üretici firmanın talimatıyla 1 damla GDF solüsyonu ile 5 adet örneğe uygulama yapılmıştır. Uygulama sırasında mikro fırçalar kullanılmıştır. GDF solüsyonuna mikro fırçanın uç kısmı tamamen daldırılmıştır (Resim 3.11). Ardından uç kısım 2-3 dakika kadar örnek yüzeylerine dairesel hareketlerle temas ettirilmiştir. Bir dakika kadar beklendikten sonra hava-su spreyi ile örnekler kurulanmıştır.



Resim 3.11. GDF Uygulaması

3.6.2.Gümüş Diamin Florür ve Potasyum İyodür Uygulaması

GDF solüsyonunun örnek yüzeyleri ile temasının hemen ardından KI uygulaması gerçekleştirilmiştir. Üretici firmanın talimatıyla 2 damla KI solüsyonu ile 5 adet örneğe uygulama yapılmıştır. Temiz bir mikro fırça solüsyona tamamen daldırılmıştır. Ardından örnek yüzeylerine KI solüsyon uygulanmıştır. Örnek yüzeylerinde oluşan kremsi çökeltinin rengi berraklaşana kadar dairesel hareketlerle KI solüsyonunu uygulamaya devam edilmiştir (Resim 3.11). Ardından hava-su spreyi ile örnekler kurulanmıştır.



3.12. GDF'nin ardından KI Uygulaması

3.6.3.Gümüş Diamin Florür ve Glutasyon Kombinasyonu Uygulaması

GDF+GSH çözeltisi, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde hazırlanmıştır. Çözelti, herhangi bir tortu kalıntısı kalmayana kadar vorteks tüp karıştırıcı (Velp Zx3 Vortex, İtalya) (Resim 3.13) ile hazırlanmıştır. Ardından sonikatör (Alex Makine, İstanbul, Türkiye) (Resim 3.14) ile ultrasonik homojenizasyon sağlanmıştır. Hazırlanan çözelti ışık geçirmez şişede saklanmıştır.



Resim 3.13. Vorteks tüp karıştırıcı



Resim 3.14. Sonikatör

GDF+GSH çözeltisi, GDF grubunda gerçekleştiren prosedürlere benzer şekilde örnekler üzerinde uygulanmıştır. 1 damla GDF+GSH solüsyonu ile 5 adet örneğe uygulama yapılmıştır. Uygulama sırasında tek kullanımlık mikro fırçalar kullanılmıştır. GDF+GSH solüsyonuna mikro fırçanın uç kısmı tamamen daldırılmıştır (Resim 3.15). Ardından uç kısım 2-3 dakika kadar örnek yüzeylerine dairesel hareketlerle temas ettirilmiştir. Bir dakika kadar beklendikten sonra hava-su spreyi ile örnekler kurulanmıştır.



Resim 3.15. GDF+GSH kombinasyonu uygulaması

3.7.Renk Ölçümleri

Renk koordinatlarını ($L^* a^* b^*$) ölçmek için Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarında bulunan bir kolorimetre (Konica Minolta Chroma Meter CR-321, Osaka, Japonya) kullanılmıştır (Resim 3.16). Kullanılan cihaz 3 mm'lik ölçüm alanı içerirken 45° çevresel aydınlatması ve 0° görüş açısı mevcuttur [254]. Ölçüm yapılan yüzeyin aydınlatılmasını sağlayan atımlı ksenon ark lamba içerir. Cihaz küçük hataları, otomatik olarak telafi edebilmektedir ve ölçümleri, $L^*a^*b^*$ veya XYZ tristimulus şeklinde verebilmektedir.



Resim 3.16. Renk ölçümünde kullanılan kolorimetre

Ölçümlerden önce kolorimetre cihazının $L^*a^*b^*$ değerleri için kalibrasyonları sağlanmıştır ($L^*=93,05$, $a^*=-4,84$, $b^*=6,95$). Kalibrasyon plakası ile her 10 örnekte tekrar kalibrasyon sağlanmıştır (Resim 3.17).



Resim 3.17. Kalibrasyon plakası ve kolorimetre

Ölçümler, içi gri fon kartonu kaplı ve üst kısmında %95 oranında gün ışığını taklit edebilen flüoresan lamba (Activa 172 Sylvania, Erlangen, Almanya) bulunduran bir kutu içerisinde gerçekleştirilmiştir (Resim 3.18).



Resim 3.18. Ölçüm düzeneği

Bu çalışmada 2 farklı aşamada renk ölçümü yapılmıştır. Bu ölçümler sırasıyla

1. Demineralizasyon solüsyonu ile demineralize edilen dentin örneklerinde (n=48),
2. pH siklusu sonrası dentin örneklerinde (n=48) gerçekleştirilmiştir. pH siklusunda geçen 7 günlük sürenin, renklenmeyi gözlemlenmede yeterli olduğunu düşünülmektedir. GDF uygulamasının ardından maksimum renk değişimi 12. saatte gerçekleşmektedir [191].

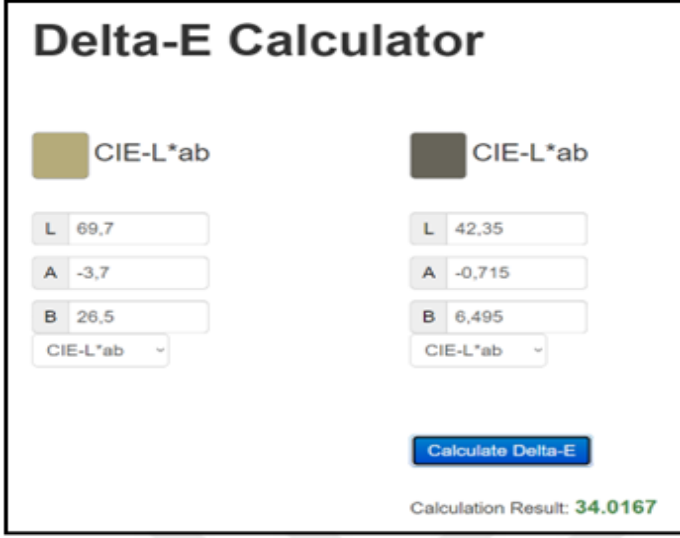
Ölçümler cihazın ölçüm ucu örnek yüzeylerine tam dik açıyla yerleşecek şekilde yapılmıştır (Resim 3.19). Her örnekte ölçüm 3 kez tekrarlanmıştır.



Resim 3.19. Ölçüm ucu ve örnek yüzeyi

Renk değişiklikleri, CIE L* a* b* renk sisteminden ΔE ile karakterize edilmiştir. ΔE değerlerin Eş. 3.1’de verilen eşitlik ile hesaplanmasından sonra çevrimiçi dönüştürücüden (Delta-E Calculator) yararlanılarak veriler doğrulanmıştır (Resim 3.20).

$$\Delta E = \sqrt{(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2} \quad (3.1.) \quad [245]$$



Delta-E Calculator

Two color patches are shown, each with its CIE-L*a*b* values:

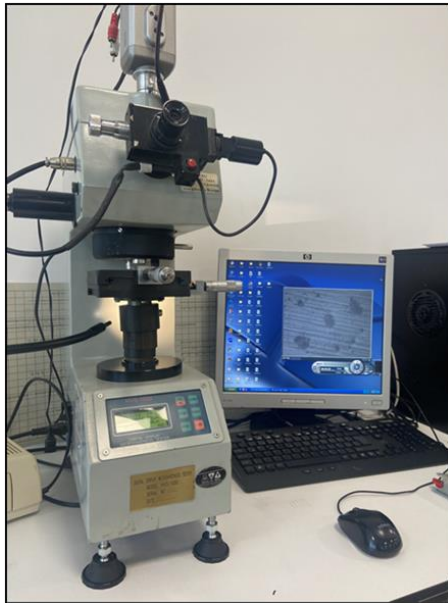
Color Patch	L	A	B
Light Patch (Left)	69,7	-3,7	26,5
Dark Patch (Right)	42,35	-0,715	6,495

Below the patches are dropdown menus for 'CIE-L*a*b' and a 'Calculate Delta-E' button. The calculation result is displayed as **34.0167**.

Resim 3.20. Çevrimiçi dönüştürücü

3.8.Yüzey Sertliği Ölçümleri

Ölçümler, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarında bulunan mikrosertlik test cihazı (HVS 1000 Microhardness Tester, Bulut Makine, İstanbul, Türkiye) ile gerçekleştirilmiştir (Resim 3.21).

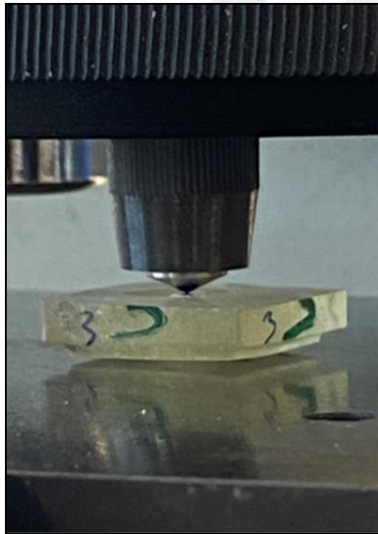


Resim 3.21. Mikrosertlik test cihazı ve görüntülerin aktarıldığı bilgisayar

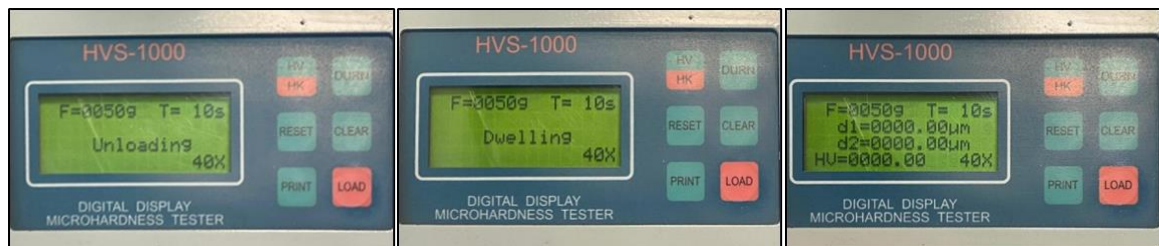
Mikrosertlik cihazında; uygulanacak yük miktarı 50 gramlık kuvvet, uygulama zamanı (dwelling time) 10 saniye olarak ayarlanmıştır. Her örnekte, 10 saniye boyunca 50 gramlık kuvvet altında farklı noktalardan yüzeye dik konumlandırılmış ‘‘vickers’’ ucuyla üç adet ölçüm yapılmıştır (Resim 3.22 ve Resim 3.23). Yapılan çalışmalarda diş yüzeyinde kalıcı bir iz oluşması için 10 saniyelik bir girinti süresinin yeterli olduğunu gösterilmiştir [255]. Bu iz görüntüleri cihaza bağlı mikroskopla 40 defa büyütülerek hesaplamalarda kullanılmıştır (Resim 3.24a ve Resim 2.24b). Kenar bölgelerde ölçüm yapılmasından kaçınılarak ve mikroskopta bir önceki ölçüm izleri aranarak yeni ölçümler bu izlere en yakın aralıkta yapılmıştır.

Bu çalışmada 3 farklı aşamada mikrosertlik ölçümü yapılmıştır. Bu ölçümler sırasıyla;

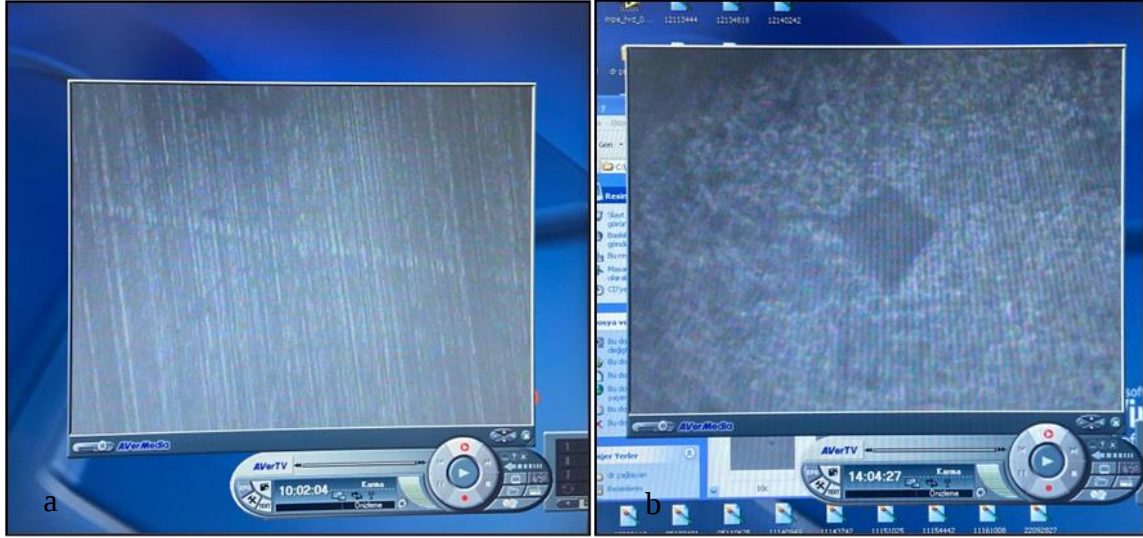
1. Her bir diştten elde edilen birer adet sağlam örnekte (n=16),
2. Demineralizasyon solüsyonu ile demineralize edilen örneklerde (n=48),
3. pH siklusu sonrası dentin örneklerinde (n=48) gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.22. Cihazın tablasına yerleştirilmiş örnek, vickers ucu ve yükleme

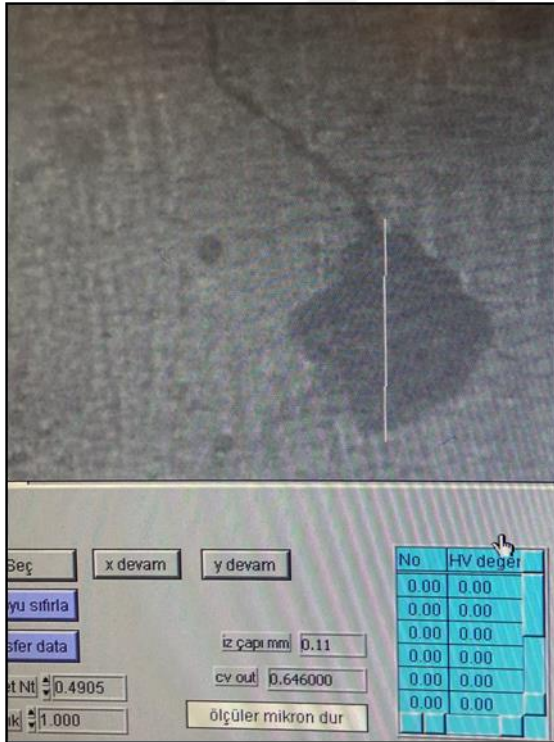


Resim 3.23. 10 saniye boyunca 50 gramlık kuvvet ve 40 defa büyütme ile yapılan ölçüm



Resim 3.24. (a) Sağlam dentin örneğinde 40 defa büyütme ile elde edilen mikroskop görüntüsü, (b) Demineralize dentin örneğinde 40 defa büyütme ile elde edilen mikroskop görüntüsü

Hesaplamalar bilgisayar programı (Mares ImPA_hrd_061.vi) ile yapılmıştır ve elde edilen sonuçlar Vickers Sertlik Ölçeği (Vickers Hardness Number = VHN) cinsinden örneklerin mikrosertlikleri olarak kaydedilmiştir (Resim 3.25).



Resim 3.25. Bilgisayar programı ile mikrosertlik ölçümlerinin hesaplanması

3.10.İstatistiksel Yöntem

Çalışmada verilerin tanımlayıcı istatistikleri (sayı, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum) verilmiştir. Normallik varsayımı Shapiro Wilk testi ile ve varyans homojenliği Levene testi ile kontrol edilmiştir. Normal dağılıma sahip olan iki bağımsız grubun ortalamalarının karşılaştırılması için ‘‘Bağımsız Örneklem T’’ testi; normal dağılıma sahip olmayan gruplar için ise ‘‘Mann Whitney U’’ testi uygulanmıştır. Normal dağılıma sahip olan üç ve daha çok bağımsız grubun ortalamalarının karşılaştırılması için ‘‘Anova’’, normal dağılımı sahip olmayan gruplar için ‘‘Kruskal Wallis’’ testi yapılmıştır. Normal dağılıma sahip olan üç ve daha çok bağımlı grubun ortalamalarının karşılaştırılması için ‘‘Tekrarlı Ölçümler Anova’’, normal dağılım olmadığında ‘‘Friedman’’ testi yapılmıştır. Farkı yaratan grup ya da grupların belirlenmesi için ‘‘Post Hoc Bonferroni’’ ve ‘‘Düzeltilmiş Bonferroni’’ analizlerinden yararlanılmıştır. Analizler IBM SPSS 25 programında gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Renk Ölçümü Bulguları

Renk ölçümleri; demineralizasyon prosedürünün ve pH siklusunun ardından tüm çalışma gruplarında gerçekleştirilmiştir. Demineralizasyon prosedürü sonrası gerçekleştirilen ölçümler ‘‘başlangıç renk ölçümü’’, pH siklusu sonrası gerçekleştirilen ölçümler ‘‘son renk ölçümü’’ olarak ele alınmış ve ΔE^* ’nin hesaplanmasında bu veriler kullanılmıştır.

Çalışma gruplarının renk ölçümlerine ait ΔE^* , L^* başlangıç ve L^* son verileri Çizelge 4.1.’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışma gruplarının farklı ölçüm zamanlarına göre ΔE^* ve L^* ölçümlerinin dağılımı

Gruplar		n	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma	Medyan
GDF	ΔE	16	14,30	63,13	38,40	12,70	40,46
	L^* başlangıç	16	51,00	88,40	68,69	9,84	65,20
	L^* son	16	25,17	54,56	35,78	7,86	33,19
GDF+KI	ΔE	16	9,14	45,88	25,45	11,17	22,19
	L^* başlangıç	16	43,00	93,20	66,54	12,77	68,28
	L^* son	16	47,03	75,97	56,76	7,39	55,85
GDF+GSH	ΔE	16	19,66	64,07	38,49	13,15	36,77
	L^* başlangıç	16	47,73	93,97	67,62	12,01	69,17
	L^* son	16	26,39	54,96	37,96	8,26	36,85

ΔE^* : Renk değişimi, L^* : Parlaklık

Elde edilen verilere göre ΔE değerinin GDF grubu ortalaması $38,40 \pm 12,70$, GDF+KI grubu ortalaması $25,45 \pm 11,17$, GDF+GSH grubu ortalaması $38,49 \pm 13,15$ olarak hesaplanmıştır.

Başlangıç renk ölçümünde L^* değerinin GDF grubundaki ortalaması $68,69 \pm 9,84$, GDF+KI grubundaki ortalaması $66,54 \pm 12,77$, GDF+GSH grubundaki ortalaması $67,62 \pm 12,01$; son

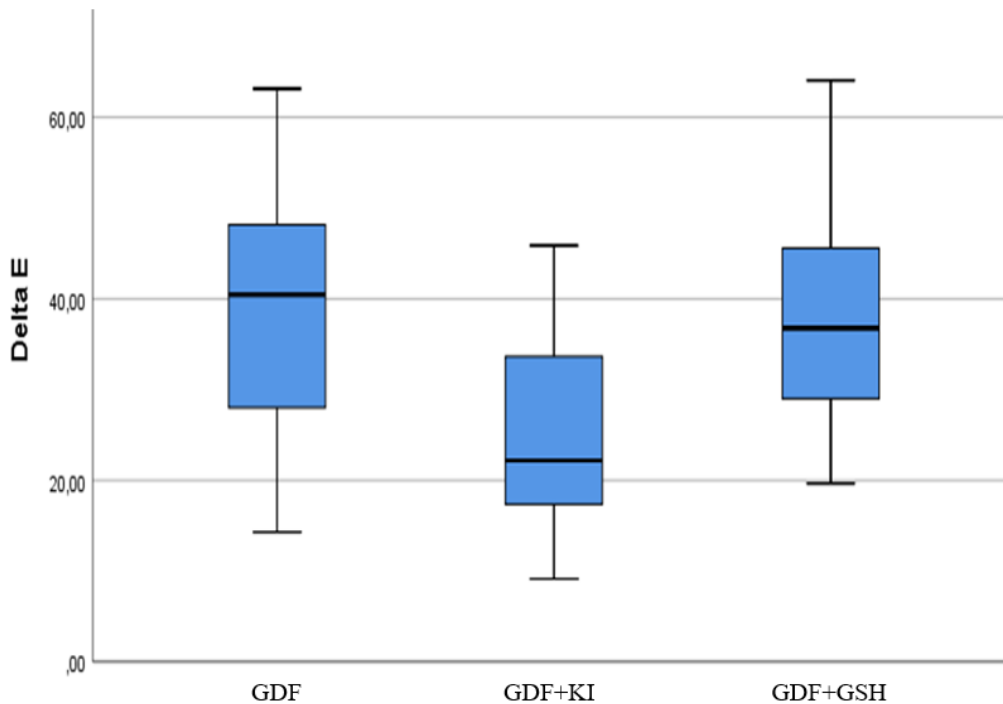
renk ölçümde L* değerinin GDF grubundaki ortalaması $35,78 \pm 7,86$, GDF+KI grubundaki ortalaması $56,76 \pm 7,39$, GDF+GSH grubundaki ortalaması $37,96 \pm 8,26$ olarak saptanmıştır. Çalışma gruplarına göre ΔE^* ortalamalarının karşılaştırılmasında Anova testi kullanılmıştır. Analizler sonucunda çalışma gruplarına göre ΔE^* ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Çalışma gruplarına göre ΔE^* ortalamalarının karşılaştırılması

	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma	Medyan	Test İstatistiği	p
ΔE^*	GDF	38,40	12,70	40,46	5,890	0,005*
	GDF+KI	25,45	11,17	22,19		
	GDF+GSH	38,49	13,15	36,77		

ΔE^* : Renk değişimi, * $p < 0,05$

Bonferroni testlerine göre GDF+KI ile GDF ve GDF+GSH grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p = 0,014$ ve $p = 0,014$). GDF ve GDF+GSH gruplarının ΔE^* ortalamaları GDF+KI grubunun ortalamasından yüksektir (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Çalışma grupları için ΔE^* (renk değişimi) değerlerine ait kutu grafiği

Çalışma grupları için farklı ölçüm zamanlarına göre L* ölçümlerinin arasındaki farkların incelenmesinde Bağımlı Örneklem T ve Wilcoxon İşaret Sıra testleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda GDF, GDF+KI ve GDF+GSH gruplarında zaman göre L ölçümlerinin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlenmiştir ($p<0,05$). GDF, GDF+KI ve GDF+GSH gruplarında için başlangıç L* ölçüm ortalamalarının son L ölçüm ortalamasından yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Çalışma grupları için farklı ölçüm zamanlarına göre L* (parlaklık) ölçümlerinin karşılaştırılması

Gruplar	L*	Ortalama	Standart Sapma	Medyan	Sıra Ortalama	Test İstatistiği	p
GDF	Başlangıç	68,69	9,84	65,20	8,50	-3,516	0,000*
	Son	35,78	7,86	33,19	0,00		
GDF+KI	Başlangıç	66,54	12,77	68,28		2,768**	0,014*
	Son	56,76	7,39	55,85			
GDF+GSH	Başlangıç	67,62	12,01	69,17		7,581**	0,000*
	Son	37,96	8,26	36,85			

L*:parlaklık, * $p<0,05$ ve **Bağımlı Örneklem T testi

Çalışma gruplarına göre başlangıç ve son renk ölçümlerinde L* değerlerinin karşılaştırılmasında Anova ve Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Analizler sonucunda son renk ölçümlerinde çalışma gruplarına göre L* değeri ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır ($p<0,05$). Son renk ölçümünde elde edilen L* değerleri ile yapılan Bonferroni testlerine göre; GDF+KI ile GDF ve GDF+GSH grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,001$ ve $p<0,001$). GDF ve GDF+GSH gruplarının L* değeri ortalamaları GDF+KI grubunun L* değeri ortalamasından düşüktür (Çizelge 4.4)

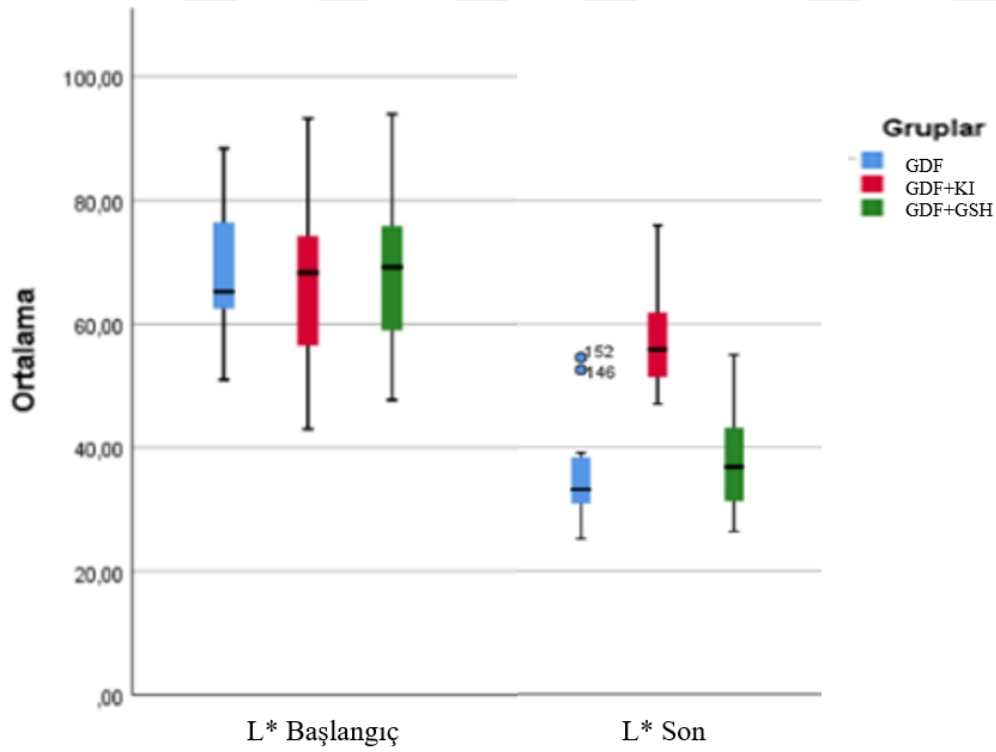
Başlangıç ölçümlerinde çalışma gruplarına göre L* değeri ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Başlangıç ve son renk ölçümleri için çalışma gruplarına göre L* (parlaklık) değerlerinin karşılaştırılması

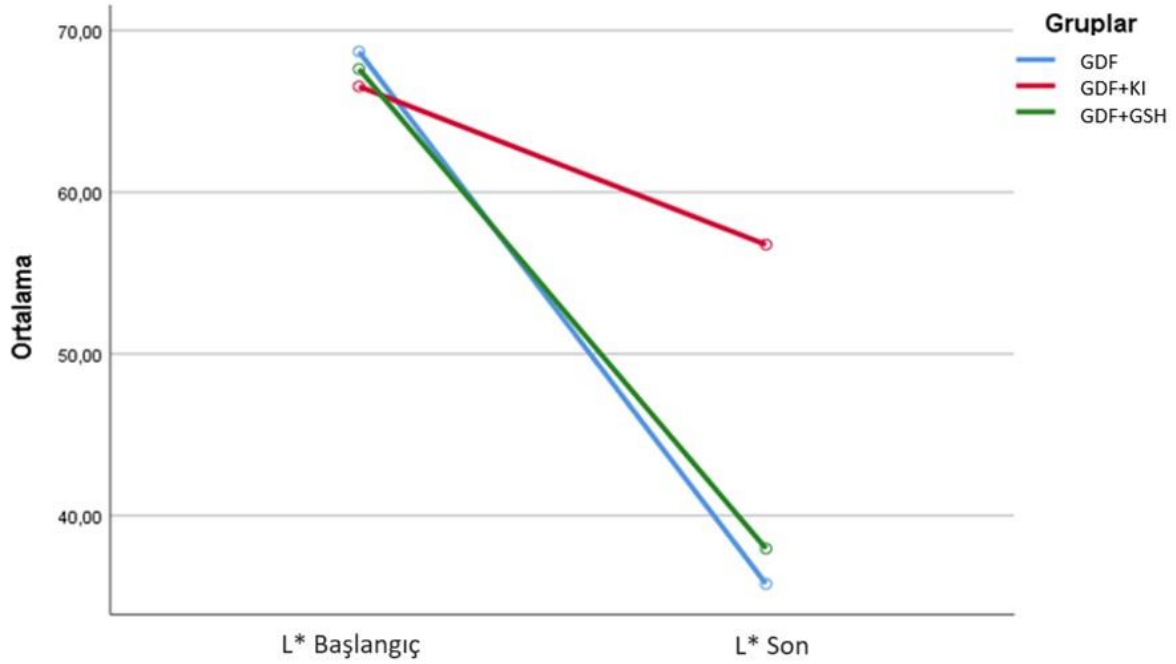
L*	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma	Medyan	Sıra Ortalama	Test İstatistiği	p
Başlangıç	GDF	68,69	9,84	65,2		0,138**	0,872
	GDF+KI	66,54	12,77	68,28			
	GDF+GSH	67,62	12,01	69,17			
Son	GDF	35,78	7,86	33,19	15,81	26,499	0,000*
	GDF+KI	56,76	7,39	55,85	39,13		
	GDF+GSH	37,96	8,26	36,85	18,56		

L*: Parlaklık, *p<0,05 ve **Anova testi

Çalışma gruplarında başlangıç ve son renk ölçümleri için L* değerlerine ait kutu ve çizgi grafikleri Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te görülmektedir.



Şekil 4.2. Çalışma gruplarında başlangıç ve son renk ölçümlerinde L* (parlaklık) değerlerine ait kutu grafiği



Şekil 4.3. Çalışma gruplarında başlangıç ve son renk ölçümlerinde L* (parlaklık) değerlerine ait çizgi grafiği

4.2.Yüzey Sertliği Ölçümü Bulguları

Bu çalışmada 3 farklı aşamada yüzey sertliği (mikrosertlik) ölçümü yapılmıştır. Bu ölçümler sırasıyla;

1. Çalışma öncesinde (başlangıç mikrosertlik ölçümü),
2. Demineralizasyon solüsyonu sonrasında (demineralizasyon mikrosertlik ölçümü),
3. pH siklusu sonrasında (remineralizasyon mikrosertlik ölçümü) gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen sonuçlar VHN (Vickers Sertlik Ölçeği, Vickers Hardness Number) cinsinden kaydedilmiştir.

Çalışma grupları ve farklı ölçüm zamanlarına göre mikrosertlik ölçümlerine ait tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4.5.'te verilmiştir. GDF grubuna ait bilgiler şu şekildedir: Başlangıç mikrosertlik ortalamasının $37,33 \pm 6,45$ VHN, demineralizasyon döneminde mikrosertlik ortalamasının $14,54 \pm 4,53$ VHN ve remineralizasyon döneminde mikrosertlik ortalamasının $23,80 \pm 8,34$ VHN olduğu hesaplanmıştır. GDF+KI grubuna ait bilgiler şu şekildedir:

Başlangıç mikrosertlik ortalamasının $37,33 \pm 6,45$ VHN, demineralizasyon döneminde mikrosertlik ortalamasının $15,30 \pm 7,14$ VHN ve remineralizasyon döneminde mikrosertlik ortalamasının $23,32 \pm 7,27$ VHN olduğu tespit edilmiştir. GDF+GSH grubuna ait bilgiler şu şekildedir: Başlangıç mikrosertlik ortalamasının $37,33 \pm 6,45$ VHN, demineralizasyon döneminde mikrosertlik ortalamasının $15,16 \pm 6,16$ VHN ve remineralizasyon döneminde mikrosertlik ortalamasının $22,31 \pm 9,64$ VHN olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Çalışma grupları ve farklı ölçüm zamanlarına göre VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerinin dağılımı

Gruplar		n	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma	Medyan
GDF	Başlangıç	16	21,81	46,33	37,33	6,45	37,48
	Demineral	16	8,22	23,87	14,54	4,53	14,21
	Remineral	16	11,69	44,01	23,80	8,34	21,32
GDF+KI	Başlangıç	16	21,81	46,33	37,33	6,45	37,48
	Demineral	16	7,80	28,72	15,30	7,14	12,78
	Remineral	16	11,73	39,11	23,32	7,27	22,09
GDF+GSH	Başlangıç	16	21,81	46,33	37,33	6,45	37,48
	Demineral	16	6,51	30,46	15,16	6,16	14,69
	Remineral	16	12,54	42,74	22,31	9,64	18,01

Demineral: Demineralizasyon dönemi, Remineral: Remineralizasyon dönemi.

Çalışma grupları için farklı ölçüm zamanlarına göre mikrosertlik ölçümlerinin arasındaki farkların incelenmesinde Tekrarlı Ölçümler Anova ve Friedman testleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda GDF, GDF+KI ve GDF+GSH gruplarında farklı ölçüm zamanlarına göre mikrosertlik ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Çalışma grupları için farklı ölçüm zamanlarına göre VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerinin karşılaştırılması

Gruplar		Ortalama	Standart Sapma	Medyan	Sıra Ortalama	Test İstatistiği	p
GDF	Başlangıç	37,33	6,45	37,48		55,645***	0,000*
	Demineral	14,54	4,53	14,21			
	Remineral	23,80	8,34	21,32			
GDF+KI	Başlangıç	37,33	6,45	37,48	2,94	28,125	0,000*
	Demineral	15,30	7,14	12,78	1,06		
	Remineral	23,32	7,27	22,09	2,00		
GDF+GSH	Başlangıç	37,33	6,45	37,48	2,94	21,875	0,000*
	Demineral	15,16	6,16	14,69	1,38		
	Remineral	22,31	9,64	18,01	1,69		

Demineral: Demineralizasyon dönemi, Remineral: Remineralizasyon dönemi

* $p < 0,05$ ve ***Tekrarlı Ölçümler Anova testi

GDF için yapılan Bonferroni testlerine göre; başlangıç mikrosertlik ölçümü ile demineralizasyon ve remineralizasyon mikrosertlik ölçümleri arasında ve demineralizasyon ile remineralizasyon mikrosertlik ölçümlerinin birbiri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,001$, $p < 0,001$ ve $p < 0,001$). Başlangıç mikrosertlik ölçüm ortalaması, demineralizasyon ve remineralizasyon mikrosertlik ölçümlerinin ortalamalarından yüksektir. Remineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalaması demineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalamasından yüksektir.

GDF+KI için yapılan Bonferroni testlerine göre; başlangıç mikrosertlik ölçümü ile demineralizasyon ve remineralizasyon mikrosertlik ölçümleri arasında ve demineralizasyon ile remineralizasyon mikrosertlik ölçümlerinin birbiri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ($p < 0,001$, $p = 0,024$ ve $p = 0,024$). Başlangıç mikrosertlik ölçüm ortalaması, demineralizasyon ve remineralizasyon mikrosertlik ölçümlerinin ortalamalarından yüksektir. Remineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalaması demineralizasyon ölçüm ortalamasından yüksektir.

GDF+GSH için yapılan Bonferroni testlerine göre işlem sonrası başlangıç ile demineralizasyon ve remineralizasyon ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar

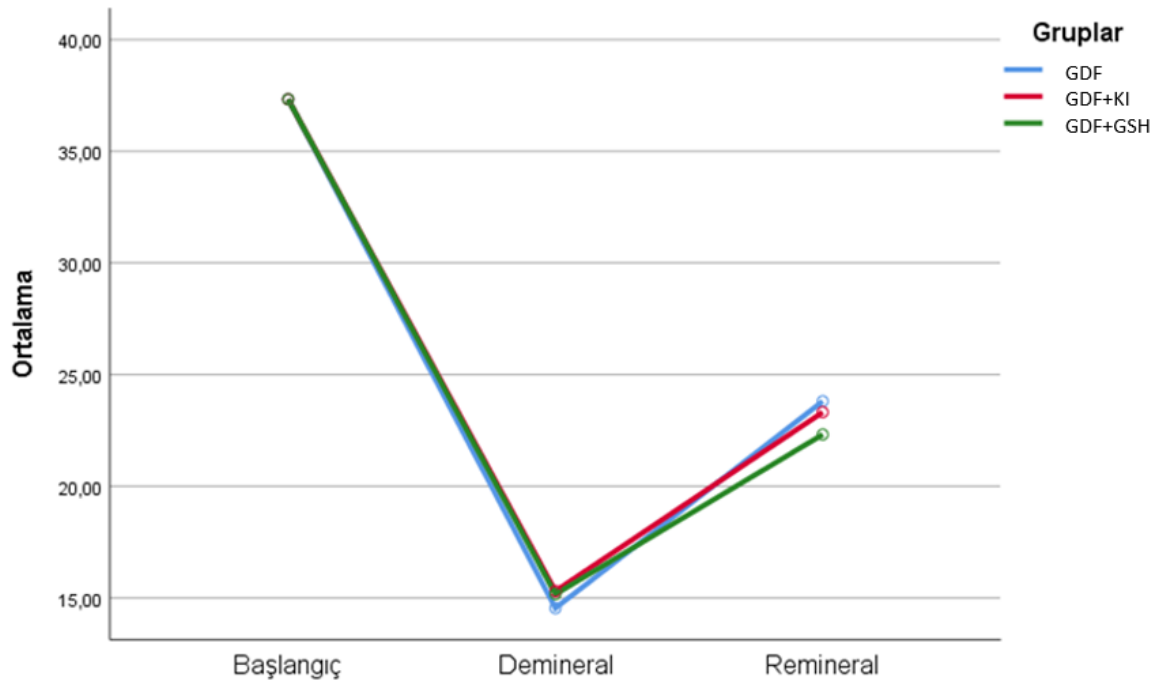
belirlenmiştir ($p<0,001$ ve $p=0,001$). Başlangıçta elde edilen mikrosertlik ölçüm ortalaması demineralizasyon ve remineralizasyon ölçümlerinin ortalamalarından yüksektir. Remineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalaması demineralizasyon ölçüm ortalamasından yüksektir (Çizelge 4.6), fakat fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Farklı ölçüm zamanları için çalışma gruplarına göre mikrosertlik ölçümleri arasındaki farkların araştırılmasında Anova ve Kruskal Wallis testleri uygulanmıştır. Analizler sonucunda farklı ölçüm zamanları için çalışma gruplarına göre mikrosertlik ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar elde edilmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.7) (Şekil 4.4) (Şekil 4.5).

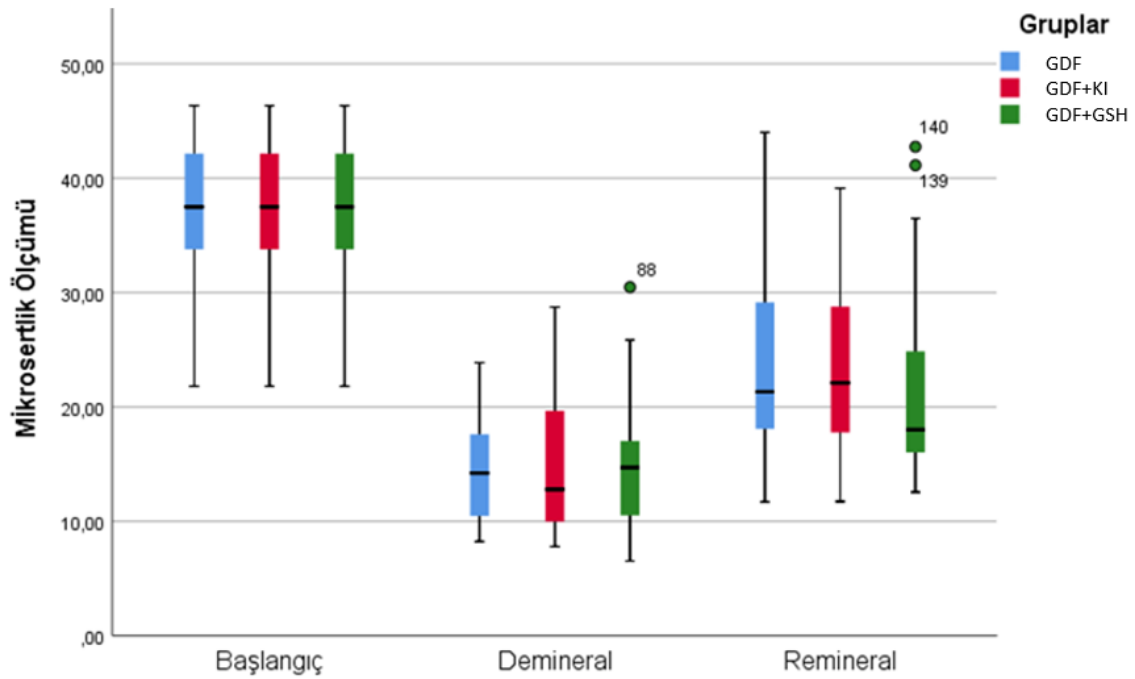
Çizelge 4.7. Farklı ölçüm zamanları için çalışma gruplarına göre VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerinin karşılaştırılması

	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma	Medyan	Sıra Ortalama	Test İstatistiği	P
Başlangıç	GDF	37,33	6,45	37,48		0,000**	1,000
	GDF+KI	37,33	6,45	37,48			
	GDF+GSH	37,33	6,45	37,48			
Demineral	GDF	14,54	4,53	14,21	24,63	0,094	0,954
	GDF+KI	15,30	7,14	12,78	23,69		
	GDF+GSH	15,16	6,16	14,69	25,19		
Remineral	GDF	23,80	8,34	21,32	26,13	1,150	0,563
	GDF+KI	23,32	7,27	22,09	25,94		
	GDF+GSH	22,31	9,64	18,01	21,44		

* $p<0,05$ ve ** Anova testi



Şekil 4.4. Çalışma grupları ve farklı ölçüm zamanları için VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerine ait çizgi grafiği



Şekil 4.5. Çalışma grupları ve farklı ölçüm zamanları için VHN cinsinden mikrosertlik ölçümlerine ait kutu grafiği

5. TARTIŞMA

Diş çürükleri, dünya genelinde en yaygın kronik hastalıklardan biridir; bireyler yaşamları boyunca bu hastalığa karşı risk altındadır [256]. İlerlemiş çürük lezyonlarının restoratif tedavisi, lezyonu kaldırmayı ve ardından form ve işlevi geri kazanmak için bir restoratif materyalin yerleştirilmesini gerektirir. Restoratif dental tedavilerin mümkün olmadığı farklı klinik durumlarda (örneğin yaş, tedavi kooperasyonu, dental tedavilere erişim güçlüğü vs.), alternatif tedavi seçenekleri düşünülebilir [4].

GDF; geleneksel tedavinin mümkün olmadığı durumlarda alternatif bir tedavi seçeneğidir. GDF; florürün bilinen remineralize edici etkisini gümüşün antibakteriyel özelliği ile birleştirerek, aktif ve kaviteli çürük lezyonlarının durdurulmasında kullanılan bir ajan hâline gelmiştir [257]. Fakat GDF kaynaklı koyu renklenmeler, hasta ve ebeveyn kabulünü azaltabilmektedir [13].

Bu tez çalışmasında; GDF'ye ilave edilen GSH'nın, GDF renklenmesine ve remineralizasyonuna etkisinin KI ile karşılaştırılmalı değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Süt birinci molar ve süt ikinci molar dişleri arasında inorganik ve organik yapı bileşenleri açısından önemli bir ayrım bulunmamaktadır [35]. Literatürdeki in vitro çalışmalar genellikle süt ikinci molar dişler ile yürütülmüştür; bunun nedeni süt birinci molar dişlere kıyasla daha fazla kullanılabilir yüzey alanına sahip olmalarıdır [50,258]. Bu sebeple mevcut çalışma, süt ikinci molar dişler üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Çekilmiş dişlerin dentin yüzeylerinde çalışılan in vitro deneylerde, en yaygın kullanılan saklama solüsyonları arasında formalin, timol ve sodyum azid yer almaktadır [259,260]. Gümüş diamin florür renklenmesi üzerine çekilmiş dişlerle yapılan in vitro çalışmalarda ise; sodyum klorür içeren fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS), yapay tükürük, distile su ve %0,1'lik timol içeren distile su bekletme solüsyonları kullanılmıştır [192,261-264]. PBS ve yapay tükürük kullanılan çalışmalarda; GDF'nin, gümüş klorür oluşturmak üzere sodyum veya potasyum klorür ile reaksiyona girdiği bulunmuştur [192,261]. Ayrıca mikrosertlik ve bağlanma testleri üzerinde yapılan çalışmalar, uzun süreli saklama gerektiğinde %0.1'lik timol içeren çözeltilerin tercih edildiğini göstermektedir [260]. Bu tez çalışmasında,

literatürdeki bilgilere dayanarak örneklerin saklama ortamı olarak %0.1'lik timol içeren distile su kullanılmıştır.

Dentin ve minenin organik ve inorganik bileşimi, bireyler arasında değişiklik gösterebilir. Ayrıca, aynı bireyin farklı dişlerindeki boyut ve şekil farklılıkları, dentin tübüllerinin dizilimini minimal düzeyde etkileyebilir [37]. Mevcut çalışmada, gruplar arası standardizasyon sağlamak amacıyla aynı diştten dört kesit alınmıştır, ardından bir kesit “başlangıç mikrosertlik değeri” ölçümünde kullanılırken diğer üç kesit üç farklı çalışma grubuna dağıtılmıştır. Böylece deneyler aynı diş üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Klinik ortama en yakın şartların oluşturulması amaçlanarak doğal dentin çürüklü örneklerinin kullanıldığı çalışmalarda, aynı tip lezyon derinliğinin sağlanamaması bir dezavantaj olarak ortaya çıkabilmektedir. Örnekler arasında standardizasyonun sağlanması amacıyla in vitro çalışmalarda genellikle kimyasal yapay çürük modelleri kullanılmaktadır. Bir derlemeye göre; in vitro çalışmalar arasında çoğu çalışmada (257/294, %87), asit tampon ve jellerin kullanıldığı modeller (159/257, %62) veya pH siklusu (98/257, %38) gibi kimyasal modeller kullanılmıştır [209]. Asit tamponların kullanıldığı yapay çürük modeli diğer teknikler ile karşılaştırıldığında; uygulama kolaylığı ve teknik hassasiyetinin az olması sebebiyle tercih edilmektedir. Bu modelle oluşturulan yapay dentin çürüğü ve doğal dentin çürüğünün yüzeyel tabakaları karşılaştırıldığında, lezyonların mineral içerikleri bakımından benzer yapı sergiledikleri görülmüştür [265]. pH siklus modelinin ise asit jel tekniğinden daha etkili olduğu ancak tüm yapay çürük oluşturma tekniklerinden daha ince bir tabakada etkili olduğu belirtilmiştir [210]. Bu sebeplerle demineralizasyon aşamasında asit tamponların kullanıldığı bir demineralizasyon solüsyonu kullanılmıştır.

Çalışma gruplarının kendi içinde mikrosertlik ölçümlerinin incelenmesi sonucunda her üç grupta da (GDF, GDF+KI ve GDF+GSH) başlangıç ve demineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlenmiştir ($p<0,001$) (Çizelge 4.6). Tüm çalışma gruplarında başlangıç mikrosertlik değeri ortalaması 37,33 VHN iken; demineralizasyon sonrası mikrosertlik değeri ortalamaları GDF grubunda 14,54 VHN, GDF+KI grubunda 15,30 VHN, GDF+GSH grubunda 15,16 VHN olarak bulunmuştur. Bu bulgular doğrultusunda, örnek yüzeylerinde yapay çürük lezyonları oluşturulduğu söylenebilir.

Farklı ölçüm zamanları için çalışma gruplarının mikrosertlik ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar elde edilmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.7) (Şekil 4.4) (Şekil 4.5). Bu bulgular doğrultusunda, örneklerin benzer şekilde demineralize edildiği ve yapay çürük lezyonlarında standardizasyonun sağlandığı söylenebilir.

Piyasadaki GDF ürünlerinde farklı GDF konsantrasyonları mevcuttur (Çizelge 2.3.). GDF'nin dentin organik içeriğine etkileri üzerine yapılan bir çalışmada; %38'lik GDF konsantrasyonunun, kolajenaz aktivitesinin inhibe edilmesinde ve kolajen bozulmasının önlenmesinde düşük konsantrasyonlara göre daha etkili olduğu gösterilmiştir [117]. İki prospektif randomize kontrollü çalışmada, konsantrasyonun çürük kontrolü üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak % 38'lik GDF'nin çürükleri durdurmada % 12'lik GDF'den daha etkili olduğu bulunmuştur [115,116]. Genellikle çürük kontrolü amacıyla daha yüksek (%38) GDF konsantrasyonlarının kullanılması önerilmektedir [16]. Bu nedenle çalışmamızda %38'lik GDF içeriğine sahip SDI Riva Star-Step 1 (SDI Dental, Avusturalya) kullanılmıştır. Bu üründeki konsantrasyon, yaklaşık olarak %32 gümüş ve %6 flor iyonuna denktir ve ürün 53,760 ppm florür iyonu ve 324,922 ppm gümüş iyonu içermektedir [167,175,266].

Bu tez çalışmasında, benzer çalışmalarda da yararlanılan SDI Riva Star-Step 2 (SDI Dental, Avusturalya) kullanılmıştır [18,267,268]. Bu ürün, üretici talimatına göre ağırlıkça %58,3 potasyum iyodür içermektedir ve doymuş bir çözeltidir. Başka bir çalışmada da laboratuvar ortamında hazırlanmış doymuş KI çözeltisinden yararlanılmıştır [269]. GDF renklenmesini KI ile önlemeye çalışan bu çalışmalar daimi dişlerden elde edilen dentin örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda süt dişlerinden elde edilen dentin örnekleri kullanılmıştır.

GSH ilavesi ile GDF kaynaklı renklenmenin önlenmesi üzerine literatürde dört farklı çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalardan ilki, in vitro olarak çekilmiş sığır dişlerinde yapılmıştır ve ‘‘GSH, KI’e göre mine ve dentindeki renklenmeyi azaltmada daha etkilidir.’’ hipotezine ulaşılmıştır [20]. Diğer iki in vitro çalışmanın biri çekilmiş insan süt molar dişleri üzerinde, diğeri çekilmiş insan küçük azı dişleri üzerinde in vitro olarak gerçekleştirilmiştir [205,206]. Süt dişlerinin kullanıldığı in vitro çalışmada, ‘‘GDF+GSH kombinasyonu, renklenmeyi etkili bir şekilde azalttığı ve KI'ye alternatif olarak kullanılabileceği’’ tezi öne sürülmüştür. Bu çalışmada 25 mg GSH, üç damla GDF solüsyonuna eklenmiştir ve GSH yoğunluğu yüzde olarak belirtilmemiştir [205]. Literatürdeki son çalışma ise 6 aylık takipli bir klinik çalışmadır. Bu çalışma, 20 çocuk hastanın 60 adet aktif çürüklü anterior süt dişi

ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda; %20 GSH'ın %38 GDF ile kombinasyonunun, GDF'nin çürük durdurma potansiyelini etkilemeden renklenmesini azaltmada etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir [208]. GSH katılımının GDF biyokimyasal özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir in vitro çalışmada, ağırlıkça %5 GSH içeren GDF'nin, mevcut antibakteriyel etkisinin değişmediği gösterilmiştir. Ağırlıkça %10 veya %15 GSH ilavesinin ise GDF'nin antibakteriyel etkilerinde azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir [207]. Ağırlıkça %5 GSH içeren GDF'nin, renklenme önleme ve remineralizasyon potansiyeli açısından değerlendiren bir çalışma literatürde mevcut değildir. Bu sebeple mevcut çalışmada, ağırlıkça %5'lik GSH içeren GDF solüsyonu hazırlanmıştır ve kullanılmıştır.

Bu çalışmada, benzer bilimsel araştırmalarda sıklıkla yararlanılan "ph siklusu" yöntemi kullanılmıştır. ph siklusunda kullanılan demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarının hazırlanmasında, literatürde birçok defa kullanılmış olan içerikler esas alınmıştır [210,250-253]. Günlük yaşamda ağız içi pH seviyesinin gösterdiği değişiklikler, bu yöntem ile kolayca gerçekleştirilebilmektedir. Bu çalışma ile benzer tasarıma sahip diğer in-vitro çalışmalarda, 7 ve 14 günlük pH siklusları uygulamaya konmuştur [139,270]. Mevcut çalışmada da materyal uygulanmış örnekler, 7 gün boyunca pH siklusunda tutulmuşlardır. Ayrıca süt dişi dokularının kullanıldığı in-vitro çalışmalarda, pH siklusunun 7 günlük süreyi aşmaması tavsiye edilmektedir. Aksi takdirde örnekler aşınmakta ve lezyonun derinliği ayrıntılı şekilde izlenememektedir [218].

pH siklusunda geçen 7 günlük sürenin, renklenmeyi gözlemlemede yeterli olduğunu düşünülmektedir. GDF uygulamasının ardından maksimum renk değişimi 12. saatte gerçekleşmektedir [191]. GDF+GSH kombinasyonun in vitro olarak demineralize mine lezyonları üzerinde incelendiği bir çalışmada; GDF+GSH grubu en az renklenmeyi 5. dakika ve 24. saatte gösterirken, 1. hafta, 2. hafta ve 1. ay sonunda renklenme açısından istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir [206].

Bu çalışmada, benzer çalışmalar göz önüne alındığında "kolorimetre" cihazının kullanımı uygun görülmüştür [193,249,271-273]. Kolorimetreler, renk ölçümlerini daha basit ve insan gözünün algısına daha yakın bir biçimde sunarken spektrofotometre renkleri daha ayrıntılı ve spektral olarak analiz eder. Kullanılacak uygulama ve hassasiyet gereksinimlerine bağlı olarak bu iki cihaz arasında tercih yapılabilir.

ΔE^* değeri renk değişimini gösterir. Çalışmamıza benzer çalışmalarda genellikle ΔE^* değeri esas alınmıştır [175,249]. Bazı çalışmalarda ise L^* (parlaklık) değerleri incelenmiştir [192,274,262]. Mevcut çalışmamızda ΔE^* değeriyle beraber L^* verileri de ele alınmıştır. $\Delta E^*=1$ değeri laboratuvar ortamında gözlemciler tarafından ayırt edilebilir [275]. Ancak fark edilebilir değişikliklerin gözlenebilmesi için ağız boşluğunda ΔE^* değerinin 3,7 birime kadar çıkması gerekmektedir [276]. Bazı araştırmacılara göre; diş hekimliğinde estetik amaçlı uygulamalarda, renk değişikliklerinin duruma ve gözlemciye bağlı olarak algılanma eşiği $\Delta E^*\approx 1$ ila 2 iken kabul edilebilirlik eşiği $\Delta E^*\approx 3$ ila 4'tür [244]. Çalışmamızda ΔE^* değerinin ortalaması GDF grubunda $38,40\pm 12,70$, GDF+KI grubunda $25,45\pm 11,17$, GDF+GSH grubunda $38,49\pm 13,15$ olarak hesaplanmıştır. Bu veriler doğrultusunda her çalışma grubunda gözle görülür renk değişiminin meydana geldiği söylenebilir.

Çalışma gruplarına göre ΔE^* ortalamalarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.2.). GDF ve GDF+GSH gruplarının ΔE^* ortalamaları GDF+KI grubunun ortalamasından yüksektir (Şekil 4.3.). GDF+KI ile GDF ve GDF+GSH grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p=0,014$ ve $p=0,014$). Bu bulgunun sonucunda GDF ve GDF+GSH gruplarında GDF+KI grubuna göre renk değişiminin daha fazla olduğu görülmektedir. Diğer bir ifade ile KI kullanımının GDF renklenmesini azaltmada etkili olduğu söylenebilir. Bu bulgular, önceki çalışmaların bulgularıyla örtüşmektedir [20,192,249,271,273,274], fakat bu çalışmaların ikisi sağlam dentin ile gerçekleştirilmiştir [20,274]. Sağlam dentinde GDF'ye bağlı renklenmenin daha az miktarda gözle görüldüğü bilinmektedir [277]. Bu sebeple çalışmamızda yapay çürüklü süt dişi dentin örnekleri kullanılmıştır.

GDF renklenmesinin KI ile azaltıldığı ve ΔE^* değerinin incelendiği çalışmalarda, istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar ortaya korsa da GDF+KI gruplarında ΔE^* değerinin 3,7 birim ve üzeri olduğu ve gözle görülür renk değişiminin meydana geldiği söylenebilir [249,271,273]. Çalışmamızdaki ΔE^* değerleri, mevcut çalışmalara göre daha yüksek olsa da bulgular uyumludur.

Literatürdeki sınırlı sayıdaki çalışmada GDF+GSH kombinasyonu incelenmiştir ve bu çalışmaların çoğunda renk değişimi ΔE^* değeri ile ifade edilmiştir [20,205,206]. Bu çalışmaların ilki in vitro olarak çekilmiş sığır dişlerinde yapılmıştır ve “GSH, KI’e göre

mine ve dentindeki renklenmeyi azaltmada daha etkilidir.” hipotezine ulaşılmıştır [20]. Diğer iki çalışmanın biri çürük süt azı dişleri üzerinde, diğeri mine dokusu demineralize edilmiş premolar dişlerle in vitro olarak gerçekleştirilmiştir [205,206]. Çekilmiş ve çürük süt molar dişlerle yapılan çalışmada, GSH ile etkili bir şekilde renklenmenin azaldığı belirtilmiştir [205]. Yapay mine çürüklü dişler ile yapılan çalışmada ise GDF+GSH kombinasyonunun renk değişimi üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı ifade edilmiştir [206]. Mevcut çalışmamızın sonucunda da GDF+GSH kombinasyonunun ΔE^* değeri açısından GDF ile paralel olduğu ve %5’lik GSH’ın GDF kaynaklı renk değişimi üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı söylenebilir.

Başlangıç ölçümlerinde çalışma gruplarına göre L^* değeri ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.4.). Böylelikle benzer parlaklık seviyelerine sahip örneklerin çalışma gruplarına homojen bir dağılım sergiledikleri görülmektedir.

Çalışma gruplarının son renk ölçümünde elde edilen L^* (parlaklık) değerleri ile yapılan analizde, GDF+KI ile GDF ve GDF+GSH grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$). GDF ve GDF+GSH gruplarının L^* değeri ortalamaları GDF+KI grubunun L^* değeri ortalamasından düşüktür (Çizelge 4.4.) (Şekil 4.2. ve Şekil 4.3.). Bu bulgulara göre, GDF+KI grubunda diğer gruplara göre daha az miktarda parlaklık kaybı olduğu söylenebilir. Bu bulgu, KI ile çalışılan mevcut literatürler ile uyumludur [192,262,273]. Bu çalışmalardan ilkinde, çekilmiş daimi molar dişlerle ΔE^* değeri ile L^* değişimi (ΔL^* , parlaklık değişimi) incelenmiştir. Sonuç olarak, KI tedavisi uygulanan gruplarda dört haftanın sonunda minimum düzeyde renklenme görülmüştür. Yalnızca GDF uygulanan gruplar; GDF+KI uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında daha koyuydu, diğer bir deyişle bu gruplarda ΔL^* değerleri ortalama olarak fazla idi [273]. CIE sistemden L^* değerinin esas alındığı ve çekilmiş çürük süt azı dişleriyle gerçekleştirilen diğer in vitro çalışmada, GDF’nin renklenme potansiyelinin KI uygulamasıyla azaltılabileceği belirtilmiştir [200]. Çekilmiş ve çürük süt molarlar ile gerçekleştirilen son çalışmada ise; KI ile GDF’ye bağlı renk değişikliklerinin maskelenebileceği belirtilmiştir [262].

Çalışmamıza benzer şekilde ΔE^* ve L^* verileri ele alınan bir in-vitro çalışmada, GDF + KI grubunda çürükten etkilenen dentin üzerinde anlamlı şekilde daha yüksek bir L^* değeri saptanırken gözle algılanabilir bir toplam renk değişimi (ΔE^*) de tespit edilmiştir [271].

Literatürdeki GDF+GSH kombinasyonunu inceleyen sınırlı sayıdaki çalışmada L^* değerleri ile herhangi bir değerlendirme yapılmamıştır [20,205,206]. GDF+GSH kombinasyonunun kullanıldığı literatürdeki tek in vivo çalışmada; uygulama sonrası ve 6 ay sonunda çekilen fotoğraflar üzerinde Image J yazılımı kullanılarak gri ton değeri analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucunda %20'lik GSH'in GDF ile ilişkili diş renklenmesini azaltmada etkili olduğunu belirtilmiştir [208]. 6 aylık takipli bu çalışmada; 3-8 yaş aralığında 20 çocuğun 3 farklı anterior aktif çürüklü dişinde GDF, GDF+KI ve GDF+GSH uygulamaları birer kez gerçekleştirilmiştir. Bu klinik çalışmanın sonuçları; mevcut çalışmamızın bulgularıyla örtüşmemektedir. Fakat her iki çalışmanın metodolojik farklılıkları ve kullanılan GSH konsantrasyonları göz önünde bulundurulmalıdır.

GDF ve KI uygulamalarını dentin remineralizasyonu açısından inceleyen çalışmalarda, Vickers mikrosertlik yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem, dentin numunelerinin yeterli kalınlığa sahip olması ve benzer çalışmaların dikkate alınmasıyla tercih edilmiştir [18,175,278].

Literatürde sağlam süt dentini için Knoop sertlik değerleri 35-60 KHN (Knoop hardness number, Knoop sertlik değeri) arasında değişmektedir [279]. Knoop ve Vickers sertlik değerleri (KHN ve VHN) arasındaki ilişkiyi belirleme amacıyla yapılan bir çalışmada, aynı dentin yüzeyinde 55,2 ila 61,6 arasında değişen KHN değerlerinin, 45,7-54,9 arasında değişen VHN değerlerinden daha yüksek olduğu belirtilmiştir [255]. Bu çalışmada, tüm grupların başlangıç mikrosertlik ölçüm ortalaması 37,33 VHN bulunmuştur. Dentin yüzeyinde KHN ve VHN arasındaki ilişki düşünüldüğünde, çalışmamızda kullanılan örneklerin başlangıç mikrosertlik değerleri, literatürde belirtilen sağlam dentin mikrosertlik değerleriyle uyumludur.

Tüm çalışma gruplarında başlangıçta elde edilen mikrosertlik ölçüm ortalaması, demineralizasyon ve remineralizasyon ölçümlerinin ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ($p<0,05$). Tüm gruplarda remineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalaması demineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalamasından yüksek iken GDF ve GDF+KI gruplarında bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). GDF ve GDF+KI gruplarındaki benzer remineralizasyon mikrosertlik değerleri, KI uygulamasının GDF'nin remineralizasyon potansiyelini etkilemediği sonucunu işaret etmektedir. Daimi ve doğal

çürüklü dişlerle yapılan bir in-vitro çalışmada, SDI Riva Star-Step 1&2 (GDF+KI), çürük dentin mikrosertliğini Advantage Arrest'e (%38 GDF) kıyasla sağlam dentin mikrosertliğine yakın bir şekilde arttırmıştır [18]. Çekilmiş premolar dişlerde yapay kök çürüğü oluşturulan bir in vitro çalışmada GDF+KI grubunda (Riva Star-Step 1&2) kontrol grubuna (distile su) göre, yüzey mikro sertliği ve mineral yoğunluğunun 60 µm derinliğe kadar önemli ölçüde iyileştiği tespit edilmiştir [267]. Yine çekilmiş daimi molar dişlerin dentin dokusunda yapılan bir in vitro çalışmada, GDF'den sonra kullanılan KI (Riva Star-Step 1&2) ile remineralizasyon sürecinin etkilenmediği gösterilmiştir [268]. Çalışmamızın bulguları bu çalışmaların bulgularıyla benzerdir. GDF+KI uygulaması ile süt dişi dentini remineralizasyon sürecini inceleyen çalışmaların eksikliği sebebiyle bulgular bu açıdan önemlidir.

Mikrosertlik ölçümü bulgularına göre; tüm gruplarda (GDF, GDF+KI ve GDF+GSH) remineralizasyon prosedürü gerçekleşmiştir (Çizelge 4.7, Şekil 4.4). Tüm gruplarda remineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalamaları, başlangıç mikrosertlik ölçüm ortalamalarına ulaşmamıştır. Yılda bir yerine altı ayda bir yapılan GDF uygulamaları, çürük durdurma açısından daha etkilidir [179,257]. Bu çalışmada deney gruplarına sadece birer uygulama yapılmıştır. Bu sebeple, remineralizasyon mikrosertlik ölçümlerinde başlangıç mikrosertlik değerlerine ulaşılmadığı düşünülmektedir.

Mevcut çalışmamıza benzer şekilde, mikrosertlik açısından GDF+GSH kombinasyonunu inceleyen herhangi bir çalışma literatürde mevcut değildir. Literatürdeki GDF+GSH kombinasyonunun incelendiği tek in vivo çalışmada, %20 GSH'ın GDF'nin süt dişi dentin çürüğü durdurma etkinliği üzerinde etkisi olmadığı belirtilmiştir [208]. 6 aylık takipli bu çalışmada; 3-8 yaş aralığında 20 çocuğun 3 farklı anterior aktif çürüklü dişinde GDF, GDF+KI ve GDF+GSH uygulamaları birer kez gerçekleştirilmiştir. Çalışmada çürük lezyonun aktif veya inaktif olmasına, görsel ve dokunsal muayeneler sonucunda karar verilmiştir. Mevcut çalışmamızda da GDF+GSH grubunda yapay dentin çürüğü lezyonlarında remineralizasyon sürecinin gerçekleştiği söylenebilir, fakat GDF solüsyonuna eklenmiş ağırlıkça %5'lik GSH'ın, GDF'nin remineralizasyon potansiyelini etkilemiş olabileceği de düşünülmektedir. GDF+GSH grubunun remineralizasyon mikrosertlik değerlerinin demineralizasyon mikrosertlik değerlerinden yüksektir, fakat değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Bir in vitro çalışmada; ağırlıkça %5 GSH'ın GDF'ye dahil edilmesi, GDF'nin antibakteriyel özelliklerini önemli ölçüde etkilemezken, GDF renklenmesini en aza indirmek için bir seçenek olduğu belirtilmiştir [207]. Ağırlıkça %10 veya %15 GSH ilavesinin ise GDF'nin antibakteriyel etkilerinde azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir [207]. Bu nedenle çalışmamızda GDF içeriğine ağırlıkça %5 GSH eklenmiştir. Aynı çalışmada GSH konsantrasyonunun %15'in üzerine çıkarılmasının doygunluğa ve kristalleşmeye yol açacağı gözlemlendiğinden, daha yüksek bir GSH konsantrasyonu kullanmak mümkün olmamıştır [207]. Elde edilen bulgulara göre bu oranın artırılması, renklenmeyi azaltabilme potansiyeli taşırken GDF ile beklenen dentin remineralizasyonunu da etkileyebilir.

GDF+GSH grubunun diğer gruplara göre göreceli düşük remineralizasyon mikrosertlik değerlerinin nedeni olarak GSH ile Ag^+ iyonlarının etkileşimi olabilir. GSH, serbest Ag^+ iyonları ile reaksiyona girerek gümüş fosfat (Ag_3PO_4) oluşumu önlemeye çalışır [20]. Gümüş fosfat, pH'ın yükselmesine ve florür rezervuarlarının oluşumuna yardımcı olarak remineralizasyona katkı sağlar [136,137]. GDF uygulamasından sonra ilk oluşan mineral çökeltileri kalsiyum fosfatlar ve gümüş tuzlarıdır [144]. GDF'nin pulpa toksisitesini inceleyen bir çalışmada; ağırlıkça %20 GSH ile dentin tübüllerinde GDF kaynaklı birikinti oluşumu değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın bulguları, GDF'den sonra ayrı bir prosedür olarak %20 GSH uygulamasının bu çökeltilerin oluşumunu önemli ölçüde azalttığını göstermiştir [280].



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

GDF'ye ilave edilen GSH'nın, GDF renklenmesine ve remineralizasyonuna etkisinin KI ile karşılaştırılmalı değerlendirilmesinin amaçlandığı bu çalışmada;

- GDF ve GDF+GSH gruplarının ΔE^* ortalamaları GDF+KI grubunun ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ($p<0,05$). Bu bulgunun sonucunda GDF ve GDF+GSH gruplarında GDF+KI grubuna göre renk değişiminin daha fazla olduğu görülmektedir.
- GDF+KI ile GDF ve GDF+GSH gruplarının son renk ölçümünde elde edilen L^* değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$). GDF ve GDF+GSH gruplarının son L^* değeri ortalamaları GDF+KI grubunun son L^* değeri ortalamasından düşüktür. Bu bulgunun sonucunda GDF ve GDF+GSH gruplarında GDF+KI grubuna göre parlaklık kaybının daha fazla olduğu görülmektedir.
- Tüm gruplarda (GDF, GDF+KI ve GDF+GSH) remineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalaması demineralizasyon mikrosertlik ölçüm ortalamasından yüksek iken GDF ve GDF+KI gruplarında bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Herhangi grupta remineralizasyon mikrosertlik ortalamaları, başlangıç mikrosertlik ölçüm ortalamalarına ulaşmamıştır.

Sonuç olarak;

- GDF solüsyonuna eklenmiş ağırlıkça %5'lik GSH'nın, GDF kaynaklı renk değişimi üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür.
- GDF solüsyonuna eklenmiş ağırlıkça %5'lik GSH'nın, GDF'nin remineralizasyon potansiyelini etkilediği düşünülmektedir.
- GDF uygulamasının ardından gerçekleştirilen KI uygulaması GDF kaynaklı renklenmeyi azaltmaktadır.
- GDF uygulamasının ardından gerçekleştirilen KI uygulaması beklenen remineralizasyon sürecini etkilememiştir.
- GDF kaynaklı renklenmenin azaltılmasında, GDF uygulamalarının ardından KI kullanımı klinik çalışmalarla araştırılmalıdır.

- Tekrarlanan GDF uygulamaları, beklenen remineralizasyon sürecini hızlandırabilir. Yılda bir kez yerine daha sık gerçekleştirilen klinik uygulamalar, çürük durdurma açısından daha etkili olabilir.



KAYNAKLAR

1. American Academy of Pediatric Dentistry. (2023). Fluoride therapy. ***The Reference Manual Pediatric Dentistry***, 352-8.
2. World Health Organization. (2023). WHO model list of essential medicines - 23rd list. ***World Health Organization***, 1-67.
3. Slayton, R. L., Urquhart, O., Araujo, M., Fontana, M., Guzmán-Armstrong, S., Nascimento, M. M., Nový, B. B., Tinanoff, N., Weyant, R. J., Wolff, M. S., Young, D. A., Zero, D. T., Tampi, M. P., Pilcher, L., Banfield, L., and Carrasco-Labra, A. (2018). Evidence-based clinical practice guideline on nonrestorative treatments for carious lesions: A report from the American Dental Association. ***The Journal of the American Dental Association***, 149(10), 837-49.e19.
4. American Academy of Pediatric Dentistry. (2023). Policy on the use of silver diamine fluoride for pediatric dental patients. ***The Reference Manual of Pediatric Dentistry***, 103-5.
5. International Association of Paediatric Dentistry. (2022). Use of fluoride for caries prevention. ***IAPD Foundational Articles and Consensus Recommendations***, 1(3).
6. Yamaga, R. (1969). Arrestment of caries of deciduous teeth with diamine silver fluoride. ***Dental Outlook***, 33(1), 1007-13.
7. Hiraishi, N., Sayed, M., Takahashi, M., Nikaido, T., and Tagami, J. (2022). Clinical and primary evidence of silver diamine fluoride on root caries management. ***Japanese Dental Science Review***, 58, 1-8.
8. Nishino, M., Ono, S., Kita, Y., and Tsuchitani, Y. (1974). Caries prevention in pits and fissures with diammine silver fluoride solution and fissure sealant. Sealing properties of pits and fissures and adhesive characteristics to enamel. ***The Journal of Osaka University Dental School***, 14(1), 1-7.
9. Yamaga, R. (1972) Diamine silver fluoride and its clinical application. ***The Journal of Osaka University Dental School***, 12(1), 1-20.
10. Ballikaya, E., Ünverdi, G. E., and Cehreli, Z. C. (2022). Management of initial carious lesions of hypomineralized molars (MIH) with silver diamine fluoride or silver-modified atraumatic restorative treatment (SMART): 1-year results of a prospective, randomized clinical trial. ***Clinical Oral Investigations***, 26(2), 2197-205.
11. Yamashita, H. (1985) Penetration of Ag (NH₃)₂F applied to an infected root canal. ***The Journal of Gifu Dental Society***, 12(3), 417-39. 1985.
12. Liu, Y., Zhai, W., and Du, F. (1995) Clinical observation of treatment of tooth hypersensitiveness with silver ammonia fluoride and potassium nitrate solution. ***Chinese Journal of Stomatology***, 30(6), 352-4.

13. Crystal, Y. O., Janal, M. N., Hamilton, D. S., and Niederman, R. (2017) Parental perceptions and acceptance of silver diamine fluoride staining. *Journal of the American Dental Association*, 148(7), 510-8.e4.
14. Bagher, S. M., Sabbagh, H. J., Aljohani, S. M., Alharbi, G., Aldajani, M., and Elkhodary, H. (2019) Parental acceptance of the utilization of silver diamine fluoride on their child's primary and permanent teeth. *Patient Preference and Adherence*, 13(1), 829-35.
15. Alshammari, A. F., Almuqrin, A. A., Aldakhil, A. M., Alshammari, B. H., and Lopez, J. N. J. (2019). Parental perceptions and acceptance of silver diamine fluoride treatment in Kingdom of Saudi Arabia. *International Journal of Health Sciences*, 13(2), 25.
16. Greenwall-Cohen, J., Greenwall, L., and Barry, S. (2020). Silver diamine fluoride-an overview of the literature and current clinical techniques. *British Dental Journal*, 228(11), 831-8.
17. Roberts, A., Bradley, J., Merkley, S., Pachal, T., Gopal, J. V., and Sharma, D. (2020). Does potassium iodide application following silver diamine fluoride reduce staining of tooth? A systematic review. *Australian Dental Journal*, 65(2), 109-17.
18. Prakash, M., Kang, Y. H., Jain, S., and Zandona, A. F. (2021). In-vitro Assessment of Silver Diamine Fluoride Effect on Natural Carious Dentin Microhardness. *Frontiers in Dental Medicine*, 2, 811308.
19. Ferreira, A. C., de Lima Oliveira, R. F., Amorim, A. A., Geng-Vivanco, R., and de Carvalho Panzeri Pires-de-Souza, F. (2022). Remineralization of caries-affected dentin and color stability of teeth restored after treatment with silver diamine fluoride and bioactive glass–ceramic. *Clinical Oral Investigations*, 26(7), 4805-16.
20. Sayed, M., Matsui, N., Hiraishi, N., Nikaido, T., Burrow, M. F., and Tagami, J. (2018). Effect of glutathione bio-molecule on tooth discoloration associated with silver diamine fluoride. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5), 1322.
21. Featherstone, J. D. (1999). Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 27(1), 31-40.
22. Nanci, A. (2008). Enamel: composition, formation, and structure. *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function*, 183-4.
23. Biagini, G., Checchi, L., Pelliccioni, G. A., and Solmi, R. (1992). In vitro growth of periodontal fibroblasts on treated cementum. *Quintessence International*, 23(5).
24. Whittaker, D. K. (1982). Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. *Archives of Oral Biology*, 27(5), 383-92.
25. Gwinnett, A. J. (1966). The ultrastructure of the “prismless” enamel of deciduous teeth. *Archives of Oral Biology*, 11(11), 1109-IN16.
26. Gwinnett, A. (1967). The ultrastructure of the “prismless” enamel of permanent human teeth. *Archives of Oral Biology*, 12(3), 381-IN30.

27. Nowak, A. J, Christensen, J. R., Mabry, T. R., Townsend, J. A., and Wells, M. H. (2019). ***Pediatric Dentistry: Infancy Through Adolescence***, (Sixth edition). Philadelphia : Elsevier, 192.
28. Chiego Jr, D. J. (2018). ***Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach*** (Fifth edition). St. Louis, Missouri : Elsevier, 97.
29. Isokawa, S., Kosakai, T., and Kajiyama, S. (1963). Interglobular dentin in the deciduous tooth. ***Journal of Dental Research***, 42(3), 831-34.
30. Pashley, D. H., and Tay, F. R. (2002). Pulpodentin complex. Seltzer and Bender's dental pulp. ***Quintessence Publishing Co***, 31, 63-85.
31. Hirayama, A. (1990). Experimental analytical electron microscopic studies on the quantitative analysis of elemental concentrations in biological thin specimens and its application to dental science. ***Shika Gakuho. Dental Science Reports***, 90(8), 1019-36.
32. Liu, Q., Huang, S., Matinlinna, J. P., Chen, Z., and Pan, H. (2013). Insight into biological apatite: physiochemical properties and preparation approaches. ***BioMed Research International***, 2013(929748), 1-13.
33. Saghiri, M. A., Vakhnovetsky, J., Vakhnovetsky, A., Ghobrial, M., Nath, D., and Morgano, S. M. (2022). Functional role of inorganic trace elements in dentin apatite tissue—Part 1: Mg, Sr, Zn, and Fe. ***Journal of Trace Elements in Medicine and Biology***, 71, 126932.
34. Lakomaa, E. L., and Rytömaa I. (1977). Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. ***European Journal of Oral Sciences***, 85(2), 89-95.
35. Chowdhary, N., and Reddy, V. S. (2010). Dentin comparison in primary and permanent molars under transmitted and polarised light microscopy: An: in vitro: study. ***Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry***, 28(3), 167-72.
36. El - Kalla, I. H., and García - Godoy, F. (1998). Bond strength and interfacial micromorphology of compomers in primary and permanent teeth. ***International Journal of Paediatric Dentistry***, 8(2), 103-14.
37. Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., and Boskey, A. (2011). Dentin: Structure, Composition and Mineralization: The role of dentin ECM in dentin formation and mineralization. ***Frontiers in Bioscience***, 3, 711.
38. Butler, W.T. (1984). Dentin collagen: chemical structure and role in mineralization. ***Dentin and Dentinogenesis***, 37-53.
39. Van Der Rest, M., and Garrone, R. (1991). Collagen family of proteins. ***The FASEB Journal***, 5(13), 2814-23.

40. Christiansen, D. L., Huang, E. K., Silver, F. H. (2000). Assembly of type I collagen: fusion of fibril subunits and the influence of fibril diameter on mechanical properties. **Matrix Biology**, 19(5), 409-20.
41. Goldberg, M., and Takagi, M. (1993). Dentine proteoglycans: composition, ultrastructure and functions. **The Histochemical Journal**, 25, 781-806.
42. George, A., and Veis, A. (2008). Phosphorylated proteins and control over apatite nucleation, crystal growth, and inhibition. **Chemical Reviews**, 108(11), 4670-93.
43. Scheffel, D. L. S., Cury, J. A., Tenuta, L. M. A., Scheffel, R. H., Perez, C., Soares, D. G., Basso, F. G., Costa, C. A. S., Pashley D. H., and Hebling, J. (2020). Proteolytic activity, degradation, and dissolution of primary and permanent teeth. **International Journal of Paediatric Dentistry**, 30(5), 650-9.
44. Torres, C. P., Miranda Gomes - Silva, J., Menezes - Oliveira, M. A. H., Silva Soares, L. E., Palma - Dibb, R. G., and Borsatto, M. C. (2018). FT - Raman spectroscopy, μ - EDXRF spectrometry, and microhardness analysis of the dentin of primary and permanent teeth. **Microscopy Research and Technique**, 81(5), 509-14.
45. Pashley, D. H., and Liewehr, F. R. (2006). Structure and functions of the dentin-pulp complex. **Pathways of the Pulp**, 9, 460-513.
46. Pashley, D., Okabe, A., and Parham, P. (1985). The relationship between dentin microhardness and tubule density. **Dental Traumatology**, 1(5), 176-9.
47. Agematsu, H., Abe, S., Shiozaki, K., Usami, A., Ogata, S., Suzuki, K., Soejima, M., Ohnishi, M., Nonami, K., and Ide, Y. (2005). Relationship between large tubules and dentin caries in human deciduous tooth. **The Bulletin of Tokyo Dental College**, 46(1+2), 7-15.
48. Rajkumar, K., and Ramya, R. (2017). **Textbook of Oral Anatomy, Physiology, Histology and Tooth Morphology** (Second edition). Haryana: Wolters Kluwer Health, 644.
49. Ruschel, H. C., and Chevitarese, O. (2002). Density and diameter of dentinal tubules of first and second primary human molars-comparative scanning electron microscopy study. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, 26(3), 297-304.
50. Sumikawa, D. A., Marshall, G. W., Gee, L., and Marshall, S. J. (1999). Microstructure of primary tooth dentin. **Pediatric Dentistry**, 21(7), 439-44.
51. Hosoya, Y., Marshall, S. J., Watanabe, L. G., and Marshall, G. W. (2000). Microhardness of carious deciduous dentin. **Operative Dentistry**, 25(2), 81-9.
52. Angker, L., Swain, M. V., and Kilpatrick, N. (2003). Micro-mechanical characterisation of the properties of primary tooth dentine. **Journal of Dentistry**, 31(4), 261-67.
53. Emberyl, G., Hcavall, R., Waddington, R., Septier, D., and Goldberg. M. (1991) Proteoglycans dentinogenesis. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, 12(4) 331-49.

54. Fox, A. G., and Heeley, J. D. (1980). Histological study of pulps of human primary teeth. *Archives of Oral Biology*, 25(2), 103-10.
55. Thompson, V. P. and Silva, N. R. F. A. (2012) Structure and properties of enamel and dentin,” *Non-Metallic Biomater. Tooth Repair Replace*, 3–19.
56. Goldberg, M., and Septier, D. (1980). Effect of 2 methods of demineralization on the on the preservation of glycoproteins and proteoglycans in the intertubular and peritubular dentin in the horse. *Journal de Biologie Buccale*, 8(4), 315-30.
57. Gotliv, B. A., and Veis, A. (2007). Peritubular dentin, a vertebrate apatitic mineralized tissue without collagen: role of a phospholipid-proteolipid complex. *Calcified Tissue International*, 81, 191-205.
58. Weiner, S., Veis, A., Beniash, E., Arad, T., Dillon, J. W., Sabsay, B., and Siddiqui, F. (1999). Peritubular dentin formation: crystal organization and the macromolecular constituents in human teeth. *Journal of Structural Biology*, 126(1), 27-41.
59. Tjäderhane, L., Carrilho, M. R., Breschi, L., Tay, F. R., and Pashley, D. H. (2009). Dentin basic structure and composition—an overview. *Endodontic Topics*, 20(1), 3-29.
60. Fejerskov, O., Nyvad, B., and Kidd, E. (Eds.). (2015). *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management* (Second edition). Oxford: Blackwell Publishing. 20.
61. Kuboki, Y., Ohgushi, K., and Fusayama, T. (1977). Collagen biochemistry of the two layers of carious dentin. *Journal of Dental Research*, 56(10), 1233-37.
62. Zheng, L., Hilton, J. F., Habelitz, S., Marshall, S. J., and Marshall, G. W. (2003). Dentin caries activity status related to hardness and elasticity. *European Journal of Oral Sciences*, 111(3), 243-52.
63. Pugach, M. K., Strother, J., Darling, C. L., Fried, D., Gansky, S. A., Marshall, S. J., and Marshall, G. W. (2009). Dentin caries zones: mineral, structure, and properties. *Journal of Dental Research*, 88(1), 71-6.
64. Bertassoni, L. E., Habelitz, S., Pugach, M., Soares, P. C., Marshall, S. J., and Marshall Jr, G. W. (2010). Evaluation of surface structural and mechanical changes following remineralization of dentin. *Scanning*, 32(5), 312-19.
65. Geddes, D. A. (1975). Acids produced by human dental plaque metabolism in situ. *Caries Research*, 9(2), 98-109.
66. Featherstone, J. D. B., and Rodgers, B. E. (1981). Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Research*, 15(5), 377-85.
67. Featherstone, J. D. B. (1977). Diffusion phenomena during artificial carious lesion formation. *Journal of Dental Research*, 56(4_suppl), 48-52.

68. Featherstone, J. D. (2000). The science and practice of caries prevention. *The Journal of the American Dental Association*, 131(7), 887-99.
69. Abou Neel, E. A., Aljabo, A., Strange, A., Ibrahim, S., Coathup, M., Young, A. M., Bozec, L., Mudera, V. (2016). Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 4743-63.
70. Chaussain-Miller, C., Fioretti, F., Goldberg, M., and Menashi, S. (2006). The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *Journal of Dental Research*, 85(1), 22-32.
71. Boston, D. W., and Liao, J. (2004). Staining of non-cariou human coronal dentin by caries dyes. *Operative Dentistry-University Of Washington*, 29, 280-6.
72. Ten Cate, J. M. (2001). Remineralization of caries lesions extending into dentin. *Journal of Dental Research*, 80(5), 1407-11.
73. Ten Cate, J. M. (2008). Remineralization of deep enamel dentine caries lesions. *Australian Dental Journal*, 53(3), 281-5.
74. Featherstone, J. D. (1990). An updated understanding of the mechanism of dental decay and its prevention. *Nutrition Journal*, 14, 5-11.
75. Ten Cate, J. M., and Featherstone, J. D. B. (1991). Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 2(3), 283-96.
76. Shimizu, C., Yamashita, Y., Ichijo, T., and Fusayama, T. (1981). Carious change of dentin observed on longspan ultrathin sections. *Journal of Dental Research*, 60(11), 1826-31.
77. Maltz, M., de Oliveira, E. F., Fontanella, V., and Bianchi, R. (2002). A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. *Quintessence International*, 33(2).
78. Tay, F. R., and Pashley, D. H. (2008). Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine. *Biomaterials*, 29(8), 1127-37.
79. Featherstone, J. D. B. (1996). Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dental Materials*, 12(3), 194-7.
80. Kinney, J. H., Habelitz, S., Marshall, S. J., and Marshall, G. W. (2003). The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *Journal of Dental Research*, 82(12), 957-61.
81. Han, M., Li, Q. L., Cao, Y., Fang, H., Xia, R., and Zhang, Z. H. (2017). In vivo remineralization of dentin using an agarose hydrogel biomimetic mineralization system. *Scientific Reports*, 7(1), 41955.

82. Wu, X. T., Cao, Y., Mei, M. L., Chen, J. L., Li, Q. L., and Chu, C. H. (2014). An electrophoresis-aided biomineralization system for regenerating dentin-and enamel-like microstructures for the self-healing of tooth defects. ***Crystal Growth & Design***, 14(11), 5537-48.
83. Klont, B., and Ten Cate, J. M. (1991). Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: the role of the collagenous matrix. ***Caries Research***, 25(1), 39-45.
84. Tartaix, P. H., Doulaverakis, M., George, A., Fisher, L. W., Butler, W. T., Qin, C., Salih, E., Tan, M., Fujimoto, Y., Spevak, L., and Boskey, A. L. (2004). In vitro effects of dentin matrix protein-1 on hydroxyapatite formation provide insights into in vivo functions. ***Journal of Biological Chemistry***, 279(18), 18115-20.
85. Milan, A. M., Sugars, R. V., Embery, G., and Waddington, R. J. (2006). Adsorption and interactions of dentine phosphoprotein with hydroxyapatite and collagen. ***European Journal of Oral Sciences***, 114(3), 223-31.
86. Chiu, R., Li, W., Herber, R. P., Marshall, S. J., Young, M., and Ho, S. P. (2012). Effects of biglycan on physico-chemical properties of ligament-mineralized tissue attachment sites. ***Archives of Oral Biology***, 57(2), 177-87.
87. Bevelander, G. and Nakahara, H. (1966). The formation and mineralization of dentin. ***The Anatomical Record***, 156, 303-23.
88. Märten, A., Fratzl, P., Paris, O., and Zaslansky, P. (2010). On the mineral in collagen of human crown dentine. ***Biomaterials***, 31(20), 5479-90.
89. Oyamada, J., Kitagawa, Y., Hara, M., Sakamoto, J., Matsushita, T., Tsurumoto, T., and Manabe, Y. (2017). Sex differences of dental pathology in early modern samurai and commoners at Kokura in Japan. ***Odontology***, 105, 267-74.
90. Melaiye, A. and Youngs, W.J. (2005) Silver and its application as an antimicrobial agent. ***Expert Opinion on Therapeutic Patents***, 15(2), 125-30.
91. Barillo, D. J., and Marx, D. E. (2014). Silver in medicine: A brief history BC 335 to present. ***Burns***, 40, S3-S8.
92. Russell, A. D., and Hugo, W. B. (1994). Antimicrobial activity and action of silver. ***Progress in Medicinal Chemistry***, 31, 351-70.
93. Credé, K. S. F. (1881). Die verhütung der augenentzündung der neugeborenen. ***Archiv für Gynaekologie***, 18(3), 367-70.
94. Klasen, H. J. (2000). Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. ***Burns***, 26(2), 117-130.
95. Stebbins, E. A. (1891). What value has argenti nitras as a therapeutic agent in dentistry?. ***The International Dental Journal***, 12(10), 661.

96. Mahalaxmi, S. (2020). **Materials Used in Dentistry** (Second edition). Haryana: Wolters Kluwer Health, 72.
97. Shah, S., Bhaskar, V., Venkatraghavan, K., Choudhary, P., and Trivedi, K. (2014). Silver diamine fluoride: a review and current applications. **Journal of Advanced Oral Research**, 5(1), 25-35.
98. Zander, H. A. (1941). Use of silver nitrate in the treatment of caries. **The Journal of the American Dental Association**, 28(8), 1260-67.
99. Craig, G. G., Powell, K. R., and Cooper, M. H. (1981). Caries progression in primary molars: 24 - month results from a minimal treatment programme. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, 9(6), 260-5.
100. Nishino, M. (1969). Studies on the topical application of ammoniacal silver fluoride for the arrest of dental caries. **The Journal of Osaka University Dental School**, 14(1), 1-14.
101. Gotjamanos, T. (1996). Pulp response in primary teeth with deep residual caries treated with silver fluoride and glass ionomer cement ('atraumatic' technique). **Australian Dental Journal**, 41(5), 328-34.
102. Yamaga, R. (2003). The inventory of Saforide according to the combination of eastern and western medicine. **Japanese Journal of Pediatric Dentistry**, 8, 79-91.
103. Moritani, Y. (1970). Clinical evaluation of diamine silver fluoride (Saforide) in controlling caries of deciduous teeth. **Rinsho Shika**, 266, 48-53.
104. Lo, E. C. M., Chu, C. H., and Lin, H. C. (2001). A community-based caries control program for pre-school children using topical fluorides: 18-month results. **Journal of Dental Research**, 80(12), 2071-4.
105. Gao, S. S., Amarquaye, G., Arrow, P., Bansal, K., Bedi, R., Campus, G., Chen, K. J., Chibinski, A. C. R., Chinzorig, T., Crystal, Y., Duangthip, D., Ferri, M. L., Folayan, M.O., Garidkhuu, A., Hamama, H. H., Jirarattanasopha, V., Kemoli, A., Leal, S.C., Leelataweewud, P., Mathur, V. P., Mfolo, T., Momoi, Y., Potgieter, N., Tezvergill-Mutluay, A., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2021). Global oral health policies and guidelines: using silver diamine fluoride for caries control. **Frontiers in Oral Health**, 2, 685557.
106. Delbem, A. C. B., Bergamaschi, M., Sassaki, K. T., and Cunha, R. F. (2006). Effect of fluoridated varnish and silver diamine fluoride solution on enamel demineralization: pH-cycling study. **Journal of Applied Oral Science**, 14, 88-92.
107. Horst, J. A., Ellenikiotis, H., and Milgrom, P. L. (2016). UCSF protocol for caries arrest using silver diamine fluoride: rationale, indications and consent. **Journal of the California Dental Association**, 44(1), 17-28.
108. Horst, J. A. (2018). Silver fluoride as a treatment for dental caries. **Advances in Dental Research**, 29(1), 135-40.

109. Yan, I. G., Zheng, F. M., Gao, S. S., Duangthip, D., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2022). Ion concentration of silver diamine fluoride solutions. *International Dental Journal*, 72(6), 779-84.
110. Nilsson, K. B., Persson, I., and Kessler, V. G. (2006). Coordination chemistry of the solvated AgI and AuI ions in liquid and aqueous ammonia, trialkyl and triphenyl phosphite, and tri-n-butylphosphine solutions. *Inorganic Chemistry*, 45(17), 6912-21.
111. Mei, M. L., Lo, E. C., and Chu, C. H. (2016). Clinical use of silver diamine fluoride in dental treatment. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 37(2), 93-8.
112. Klein, U., Kanellis, M. J., and Drake, D. (1999). Effects of four anticaries agents on lesion depth progression in an in vitro caries model. *Pediatric Dentistry*, 21(3), 176-80.
113. Soares-Yoshikawa, A. L., Cury, J. A., and Tabchoury, C. P. M. (2020). Fluoride concentration in SDF commercial products and their bioavailability with demineralized dentine. *Brazilian Dental Journal*, 31, 257-63.
114. de Almeida, L. D. F., Cavalcanti, Y. W., and Valença, A. M. (2011). In vitro antibacterial activity of silver diamine fluoride in different concentrations. *Acta Odontológica Latinoamericana*, 24(2), 127-31.
115. Yee, R., Holmgren, C., Mulder, J., Lama, D., Walker, D., and van Palenstein Helderman, W. (2009). Efficacy of silver diamine fluoride for arresting caries treatment. *Journal of Dental Research*, 88(7), 644-7.
116. Fung, M. H. T., Duangthip, D., Wong, M. C. M., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2018). Randomized clinical trial of 12% and 38% silver diamine fluoride treatment. *Journal of Dental Research*, 97(2), 171-8.
117. Mei, M. L., Li, Q. L., Chu, C. H., Yiu, C. K., and Lo, E. C. (2012). The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. *Dental Materials*, 28(8), 903-8.
118. Zheng, F. M., Yan, I. G., Duangthip, D., Gao, S. S., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2022). Silver diamine fluoride therapy for dental care. *Japanese Dental Science Review*, 58, 249-57.
119. Patel, J., Foster, D., Smirk, M., Turton, B., and Anthonappa, R. (2021). Acidity, fluoride and silver ion concentrations in silver diamine fluoride solutions: a pilot study. *Australian Dental Journal*, 66(2), 188-93.
120. Mei, M. L., Chu, C. H., Lo, E. C. M., and Samaranayake, L. P. (2013). Fluoride and silver concentrations of silver diamine fluoride solutions for dental use. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 23(4), 279-85.
121. Milgrom, P. (2021). Omissions make silver diamine fluoride paper impossible to interpret. *Australian Dental Journal*, 66(2), 212-3.

122. Mei, M. L., Li, Q. L., Chu, C. H., Lo, E. M., and Samaranayake, L. P. (2013). Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 12, 1-7.
123. Zhao, I. S., Gao, S. S., Hiraishi, N., Burrow, M. F., Duangthip, D., Mei, M. L., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2018). Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. *International Dental Journal*, 68(2), 67-76.
124. Chu, C. H., Mei, L. E. I., Seneviratne, C. J., and Lo, E. C. M. (2012). Effects of silver diamine fluoride on dentine carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 22(1), 2-10.
125. Mei, M. L., Chu, C. H., Low, K. H., Che, C. M., and Lo, E. C. (2013). Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with *S. mutans* and *L. acidophilus* dual-species cariogenic biofilm. *Medicina Oral, Patologia Oral, Cirugia Bucal*, 18(6), e824.
126. Suzuki, T., Nishida, M., Sobue, S., and Moriwaki, Y. (1974). Effects of diammine silver fluoride on tooth enamel. *The Journal of Osaka University Dental School*, 14, 61-72.
127. Sayed, M., Matsui, N., Uo, M., Nikaido, T., Oikawa, M., Burrow, M. F., and Tagami, J. (2019). Morphological and elemental analysis of silver penetration into sound/demineralized dentin after SDF application. *Dental Materials*, 35(12), 1718-27.
128. Wu, M. Y., Suryanarayanan, K., Van Ooij, W. J., and Oerther, D. B. (2007). Using microbial genomics to evaluate the effectiveness of silver to prevent biofilm formation. *Water Science and Technology*, 55(8-9), 413-9.
129. Zhang, J., Got, S. R., Yin, I. X., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2021). A concise Review of silver diamine fluoride on oral biofilm. *Applied Sciences*, 11(7), 3232.
130. Peng, J. Y., Botelho, M. G., and Matinlinna, J. P. (2012). Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. *Journal of Dentistry*, 40(7), 531-41.
131. Lansdown, A. B. (2006). Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Biofunctional Textiles and The Skin*, 33, 17-34.
132. Thibodeau, E. A., Handelman, S. L., and Marquis, R. E. (1978). Inhibition and killing of oral bacteria by silver ions generated with low intensity direct current. *Journal of Dental Research*, 57(9-10), 922-6.
133. Wakshlak, R. B. K., Pedahzur, R., Avnir, D. (2015). Antibacterial activity of silver-killed bacteria: the "zombies" effect. *Scientific Reports*, 5(1), 9555.
134. Koo, H. (2008). Strategies to enhance the biological effects of fluoride on dental biofilms. *Advances in Dental Research*, 20(1), 17-21.
135. Marquis, R. E., Clock, S. A., and Mota-Meira, M. (2003). Fluoride and organic weak acids as modulators of microbial physiology. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(5),

493–510.

136. Mei, M. L., Ito, L., Cao, Y., Li, Q. L., Lo, E. C., and Chu, C. H. (2013). Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. *Journal of Dentistry*, 41(9), 809-17.
137. Li, Y., and Li, J. (1997). Study of mechanism of a silver ammonia fluoride solution on inhibition of dentine caries. *Beijing Journal of Stomatology*, 5, 151-2.
138. Rosenblatt, A., Stamford, T. C. M., and Niederman, R. (2009). Silver diamine fluoride: a caries “silver-fluoride bullet”. *Journal of Dental Research*, 88(2), 116-25.
139. Ten Cate, J. (2013). Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *British Dental Journal*, 214(4), 161-7.
140. Featherstone, J. D. (2008). Dental caries: a dynamic disease process. *Australian Dental Journal*, 53(3), 286-91.
141. Rosas, S. P., Téllez, M. A., and Espinosa, E. V. (2014) In vitro efficiency of fluoride-containing compounds on remineralization of carious enamel lesions under cyclic pH conditions. *Revista Odontológica Mexicana*, 18(2), 96–104.
142. Knight, G. M., McIntyre, J. M., Craig, G. G., Zilm, P. S., and Gully, N. J. (2009). Inability to form a biofilm of *Streptococcus mutans* on silver fluoride-and potassium iodide-treated demineralized dentin. *Quintessence International*, 40(2), 155–61.
143. Thanatvarakorn, O., Islam, M. S., Nakashima, S., Sadr, A., Nikaido, T., and Tagami, J. (2016). Effects of zinc fluoride on inhibiting dentin demineralization and collagen degradation in vitro: A comparison of various topical fluoride agents. *Dental Materials Journal*, 35(5), 769-75.
144. Mei, M. L., Lo, E. C., and Chu, C. H. (2018). Arresting dentine caries with silver diamine fluoride: what’s behind it?. *Journal of Dental Research*, 97(7), 751-8.
145. Kiesow, A., Menzel, M., Lippert, F., Tanzer, J. M., and Milgrom, P. (2022). Dentin tubule occlusion by a 38% silver diamine fluoride gel: an in vitro investigation. *British Dental Journal (BDJ) Open*, 8(1), 1-5.
146. Zaeneldin, A., Ollie, Y. Y., and Chu, C. H. (2022). Effect of silver diamine fluoride on vital dental pulp: A systematic review. *Journal of Dentistry*, 119, 104066.
147. Bimstein, E., and Damm, D. (2018). Human primary tooth histology six months after treatment with silver diamine fluoride. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 42(6), 442-4.
148. Rossi, G., Squassi, A., Mandalunis, P., and Kaplan, A. (2017). Effect of silver diamine fluoride (SDF) on the dentin-pulp complex. Ex vivo histological analysis on human primary teeth and rat molars. *Acta Odontologica Latinoamericana: AOL*, 30(1), 5-12.

149. Korwar, A., Sharma, S., Logani, A., and Shah, N. (2015). Pulp response to high fluoride releasing glass ionomer, silver diamine fluoride, and calcium hydroxide used for indirect pulp treatment: An in-vivo comparative study. ***Contemporary Clinical Dentistry***, 6(3), 288.
150. Klinge, R. F. (2001). Further observations on tertiary dentin in human deciduous teeth. ***Advances in Dental Research***, 15(1), 76-9.
151. Stanley Jr, H. R., and Swerdlow, H. (1959). Reaction of the human pulp to cavity preparation: results produced by eight different operative grinding technics. ***The Journal of the American Dental Association***, 58(6), 49-59.
152. Bertassoni, L. E., Habelitz, S., Kinney, J. H., Marshall, S. J., and Marshall Jr, G. W. (2009). Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. ***Caries Research***, 43(1), 70-7.
153. Mei, M. L., Ito, L., Cao, Y., Li, Q. L., Chu, C. H., and Lo, E. C. (2014). The inhibitory effects of silver diamine fluorides on cysteine cathepsins. ***Journal of Dentistry***, 42(3), 329-35.
154. Innes, N. P. T., Frencken, J. E., Bjørndal, L., Maltz, M., Manton, D. J., Ricketts, D., Van Landuyt, K., Banerjee, A., Campus, G., Domejean, S., Fontana, M., Leal, S., Lo, E., Machiulskiene, V., Schulte, A., Splieth, C., Zandona, A., and Schwendicke, F. (2016). Managing carious lesions: consensus recommendations on terminology. ***Advances in Dental Research***, 28(2), 58-67.
155. Schwendicke, F., Dörfer, C. E., and Paris, S. (2013). Incomplete caries removal: a systematic review and meta-analysis. ***Journal of Dental Research***, 92(4), 306-14.
156. Li, T., Zhai, X., Song, F., and Zhu, H. (2018). Selective versus non-selective removal for dental caries: a systematic review and meta-analysis. ***Acta Odontologica Scandinavica***, 76(2), 135-40.
157. Gao, S. S., Zhao, I. S., Hiraishi, N., Duangthip, D., Mei, M. L., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2016). Clinical trials of silver diamine fluoride in arresting caries among children: a systematic review. ***JDR (Journal of Dental Research) Clinical & Translational Research***, 1(3), 201-10.
158. Contreras, V., Toro, M. J., Elías-Boneta, A. R., and Encarnación-Burgos, M. A. (2017). Effectiveness of silver diamine fluoride in caries prevention and arrest: a systematic literature review. ***General Dentistry***, 65(3), 22.
159. Chu, C. H., Lo, E. C., and Lin, H. C. (2002). Effectiveness of silver diamine fluoride and sodium fluoride varnish in arresting dentin caries in Chinese pre-school children. ***Journal of Dental Research***, 81(11), 767-70.
160. Duangthip, D., Wong, M. C. M., Chu, C. H., and Lo, E. C. M. (2018). Caries arrest by topical fluorides in preschool children: 30-month results. ***Journal of Dentistry***, 70, 74-9.

161. Llodra, J. C., Rodriguez, A., Ferrer, B., Menardia, V., Ramos, T., and Morato, M. (2005). Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial. ***Journal of Dental Research***, 84(8), 721-4.
162. Oliveira, B. H., Cunha-Cruz, J., Rajendra, A., and Niederman, R. (2018). Controlling caries in exposed root surfaces with silver diamine fluoride: A systematic review with meta-analysis. ***The Journal of the American Dental Association***, 149(8), 671-9.
163. Zhang, J., Sardana, D., Li, K. Y., Leung, K. C. M., and Lo, E. C. M. (2020). Topical fluoride to prevent root caries: systematic review with network meta-analysis. ***Journal of Dental Research***, 99(5), 506-13.
165. Da Costa - Silva, C. M., Ambrosano, G. M., Jeremias, F., De Souza, J. F., and Mialhe, F. L. (2011). Increase in severity of molar-incisor hypomineralization and its relationship with the colour of enamel opacity: a prospective cohort study. ***International Journal of Paediatric Dentistry***, 21(5), 333-41.
165. Li, Y., Liu, Y., Psoter, W. J., Nguyen, O. M., Bromage, T. G., Walters, M. A., Hu, B., Rabieh, S., and Kumararaja, F. C. (2019). Assessment of the silver penetration and distribution in carious lesions of deciduous teeth treated with silver diamine fluoride. ***Caries Research***, 53(4), 431-40.
166. Castillo, J. L., Rivera, S., Aparicio, T., Lazo, R., Aw, T. C., Mancl, L. L., and Milgrom, P. (2011). The short-term effects of diammine silver fluoride on tooth sensitivity: a randomized controlled trial. ***Journal of Dental Research***, 90(2), 203-8.
167. Craig, G. G., Knight, G. M., and McIntyre, J. M. (2012). Clinical evaluation of diamine silver fluoride/potassium iodide as a dentine desensitizing agent. A pilot study. ***Australian Dental Journal***, 57(3), 308-11.
168. Hiraishi, N., Yiu, C. K., King, N. M., Tagami, J., and Tay, F. R. (2010). Antimicrobial efficacy of 3.8% silver diamine fluoride and its effect on root dentin. ***Journal of Endodontics***, 36(6), 1026-9.
169. Al - Madi, E. M., Al - Jamie, M. A., Al - Owaid, N. M., Almohaimede, A. A., and Al - Owid, A. M. (2019). Antibacterial efficacy of silver diamine fluoride as a root canal irrigant. ***Clinical and Experimental Dental Research***, 5(5), 551-6.
170. Yokoyama, K., Kimura, Y., Matsumoto, K., Fujishima, A., and Miyazaki, T. (2001). Preventive effect of tooth fracture by pulsed Nd: YAG laser irradiation with diamine silver fluoride solution. ***Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery***, 19(6), 315-8.
171. Yokoyama, K., Matsumoto, K., and Murase, J. (2000). Permeability of the root canal wall and occlusion of dentinal tubules by Ag (NH₃)₂F: a comparison of combined use with pulsed Nd: YAG laser or iontophoresis. ***Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery***, 18(1), 9-14.
172. Da Cunha, W. A., Palma, L. F., Shitsuka, C., Corrêa, F. N. P., Duarte, D. A., and Corrêa, M. S. N. P. (2021). Efficacy of silver diamine fluoride and sodium fluoride in inhibiting

- enamel erosion: an ex vivo study with primary teeth. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 22(3), 387-92.
173. Yu, O. Y., Mei, M. L., Zhao, I. S., Li, Q. L., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2018). Remineralisation of enamel with silver diamine fluoride and sodium fluoride. *Dental Materials*, 34(12), e344–e352.
 174. Ainoosah, S. E., Levon, J., Eckert, G. J., Hara, A. T., and Lippert, F. (2020). Effect of silver diamine fluoride on the prevention of erosive tooth wear in vitro. *Journal of Dentistry*, 103, 100015.
 175. Gadallah, L. K., Safwat, E. M., Saleh, R. S., Azab, S. M., and Azab, M. M. (2023). Effect of silver diamine fluoride/potassium iodide treatment on the prevention of dental erosion in primary teeth: an in vitro study. *British Dental Journal (BDJ) Open*, 9(1), 24.
 176. Rams, T. E., Sautter, J. D., Ramírez-Martínez, G. J., and Whitaker, E. J. (2020). Antimicrobial activity of silver diamine fluoride on human periodontitis microbiota. *General Dentistry*, 68(5), 24-8.
 177. Lim, G. X. D., and Yang, J. (2022). Effect of silver diamine fluoride on hyperplastic gingivitis in an adult with intellectual disability—A case report. *Special Care in Dentistry*, 42(1), 73-9.
 178. Alshehri, W. (2020). *Effect of Silver Diamine Fluoride on the Treatment of Gingivitis in Geriatric Patients*, Unpublished Doctoral Thesis, Texas A&M University.
 179. Crystal, Y. O., Marghalani, A. A., Ureles, S. D., Wright, J. T., Sulyanto, R., Divaris, K., Fontana, M., and Graham, L. (2017). Use of silver diamine fluoride for dental caries management in children and adolescents, including those with special health care needs. *Pediatric Dentistry*, 39(5), 135E-145E.
 180. Hu, S., Meyer, B., and Duggal, M. (2018). A silver renaissance in dentistry. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 19(4), 221-7.
 181. Crystal, Y. O., and Niederman, R. (2016). Silver diamine fluoride treatment considerations in children's caries management. *Pediatric Dentistry*, 38(7), 466-71.
 182. Zhi, Q. H., Lo, E. C. M., and Lin, H. C. (2012). Randomized clinical trial on effectiveness of silver diamine fluoride and glass ionomer in arresting dentine caries in preschool children. *Journal of Dentistry*, 40(11), 962-7.
 183. Fung, M. H. T., Duangthip, D., Wong, M. C. M., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2016). Arresting dentine caries with different concentration and periodicity of silver diamine fluoride. *JDR (Journal of Dental Research) Clinical & Translational Research*, 1(2), 143-52.
 184. DenBesten, P., and Li, W. (2011). Chronic fluoride toxicity: dental fluorosis. *Fluoride and the Oral Environment*, 22, 81-96.

185. Ellenikiotis, H., Chen, K. F., Soleimani-Meigooni, D. N., Rothen, M. L., Thompson, B., Lin, Y. S., and Milgrom, P. (2022). Pharmacokinetics of 38 percent silver diamine fluoride in children. *Pediatric Dentistry*, 44(2), 114-21.
186. Yan, I. G., Zheng, F. M., Gao, S. S., Duangthip, D., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2022). Fluoride delivered via a topical application of 38% SDF and 5% NaF. *International Dental Journal*, 72(6), 773-8.
187. Vasquez, E., Zegarra, G., Chirinos, E., Castillo, J. L., Taves, D., Watson, G. E., Dills, R., Mancl, L. L., and Milgrom, P. (2012). Short term serum pharmacokinetics of diammine silver fluoride after oral application. *BMC Oral Health*, 12(1), 60.
188. Duangthip, D., Fung, M. H. T., Wong, M. C. M., Chu, C. H., and Lo, E. C. M. (2018). Adverse effects of silver diamine fluoride treatment among preschool children. *Journal of Dental Research*, 97(4), 395-401.
189. Chisholm, H. (Ed.). (1911). *Encyclopædia Britannica*. (11th ed. Vols. 1-29). Cambridge: Cambridge University Press.
190. Lou, Y. L., Botelho, M. G., and Darvell, B. W. (2011). Reaction of silver diamine fluoride with hydroxyapatite and protein. *Journal of Dentistry*, 39(9), 612-8.
191. Almuqrin, A., Kaur, I. P., Walsh, L. J., Seneviratne, C. J., and Zafar, S. (2023). Amelioration Strategies for Silver Diamine Fluoride: Moving from Black to White. *Antibiotics*, 12(2), 298.
192. Patel, J., Anthonappa, R. P., and King, N. M. (2018). Evaluation of the staining potential of silver diamine fluoride: in vitro. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 28(5), 514-22.
193. Luong, M., Sadr, A., and Chan, D. C. N. (2022). Dentin Discoloration and Pulpal Ion Concentrations Following Silver Diamine Fluoride and Potassium Iodide Treatment. *Operative Dentistry*, 47(6), 640-7.
194. Aly, M. M., and Yousry, Y. M. (2022). Potential discolouration of silver diamine fluoride versus silver diamine fluoride/potassium iodide in primary teeth: a randomised clinical study. *British Dental Journal*, 1-6.
195. Li, R., Lo, E. C. M., Liu, B. Y., Wong, M. C. M., and Chu, C. H. (2016). Randomized clinical trial on arresting dental root caries through silver diammine fluoride applications in community-dwelling elders. *Journal of Dentistry*, 51, 15-20.
196. Turton, B., Horn, R., and Durward, C. (2021). Caries arrest and lesion appearance using two different silver fluoride therapies on primary teeth with and without potassium iodide: 12 - month results. *Clinical and Experimental Dental Research*, 7(4), 609-19.
197. Anderson, M. E. (1996). Glutathione and glutathione delivery compounds. *Advances in Pharmacology*, 38, 65-78.

198. Mulier, B., Rahman, I., Watchorn, T., Donaldson, K., MacNee, W., and Jeffery, P. K. (1998). Hydrogen peroxide-induced epithelial injury: the protective role of intracellular nonprotein thiols (NPSH). *European Respiratory Journal*, 11(2), 384-91.
199. Deneke, S. M. (2001). Thiol-based antioxidants. *Current Topics in Cellular Regulation*, 36, 151-80.
200. Shanthakumari, D., Srinivasalu, S., and Subramanian, S. (2004). Effect of fluoride intoxication on lipidperoxidation and antioxidant status in experimental rats. *Toxicology*, 204(2-3), 219-28.
201. Gong, T. (2009). Effect of high fluorine on the antioxidant function and ultrastructure of liver in chickens. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 40(9), 1389.
202. Kuang, P., Deng, H., Cui, H., Chen, L., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Wang, X., and Zhao, L. (2017). Sodium fluoride (NaF) causes toxic effects on splenic development in mice. *Oncotarget*, 8(3), 4703–17.
203. Lu, Y., Luo, Q., Cui, H., Deng, H., Kuang, P., Liu, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., and Zhao, L. (2017). Sodium fluoride causes oxidative stress and apoptosis in the mouse liver. *Aging*, 9(6), 1623–39.
204. Khan, H., Khan, M. F., Asim-Ur-Rehman, Jan, S. U., and Ullah, N. (2011) The protective role of glutathione in silver induced toxicity in blood components. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(2), 123-8.
205. Kamble, A. N., Chimata, V. K., Katge, F. A., Nanavati, K. K., and Shetty, S. K. (2021). Comparative evaluation of effect of potassium iodide and glutathione on tooth discoloration after application of 38% silver diamine fluoride in primary molars: An in vitro study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 14(6), 752-6.
206. Gupte, M., Saraf, T., Jawdekar, A., Khare, S., and Tikku, A. (2021). A comparative analysis of staining propensity of SDF, SDF with potassium iodide and SDF with glutathione biomolecule on demineralized enamel: An in-vitro study. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 7(3), 297-301.
207. Asghar, M., Omar, R. A., Yahya, R., Yap, A. U., Ali, Z. A., Chua, K. Y., and Azzahari, A. D. (2021). Effect of glutathione incorporation on the biochemical properties of silver diamine fluoride. *Fluoride*, 54(1), 5-14.
208. Karuna, Y. M., Natarajan, S., Rao, A., Nayak, A. P., and Thimmaiah, C. (2023) Efficacy of Glutathione Biomolecule in Reducing the Tooth Discoloration Associated with Silver Diamine Fluoride: A Split-mouth In vivo Study. *Contemporary Clinical Dentistry*, 14(3), 239-44.
209. Yu, O. Y., Zhao, I. S., Mei, M. L., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2017). A review of the common models used in mechanistic studies on demineralization-remineralization for cariology research. *Dentistry Journal*, 5(2), 20.

210. Marquezan, M., Corrêa, F. N. P., Sanabe, M. E., Rodrigues Filho, L. E., Hebling, J., Guedes-Pinto, A. C., & Mendes, F. M. (2009). Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Archives of Oral Biology*, 54(12), 1111-7.
211. Schwendicke, F., Eggers, K., Meyer-Lueckel, H., Dörfer, C., Kovalev, A., Gorb, S., and Paris, S. (2015). In vitro Induction of residual caries lesions in dentin: comparative mineral loss and nano-hardness analysis. *Caries Research*, 49(3), 259-65.
212. Moron, B. M., Comar, L. P., Wiegand, A., Buchalla, W., Yu, H., Buzalaf, M. A. R., and Magalhães, A. C. (2013). Different protocols to produce artificial dentine carious lesions in vitro and in situ: hardness and mineral content correlation. *Caries Research*, 47(2), 162-170.
213. Featherstone, J. D., Stookey, G. K., Kaminski, M. A., and Faller, R. V. (2011). Recommendation for a non-animal alternative to rat caries testing. *American Journal of Dental Science*, 24(5), 289-94.
214. Ten Cate, J. M., and Duijsters, P. P. E. (1982). Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Research*, 16(3), 201-10.
215. Faller, R. V., Pfarrer, A. M., Eversole, S. L., Cox, E. R., Landrigan, W. F., and Wang, Q. (1997). The comparative anticaries efficacy of Crest toothpaste relative to some marketed Chinese toothpastes—results of in vitro pH cycling testing. *International Dental Journal*, 47(6), 313-20.
216. Amaechi, B. T. (2019). Protocols to study dental caries in vitro: pH cycling models. *Odontogenesis: Methods and Protocols*, 1922, 379-92.
217. Buzalaf, M. A. R., Hannas, A. R., Magalhães, A. C., Rios, D., Honório, H. M., and Delbem, A. C. B. (2010). pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. *Journal of Applied Oral Science*, 18(4), 316-34.
218. Thaveesangpanich, P., Itthagarun, A., King, N. M., and Wefel, J. S. (2005). The effects of child formula toothpastes on enamel caries using two in vitro pH - cycling models. *International Dental Journal*, 55(4), 217-23.
219. Gama-Teixeira, A., Simionato, M. R. L., Elian, S. N., Sobral, M. A. P., and Luz, M. A. A. D. C. (2007). Streptococcus mutans-induced secondary caries adjacent to glass ionomer cement, composite resin and amalgam restorations in vitro. *Brazilian Oral Research*, 21(4), 368-74.
220. Dashper, S. G., and Reynolds, E. C. (1996). Lactic acid excretion by Streptococcus mutans. *Microbiology*, 142(1), 33-9.
221. Garcia, I. M., Balhaddad, A. A., Lan, Y., Simionato, A., Ibrahim, M. S., Weir, M. D., Masri, R., Xu, H. H. K., Collares, F. M., and Melo, M. A. S. (2021). Magnetic motion of superparamagnetic iron oxide nanoparticles-loaded dental adhesives: physicochemical/biological properties, and dentin bonding performance studied

- through the tooth pulpal pressure model. *Acta Biomaterialia*, 134, 337-47.
222. Bhadila, G. Y., Baras, B. H., Balhaddad, A. A., Williams, M. A., Oates, T. W., Weir, M. D., and Xu, H. H. (2023). Recurrent Caries Models to Assess Dental Restorations: A Scoping Review. *Journal of Dentistry*, 136, 104604.
 223. Curzon, M. E. J., Zero, D. T., Treasure, P. E., Eisenberg, A. D., and Featherstone, J. D. B. (1984). Evaluation of a sterilizable artificial mouth to study plaque and enamel demineralization. *Foods, Nutrition and Dental Health*, 4, 7-14.
 224. Arends, J., and Ten Bosch, J. J. (1992). Demineralization and remineralization evaluation techniques. *Journal of Dental Research*, 71(3 suppl), 924-8.
 225. Broitman, E. (2017). Indentation hardness measurements at macro-, micro-, and nanoscale: a critical overview. *Tribology Letters*, 65(1), 23.
 226. Arends, J., Schuthof, J., and Jongebloed, W. G. (1980). Lesion depth and microhardness indentations on artificial white spot lesions. *Caries Research*, 14(4), 190-5.
 227. Zero, D. T., Rahbek, I., Fu, J., Proskin, H. M., and Featherstone, J. D. B. (1990). Comparison of the iodide permeability test, the surface microhardness test, and mineral dissolution of bovine enamel following acid challenge. *Caries Research*, 24(3), 181-8.
 228. Arana-Chavez, V. E., and Castro-Filice, L. S. (2019). Transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM) for the examination of dental hard tissues. *Odontogenesis: Methods and Protocols*, 325-32.
 229. Hegde, M. N., and 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. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*, 15(1), 61-7.
 230. de Josselin de Jong, E., Sundström, F., Westerling, H., Tranaeus, S., Ten Bosch, J. J., and Angmar-Månsson, B. (1995). A new method for in vivo quantification of changes in initial enamel caries with laser fluorescence. *Caries Research*, 29(1), 2-7.
 231. Al-Sadhan, R. I., Meiers, J., and Redford-Eadwal, D. (2003). Identification of occlusal sealants using optical coherence tomography. *Journal of Clinical Dentistry*, 14(1), 7-10.
 232. Braz, A. K., Kyotoku, B. B., and Gomes, A. S. (2009). In vitro tomographic image of human pulp-dentin complex: optical coherence tomography and histology. *Journal of Endodontics*, 35(9), 1218-21.
 233. Feldchtein, F. I., Gelikonov, G. V., Gelikonov, V. M., Iksanov, R. R., Kuranov, R. V., Sergeev, A. M., Gladkova, N. D., Ourutina, M. N., Warren, J. A., and Reitze, D. H. (1998). In vivo OCT imaging of hard and soft tissue of the oral cavity. *Optics Express*, 3(6), 239-50.

234. Braz, A. K., Araujo, R. E. D., Ohulchanskyy, T. Y., Shukla, S., Bergey, E. J., Gomes, A. S., and Prasad, P. N. (2012). In situ gold nanoparticles formation: contrast agent for dental optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 17(6), 66003.
235. Silverstone, L. M. (1973). Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sciences Reviews*, 3, 100-60.
236. Sønju Clasen, A. B., Øgaard, B., Duschner, H., Ruben, J., Arends, J., and Sønju, T. (1997). Caries development in fluoridated and non-fluoridated deciduous and permanent enamel in situ examined by microradiography and confocal laser scanning microscopy. *Advances in Dental Research*, 11(4), 442-7.
237. De Jong, E. D. J., Van Der Linden, A. H. I. M., and Ten Bosch, J. J. (1987). Longitudinal microradiography: a non-destructive automated quantitative method to follow mineral changes in mineralised tissue slices. *Physics in Medicine & Biology*, 32(10), 1209.
238. Zuidgeest, T. G. M., Herkströter, F. M., and Arends, J. (1990). Mineral density and mineral loss after demineralization at various locations in human root dentine: a longitudinal microradiographic study. *Caries Research*, 24(3), 159-63.
239. Herkstroter, F. M., Noordmans, J., and Ten Bosch, J. J. (1990). Wavelength-independent microradiography used for quantification of mineral changes in thin enamel and dentin samples with natural surfaces, pseudo-thick tooth sections, and whole teeth. *Journal of Dental Research*, 69(12), 1824-7.
240. Watson, T. F. (1997). Fact and artefact in confocal microscopy. *Advances in Dental Research*, 11(4), 433-41.
241. Bayindir, D. F., and Wee, D. A. G. (2006). Diş Rengi Seçiminde Bilgisayar Destekli Sistemler. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 30(3), 40-6.
242. Birren, F. (Ed.). (1969). *A grammar of color, a basic treatise on the color system of Albert H. Munsell*, New York: Van Nostrand Reinhold Co, 20.
243. Chu, S. J., Paravina, R. D., Sailer, I., and Mieszkowski, A. J. (2017). *Color in Dentistry: A Clinical Guide to Predictable Esthetics*, Illinois: Quintessence Publishing Company, 11.
244. Chu, S. J., Devigus, A., and Mieszkowski, A. J. (2010). *Fundamentals of Color: Shade Matching and Communication in Esthetic Dentistry* (Second edition). Illinois: Quintessence Publishing Company, 112.
245. Robertson, A. R. (1990). Historical development of CIE recommended color difference equations. *Color Research & Application*, 15(3), 167-70.
246. Paul, S., Peter, A., Pietrobon, N., and Hämmerle, C. H. F. (2002). Visual and spectrophotometric shade analysis of human teeth. *Journal of Dental Research*, 81(8), 578-82.

247. Vural, S., and Ökte, Z. (2023). Comparison of the Effectiveness of Fluoride versus Grape Seed Extract in Biomimetic Remineralization of Dentin. *In Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences*, 76(1), 128-37.
248. Ten Cate, J. M., and Mundorff-Shrestha, S. A. (1995). Working group report 1: laboratory models for caries (in vitro and animal models). *Advances in Dental Research*, 9(3), 332-4.
249. Fröhlich, T. T., Gindri, L. D. O., Pedrotti, D., Cavaleiro, C. P., Soares, F. Z. M., and Rocha, R. D. O. (2021). Evaluation of the use of potassium iodide application on stained demineralized dentin under resin composite following silver diamine fluoride application. *Pediatric Dentistry*, 43(1), 57-61.
250. Ekambaram, M., Itthagarun, A., and King, N. M. (2011). Comparison of the remineralizing potential of child formula dentifrices. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 21(2), 132- 40.
251. Zhi, Q. H., Lo, E. C. M., and Kwok, A. C. Y. (2013). An in vitro study of silver and fluoride ions on remineralization of demineralized enamel and dentine. *Australian Dental Journal*, 58(1), 50-6.
252. Lo, E. C. M., Zhi, Q. H., and Itthagarun, A. (2010). Comparing two quantitative methods for studying remineralization of artificial caries. *Journal of Dentistry*, 38(4), 352-9.
253. Yılmaz, N., Ocak, M., and Ökte, Z. (2020). Remineralization of Primary Molar Dentine with Silver Diamine Fluoride and Sodium Fluoride: An In Vitro Study. *Cumhuriyet Dental Journal*, 23(4), 340-7.
254. Yiming, L. I. (2003). Tooth color measurement using Chroma Meter: techniques, advantages, and disadvantages. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 15, 33-41.
255. Chuenarrom, C., Benjakul, P., and Daosodsai, P. (2009). Effect of indentation load and time on knoop and vickers microhardness tests for enamel and dentin. *Materials Research*, 12(4), 473-6.
256. Lamont, R. J., and Egland, P. G. (2015). Dental Caries. *Molecular Medical Microbiology* (Second Edition). 2, 945-55.
257. Crystal, Y. O., and Niederman, R. (2019). Evidence-based dentistry update on silver diamine fluoride. *Dental Clinics of North America*, 63(1), 45-68.
258. Aliuddin, S. K. (2021). Difference between primary and permanent teeth, sequence of eruption, mixed dentition, causes of tooth loss. *Textbook of Dental Anatomy, Physiology, Occlusion and Tooth Carving*, 2(1), 26-8.
259. Aquilino, S. A., and Williams, V. D. (1987). The effect of storage solutions and mounting media on the bond strenghts of a dentinal adhesive to dentin. *Dental Materials*, 3(3), 131-4.

260. Santana, F. R., Pereira, J. C., Pereira, C. A., Fernandes Neto, A. J., and Soares, C. J. (2008). Influence of method and period of storage on the microtensile bond strength of indirect composite resin restorations to dentine. *Brazilian Oral Research*, 22(4), 352-7.
261. Vennela, E., Sharada, J., Hasanuddin, S., Suhasini, K., Hemachandrika, I., and Singh, P. T. (2021). Comparison of staining potential of silver diamine fluoride versus silver diamine fluoride and potassium iodide under tooth-colored restorations: An in vitro study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 39(1), 47-52.
262. Hamdy, D., Giraki, M., Abd Elaziz, A., Badran, A., Allam, G., and Ruettermann, S. (2021). Laboratory evaluation of the potential masking of color changes produced by silver diamine fluoride in primary molars. *BMC Oral Health*, 21(1), 1-9.
263. Zhao, I. S., Mei, M. L., Burrow, M. F., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2017). Effect of silver diamine fluoride and potassium iodide treatment on secondary caries prevention and tooth discolouration in cervical glass ionomer cement restoration. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 340.
264. Sorkhdini, P., Gregory, R. L., Crystal, Y. O., Tang, Q., and Lippert, F. (2020). Effectiveness of in vitro primary coronal caries prevention with silver diamine fluoride-Chemical vs biofilm models. *Journal of Dentistry*, 99, 103418.
265. Joves, G. J., Inoue, G., Nakashima, S., Sadr, A., Nikaido, T., and Tagami, J. (2013). Mineral density, morphology and bond strength of natural versus artificial caries-affected dentin. *Dental Materials Journal*, 32(1), 138-43.
266. Yan, I. G., Zheng, F. M., Yin, I. X., Sun, I. G., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2023). Stability of Silver and Fluoride Contents in Silver Diamine Fluoride Solutions. *International Dental Journal*, 73(6), 840-46.
267. Cai, J., Burrow, M. F., Manton, D. J., Tsuda, Y., Sobh, E. G., and Palamara, J. E. (2019). Effects of silver diamine fluoride/potassium iodide on artificial root caries lesions with adjunctive application of proanthocyanidin. *Acta Biomaterialia*, 88, 491-502.
268. Camatta, I. B., Peres, N. F., Picolo, M. Z. D., Cavalli, V., and Steiner-Oliveira, C. (2023). Influence of salivary acquired pellicle on colour changes and minerals content of dentine after application of silver diamine fluoride followed by potassium iodide. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 24(3), 293-9.
269. Ismail, N. H., Tawang, N. D., Aung, T. H., Samsudin, N. A., Awang, R. A., and Ghani, N. R. (2019). The effect of silver diamine fluoride and potassium iodide on colour changes in caries process. *Dentistry & Dental Practices Journal*, 2(2), 180014.
270. Yin, I. X., Yu, O. Y., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q. L., Tang, J., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2020). Inhibition of dentine caries using fluoride solution with silver nanoparticles: An in vitro study. *Journal of Dentistry*, 103(1), 103512.

271. Zhao, I. S., Chu, S., Yu, O. Y., Mei, M. L., Chu, C. H., and Lo, E. C. M. (2019). Effect of silver diamine fluoride and potassium iodide on shear bond strength of glass ionomer cements to caries-affected dentine. *International Dental Journal*, 69(5), 341-7.
272. Sorkhdini, P., Crystal, Y. O., Tang, Q., and Lippert, F. (2021). The effect of silver diamine fluoride in preventing in vitro primary coronal caries under pH-cycling conditions. *Archives of Oral Biology*, 121(1), 104950.
273. Nguyen, V., Neill, C., Felsenfeld, J., and Primus, C. (2017). Potassium iodide. The solution to silver diamine fluoride discoloration. *Health*, 5(1), 1-6.
274. Espíndola-Castro, L. F., Rosenblatt, A., Galembeck, A., and Monteiro, G. Q. M. (2020). Dentin staining caused by nano-silver fluoride: a comparative study. *Operative Dentistry*, 45(4), 435-41.
275. Kuehni, R. G., and Marcus, R. T. (1979). An experiment in visual scaling of small color differences. *Color Research & Application*, 4(2), 83-91.
276. Johnston, W. M., and Kao, E. (1989). Assessment of appearance match by visual observation and clinical colorimetry. *Journal of Dental Research*, 68(5), 819-22.
277. Sayed, M., Matsui, N., Hiraishi, N., Inoue, G., Nikaido, T., Burrow, M. F., and Tagami, J. (2019). Evaluation of discoloration of sound/demineralized root dentin with silver diamine fluoride: In-vitro study. *Dental Materials Journal*, 38(1), 143-9.
278. Akyildiz, M., and Sönmez, I. S. (2019). Comparison of remineralising potential of nano silver fluoride, silver diamine fluoride and sodium fluoride varnish on artificial caries: an in vitro study. *Oral Health and Preventive Dentistry*, 17(5), 469-77.
279. Johnsen, D. C. (1994). Comparison of primary and permanent teeth in oral development and histology. *Thieme Medical Publishers*, New York, 180-90.
280. Kim, S., Nassar, M., Tamura, Y., Hiraishi, N., Jamleh, A., Nikaido, T., and Tagami, J. (2021). The effect of reduced glutathione on the toxicity of silver diamine fluoride in rat pulpal cells. *Journal of Applied Oral Science*, 29(1), 1-8.



EKLER

EK-1. Etik kurul onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 16.01.2023-E.5008/4



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Diş Hekimliği Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : E-21071282-050.99-560874
Konu : Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ

16.01.2023

Sayın Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ
Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna, etik açıdan değerlendirilmek üzere sorumlu araştırmacı tarafından sunulan "Glutasyon İlave Edilmiş Gümüş Diamin Florürün Süt Dişi Dentin Çürüklerinde Remineralizasyon ve Renk Değişikliği Üzerine Etkisinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi" konulu çalışmanız, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Önemli Not: Sağlık Bakanlığına başvuruda bulunacak çalışmaların, Kurulumuz tarafından incelenmiş ve onaylanmış "**Değerlendirilen Belgeler**" kısmında belirtilmiş olan **Tarih ve Versiyon/Revizyon numaralarının ve "Karar Bilgileri"** kısmında belirtilmiş olan **karar numarasının** yazılması gerekmektedir. Aksi takdirde Sağlık Bakanlığına teslim edilen belgelerde Tarih ve Versiyon/Revizyon numaralarında uyumsuzluk yaşanmaktadır ve bu nedenle dosyalar reddedilmektedir. Bu konuya önem verilmesi bilgilerinize sunulur.

Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
Kurul Başkanı

Ek:Klinik Araştırmalar Etik Kurul Karar Formu (3 Sayfa)/Elden Teslim Edilecektir.

Belge Doğrulama Kodu: BS47K1BT93

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/gazi-universitesi-ebys>

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Bışkek Cad. No:4 kat 1 Emek/Ankara
Tel:0 (312) 203 40 00 Faks:0 (312) 223 92 26
e-Posta: dhfbilisim@gazi.edu.tr İnternet Adresi: <http://dent.gazi.edu.tr>

Bilgi için: N. Cihan Ünay
Birim Evrak Sorumlusu
Telefon No: (0312) 203 40 69



EK-1.(devam) Etik kurul onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ tarafından gönderilen "Glutasyon İlave Edilmiş Gümüş Diamin Florürün Süt Dişi Dentin Çürüklerinde Remineralizasyon ve Renk Değişikliği Üzerine Etkisinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Bişkek Caddesi 82.Sokak No:4 E Blok Zemin Kat Çankaya ANKARA
	TELEFON	0312 203 40 69
	FAKS	0312 203 41 39
	E-POSTA	disetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi			
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Dt. Hamide CÖMERT			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
İlaç dışı klinik araştırma		☐			
Diğer ise belirtiniz: İlaç Dışı Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK-1.(devam) Etik kurul onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ tarafından gönderilen "Glutasyon İlave Edilmiş Gümüş Diamin Florürün Süt Dişi Dentin Çürüklerinde Remineralizasyon ve Renk Değişikliği Üzerine Etkisinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	29.12.2022	Versiyon 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	29.12.2022	Versiyon 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	29.12.2022	Versiyon 1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	29.12.2022 - Versiyon 1	
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GUVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
	DİĞER:	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: GÜDHKAEK. 2023.01/1 Tarih: 12.01.2023			
	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 toplanmış katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları 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	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ (Etik Kurul Başkanı)	Çocuk Diş Hekimliği	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Şebnem KAVAKLI	Fizyoloji	Ufuk Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☒	
Prof. Dr. Orhan Mecit ULUDAĞ	Farmakoloji	Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☒	
Prof. Dr. Ferhan EĞİLMEZ (Bildirimlerden sorumlu olan üye)	Protetik Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mine Betül ÜÇTAŞLI	Restoratif Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☒	
Prof. Dr. İlkey PEKER	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Burcu ÖZDEMİR (Etik kurul başkan yardımcısı)	Periodontoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☒	
Prof. Dr. Benay YILDIRIM	Oral Patoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Mügem Aslı EKİCİ	Endodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☒	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmaktadır.

EK-1.(devam) Etik kurul onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ tarafından gönderilen "Glutasyon İlave Edilmiş Gümüş Diamin Florürün Süt Dişi Dentin Çürüklerinde Remineralizasyon ve Renk Değişikliği Üzerine Etkisinin In Vitro Olarak Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,							
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU									
Doç. Dr. Nehir CANIGÜR BAVBEK	Ortodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Dr Öğr. Üyesi Hakan TÜZÜN	Halk Sağlığı	Gazi Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Av. Efe AYAZ	Avukat	Serbest Avukat	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
İlker YAVUZ	Fotoğraf Eğitmeni	-	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı'nın
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : CÖMERT, Hamide
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi / Çocuk Diş Hekimliği	Devam ediyor
Lisans	İstanbul Üniversitesi / Diş Hekimliği Fakültesi	2019
Lise	Galatasaray Lisesi	2014
İlköğretim	Şakire Sadi Obdan İlköğretim Okulu	2009

Yabancı Dil

İngilizce, Fransızca

Yayınlar

1. Cömert, H., Ölmez, A. (2024). Gümüş Diamin Florür Tedavisinin Ebeveynler Tarafından Kabulü ve Değerlendirilmesi. **ADO Klinik Bilimler Dergisi**, 13(1), 33-42.

Hobiler

Pilates, kitap okuma, yüzme, kayak.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..