



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**GÜMÜŞ DİAMİN FLORÜR VE ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ
EKSTRESİNİN KOMBİNE KULLANIMININ SÜT DİŞİ
DENTİN ÇÜRÜK LEZYONLARINDA REMİNERALİZASYON
VE RESTORASYONUN BAĞLANMA KUVVETİNE
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Olgu DEMİRCİ

**PEDODONTİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Zeynep ÖKTE**

**ANKARA
2022**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GÜMÜŞ DİAMİN FLORÜR VE ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ
EKSTRESİNİN KOMBİNE KULLANIMININ SÜT DİŞİ
DENTİN ÇÜRÜK LEZYONLARINDA REMİNERALİZASYON
VE RESTORASYONUN BAĞLANMA KUVVETİNE
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Olgu DEMİRCİ

**PEDODONTİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Zeynep ÖKTE

**Bu araştırma TÜBİTAK Araştırma Destek Programları Başkanlığı'nın 221S654 proje
numarası ile desteklenmiştir.**

ANKARA

2022

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum 'Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanımının Süt Dişi Dentin Çürük Lezyonlarında Remineralizasyon ve Restorasyonun Bağlanma Kuvvetine Etkilerinin Değerlendirilmesi' başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: **Olga DEMİR**

Tarih : **.....**

İmza : **.....**

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Pedodonti Anabilim Dalında

Olgu DEMİRCİ tarafından hazırlanan

‘Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanımının Süt Dişi Dentin Çürük Lezyonlarında Remineralizasyon ve Restorasyonun Bağlanma Kuvvetine Etkilerinin Değerlendirilmesi’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

02/12/2022

Prof. Dr. Alev ALAÇAM

Doç. Dr. Burcu Nilhan YÜKSEL

Prof. Dr. Zeynep ÖKTE

Prof. Dr. Haluk BODUR

Prof. Dr. Tuğba BEZGİN

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii

1. GİRİŞ	1
1.1. Dişin Mineral Yapısı ve Bileşenleri	1
1.2. Minenin Yapısı	1
1.3. Dentinin Yapısı	1
1.3.1. Dentinin Organik Yapısı	3
1.3.1.1. Kolajen	4
1.3.1.2. Nonkolajenöz Makromoleküller (NCP)	4
1.3.1.3. Dentinin İnorganik Yapısı	5
1.3.1.4. Süt ve Daimi Diş Dentinin Farklılıkları	6
1.4. Çürük	7
1.4.1. Demineralizasyon	7
1.4.1.1. Dentinde Demineralizasyon	8
1.4.1.1.1. Dentin Demineralizasyonunda Organik Matriks	9
1.4.1.1.2. Dentin Demineralizasyonunda İnorganik Matriks	11
1.4.2. Remineralizasyon	12
1.4.2.1. Dentin Remineralizasyonu	13
1.4.2.1.1. Organik ve İnorganik Matriksin Remineralizasyondaki Rolü	15
1.5. Dentin Remineralizasyonunda Kullanılan Ajanlar	16
1.5.1. Florür İçerikli Ajanlar	17
1.5.1.1. Gümüş Diamin Florür	18
1.6. Gümüş Diamin Florürün Etki Mekanizmaları	19
1.6.1. Gümüş Diamin Florürün Mikroorganizmalar Üzerindeki Etkisi	19
1.6.2. Gümüş Diamin Florürün Dentin Üzerindeki Etkisi	20
1.6.2.1. Gümüş Diamin Florürün Dentin İnorganik Dokusuna Etkisi	20
1.6.2.2. Gümüş Diamin Florürün Hidroksiapatit Üzerine Etkisi	21
1.7. Gümüş Diamin Florürün'ün Klinik Uygulamaları	21
1.7.1. Dentin Hipersensivite Tedavisi	23
1.7.2. Hipomineralize Molarların Remineralizasyonu	23
1.7.3. Endodontik Tedavilerde Kök Kanal Dezenfektanı Olarak Kullanımı	24
1.7.4. Dental Erozyonda GDF Kullanımı	24

1.7.5. Gingivitis Tedavisi	25
1.7.6. Diş Çürüğünün Yönetimi	25
1.7.7. GDF'nin Uygulanma Yöntemi, Sıklığı ve Takibi	26
1.7.8. Vaka Seçimi	28
1.7.9. Gümüş Diamin Florür'e Potasyum İyodür İlavesi	29
1.7.10. Gümüş Diamin Florür Toksisitesi	30
1.8. Bitkisel Kaynaklı Remineralizasyon Ajanları	30
1.8.1. Üzüm Çekirdeği Ekstresi (ÜÇE)	31
1.8.2. Proantosiyonidin	32
1.8.2.1. Proantosiyonidinin Matriks Metalloproteinazlar Üzerine Etkisi	34
1.9. Dentin Remineralizasyon Ajanlarının Bağlantı Dayanımı Üzerine Etkisi	35
1.9.1. Gümüş Diamin Florürün Bağlanmada Etkisi	36
1.9.2. Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Bağlanmada Etkisi	37
1.10. Restoratif Materyallerin Diş Dokularına Bağlanma Kuvvetinin Test Yöntemleri	39
1.10.1. Makaslama (Shear) Bağlantı Dayanımı Testleri	39
1.10.2. Çekme (Tensile) Bağlantı Dayanımı Testleri	40
1.11. Remineralize Edici Ajanların Etkinliğinin Kantitatif Değerlendirme Yöntemleri	41
1.11.1. Konfokal Lazer Mikroskop	41
1.11.2. Transvers Mikroradyografi (TMR)	41
1.11.3. Uzunlamasına Mikroradyografi (LMR)	42
1.11.4. Mikrosertlik Analiz Yöntemi	42
1.11.4.1. Knoop sertlik ölçüm yöntemi	42
1.11.4.2. Vickers sertlik ölçüm yöntemi	43
1.11.5. Elektron Mikroskopları (SEM ve TEM) Kullanılarak Yapılan Analiz	43
1.11.6. Kantitatif Işık Etkili Floresans (QLFTM)	44
1.11.7. Optik Koherens Tomografi (OCT)	44
1.12. Yapay Çürük Modelleri	44
1.12.1. In Vitro Modeller	45
1.12.1.1. Asit Tamponlarının Kullanıldığı In Vitro Demineralizasyon Modelleri	45
1.12.1.2. Asidojenik Bakteri Ürünleri ile Hazırlanan In Vitro Demineralizasyon Modelleri	46
1.12.1.3. pH Döngüsü Modeli Kullanılan Çalışma Modelleri	46
1.12.2. In Vivo Modeller	47
1.12.3. In Situ Modeller	47
1.13. Amaç	48
2. GEREÇ VE YÖNTEM	50
2.1. Etik Kurul Onayı	50
2.2. Örneklem Sayısının Belirlenmesi	50
2.3. Örneklerin Hazırlanması	51
2.4. Dentin Örneklerinin Demineralizasyonu	52
2.4.1. pH Siklusu	53
2.5. Çalışmada Kullanılan Remineralizasyon Ajanları:	54

2.5.1. Remineralizasyon Ajanlarının Uygulanması	55
2.5.2. Gümüş Diamin Florür Uygulanması	55
2.5.3. Üzüm Çekirdeği Ekstresi Uygulanması	56
2.5.4. Üzüm Çekirdeği ve Gümüş Diamin Florür Kombine Uygulanması	56
2.6. Mikrosertlik Ölçümü	58
2.7. Bağlantı Kuvveti Ölçümleri	59
2.8. SEM Analizi	61
2.9. İstatiksel Analiz	62
3. BULGULAR	63
3.1. Mikrosertlik Test Bulguları	63
3.2. Bağlantı Kuvveti Test Bulguları	66
3.3. SEM ve EDX Analizlerinin Bulguları	69
3.3.1. Demineralizasyon Grubuna Ait Bulgular	69
3.3.2. Gümüş Diamin Florür Grubuna Ait Bulgular	70
3.3.3. Üzüm Çekirdeği Ekstresi Grubuna Ait Bulgular	71
3.3.4. Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanıldığı Gruba Ait Bulgular	72
3.3.5. EDX Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması	73
4. TARTIŞMA	74
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	90
ÖZET	92
SUMMARY	94
KAYNAKLAR	96
EKLER	112
EK-1 Etik Kurul Kararı	112
EK-2 Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formları	116
ÖZGEÇMİŞ	119

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince bilgisi, tecrübesi ile bana her konuda destek olan; çalışma süresince sabırla ve özveriyle bana yol gösteren; pozitifliği ile beni her konuda yüreklendiren, odasındaki sohbetlerimiz ile yüzümü gülümseten; öğrencisi olmaktan gurur duyduğum ve rehber olarak gördüğüm, doktoramdaki yol göstericim kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Zeynep ÖKTE'ye;

Bir parçası olmaktan ve daima gurur duyduğum Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda bulunan, bilimsel ve mesleki tecrübelerinden yararlandığım, eğitim sürecinde bilgisini ve desteğini esirgemeyen tüm saygıdeğer öğretim üyeleri'ne;

Tez çalışmamda yardımları ve desteklerini daima hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Orhan ATAOL hocama;

Akademik bilgileri, klinik tecrübeleri, yardımseverlikleri ve yeri geldiğinde bir abi ve abla gibi sohbetleri ile kapılarını her zaman çalabildiğim Doç. Dr. Akif DEMİREL ve Doç. Dr. Burcu Nihan YÜKSEL hocama;

Doktora eğitimine beraber başladığım, ilk günden beri desteklerini hissettiğim, birlikte öğrendiğim eş kıdemli asistan arkadaşlarım Emine AKYILDIZ, Nur Sena ÖNDER, Hazal Sıla ERTEKİN ve diğer asistan arkadaşlarıma;

Projemdeki destekleri için TÜBİTAK ARDEB koordinatörlüğüne;

Hayatımın her evresinde uzun zamandır yanımda olan, tez sürecinde desteğini esirgemeyen dostum, Oğuzhan GÜLER'e, çok uzaklarda olsa bile yanımda olmayı başarabilen kardeşim Mustafa Yiğit ELMAS'a;

Uzun zamandır hayatımın her evresinde desteğini hep yanımda hissettiğim, beni ara ara akademik olarak sabote eden ama genelde yüzümü bir şekilde hep güldüren en yakın arkadaşım Ezgi Su SARIAL'a;

Bugünlere gelebilmem için sonsuz sevgileriyle her türlü fedakârlığı gösteren, desteği ve sevgisiyle her zaman yanımda olduğunu hissettiğim canım babam Necdet DEMİRCİ ve attığım her adımda arkamda olan, sevgisini her gün hissettiğim canım annem Binnur DEMİRCİ'ye; kardeşi olmaktan gurur duyduğum her şeyimi paylaşabildiğim canım sevgili ablam Ezgi DEMİRCİ'ye

Sevgi, saygı ve tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzdelik değer
°	Derece
<	Küçüktür
>	Büyüktür
±	Artı- Eksi
α	Alfa
AAPD	American Academy of Pediatric Dentistry
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACP	Amorf Kalsiyum Fosfat
AgCl	Gümüş Klorür
C	Kateşin
CaCl ₂	Kalsiyum Klorür
CaF ₂	Kalsiyum Florür
dk	Dakika
DMP	Dentin Matriks Proteini
EAPD	European Academy of Paediatric Dentistry
EC	Epikateşin
EKG	Epikateşin Gallat
EG	Kateşin Gallat
eV	Elektro Volt
F	Florür
F ⁻	Florür İyonu
FDA	Food and Drug Administration
FOTI	Fiber Optik Transilluminasyon
FTIR	Kızıl Ötesi Spektrometri
g	Gram
GDF	Gümüş Diamin Florür
HAP	Hidroksiapatit

HF	Hidrojen Florür
IRF	Infrared Floresans
K	Potasyum
KCl	Potasyum Klorür
kg	Kilogram
LF	Lazer Floresans
M	Molarite
Mn	Manganez
Mg	Miligram
MIH	Molar Incisor Hypomineralisation
Mikro-BT	Mikro Bilgisayarlı Tomografi
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NaH ₂ PO ₄	Monosodyum Fosfat
NaF	Sodyum Florür
NCP	Non-kolajenöz proteinler
N	Newton
OCT	Optik Koherens Tomografi
PA	Proantosiyanidin
PG	Proteoglikan
pH	Power of Hydrogen
ppm	Parts Per Million
PP-H	Fosfoproteinler
QLFTM	Kantitatif Işık Etkili Floresans
SEM	Scanning Electron Microscope
TEM	Transfusion Electron Microscope
ÜÇE	Üzüm Çekirdeği Ekstresi
VHN	Vickers Hardness Number
Zn	Çinko
µM	Mikrometre

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Dentin tübüllerinin anatomik şeması	3
Şekil 1.2. Dentin Matriksinde Bulunan Kolajenin Ekstra-Fibriller ve İntra-fibriller Alanlarına Çökelen Mineraller	16
Şekil 2.1. Örneklerin kesilme doğrultusu	51
Şekil 2.2. Diş örneklerinin 4 parçaya bölünmesi	51
Şekil 2.3. Dentin yüzeyleri zımparalanmış ve cilalanmış örnek kesitleri	52
Şekil 2.4. %38'lik 44.800 ppm gümüş diamin florür preperatı	54
Şekil 2.5. Üzüm çekirdeği ekstresi	54
Şekil 2.6. 6,5 gr Üzüm çekirdeği ekstresi	54
Şekil 2.7. 100ml Üzüm çekirdeği solüsyonu	54
Şekil 2.8. Örnek yüzeylerine gümüş diamin florür uygulaması	55
Şekil 2.9. Uygulama için ayrılmış üzüm çekirdeği ekstresi	56
Şekil 2.10. Örnek yüzeylerine ÜÇE solüsyonun uygulanması	56
Şekil 2.11. Deney prosedürünü anlatan şema	57
Şekil 2.12. Instron Testor Cihazı	58
Şekil 2.13. 50g Yük altında mikrosertlik ölçümü	58
Şekil 2.14. Yapılan üç adet mikrosertlik ölçümü	58
Şekil 2.15. Silikon kalıp şeması	59
Şekil 2.16. Silikon kalıp	59
Şekil 2.17. EQUIA Forte HT Fil kapsül	59
Şekil 2.18. Hazırlanmış Örnekler	59
Şekil 2.19. Zwick/Roell Mekanik test cihazı	60
Şekil 2.20. Bağlanma kuvveti ölçümü	60
Şekil 2.21. Quanta 400F SEM cihazı	61
Şekil 2.22. Örneklerin Au-Pd ile kaplanması	61
Şekil 2.23. Örneklerden çeşitli büyütmelerde görüntü alınması	61
Şekil 3.1. Gruplar arası ortalama mikrosertlik değerleri	64
Şekil 3.2. Ortalama MPa değerleri	67
Şekil 3.3. x2.000 büyütmedeki görüntü	69

Şekil 3.4. x10.000 büyütmedeki görüntü	69
Şekil 3.5. x20.000 büyütmedeki görüntü	69
Şekil 3.6. EDX Analizi	69
Şekil 3.7. x2.000 büyütmedeki görüntü	70
Şekil 3.8. x10.000 büyütmedeki görüntü	70
Şekil 3.9. x20.000 büyütmedeki görüntü	70
Şekil 3.10. EDX Analizi	70
Şekil 3.11. x2.000 büyütmedeki görüntü	71
Şekil 3.12. x10.000 büyütmedeki görüntü	71
Şekil 3.13. x20.000 büyütmedeki görüntü	71
Şekil 3.14. EDX Analizi	71
Şekil 3.15. x2.000 büyütmedeki görüntü	72
Şekil 3.16. x10.000 büyütmedeki görüntü	72
Şekil 3.17. x20.000 büyütmedeki görüntü	72
Şekil 3.18. EDX Analizi	72

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Gümüş diamin florürün ticari isimleri ve konsantrasyonları	22
Çizelge 3.1. VHN cinsinden mikrosertlik ölçümleri	63
Çizelge 3.2. Mikrosertlik değerlerinin istatistiksel analizi	64
Çizelge 3.3. MPa biriminden bağlantı kuvvetleri	66
Çizelge 3.4. Bağlanma kuvvetine ait istatistiksel veriler	67
Çizelge 3.5. EDX analiz sonuçları (nanogram biriminde)	73



1. GİRİŞ

1.1. Dişin Mineral Yapısı ve Bileşenleri

Histolojik olarak dişin sert dokuları mine, dentin ve sementten oluşmaktadır (Shahmoradi ve ark., 2014). Dişin dayanıklılığı, yapısını oluşturan bu dokuların içeriğine ve özelliklerine bağlıdır. Mine, diş kronunu kaplayan sert, inert ve hücresiz bir dokudur. Dentin, dişin büyük kısmını oluşturur, sert ve kırılman olan mine için yapısal destek sağlar (Kahler ve ark., 2003). Sement, kök bölgesine doğru dentin yüzeyini kaplar ve periodontal lifler için dayanak noktası oluşturarak dişe gelen fonksiyonel kuvvetleri karşılar (Astekar ve ark., 2014).

1.2. Minenin Yapısı

Mine kendini onarma veya yenileme özelliği olmayan avasküler ve aselüler bir yapıya sahiptir (Zeichner-David, 2001). İnsan vücudundaki en fazla mineralize doku olan diş minesi, %96 oranında, büyük kısmı karbon içerikli hidroksi apatit kristalleri olan inorganik minerallerden oluşmaktadır. Organik matriks kalıntıları ve zayıf bağlantıdaki su molekülleri minenin diğer bileşenlerini oluşturur (Ten Cate, 2008).

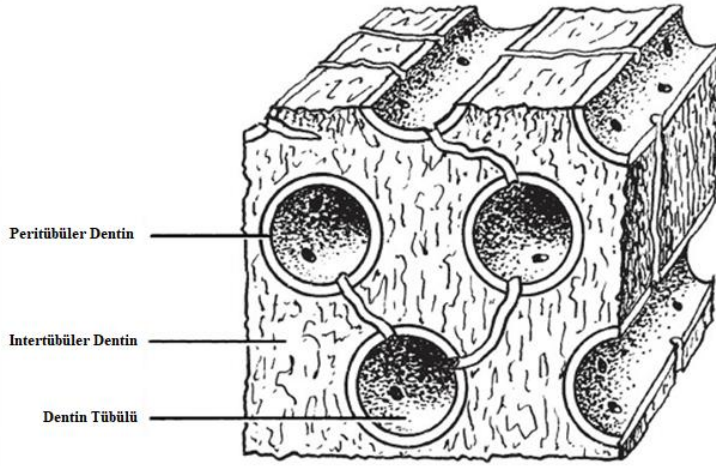
1.3. Dentinin Yapısı

Dentinin yaklaşık %70'i inorganik maddelerden, %20'si organik matriksten, %10'u ise sudan oluşmaktadır. Hidroksiapatit, bu inorganik yapının önemli komponentlerinden biridir. $[Ca^{10}(PO_4)^6(OH)_2]$. Bu organik matriksin %90'ı kolajendir (Tjäderhane ve ark., 2009). Organik matriksin geri kalan %10'luk kısmını ise fosfoproteinler, proteoglikanlar, asidik glikoproteinler, büyüme faktörleri ve yağlar oluşturur. Süt ve daimi diş dentini morfolojik yapıları ve histolojik özellikleri bakımından birbirine benzemekte olup, süt dişi dentini postnatal ve prenatal olmak üzere iki tabakadan oluşur. Prenatal dentinin yoğun ve homojen

yapısına karşılık postnatal dentin daha az yoğun ve daha pöröz bir yapı gösterir (Goldberg ve Takagi, 1993; D. A. Sumikawa ve ark., 1999).

Dentin, dental papillanın ektomezanşimal hücrelerinden farklılaşan odontoblastlar tarafından dentinogenezis adı verilen bir süreç ile oluşur (Ten Cate, 2008). Dentin komplike proteinler ve organize olmuş mineral yapılarından oluşan oldukça karmaşık bir yapıdır. Bu yapılar bir araya gelerek rijit ve mineralden zengin bir biyokompozit yapıyı meydana getirir (L. E. Bertassoni ve ark., 2012). Dentinde diğer kolajen tipleri de bulunmasına rağmen, esas olarak tip I kolajenlerden oluşmaktadır (Goldberg ve ark., 1993). Dentinin geri kalan organik kısmı ise, mekanik ve yapısal dayanıklılığı sağlayan non-kollojenöz proteoglikanlardan (PG) oluşmaktadır (Luiz E. Bertassoni ve ark., 2012).

Yapısal olarak dentinde bulunan, 1-2 µm çapındaki tübüller, peritübüler dentin adı verilen yüksek derecede mineralize bir katman ile çevrilidir. Dentin tübülleri, intertübüler dentin adı verilen ve daha düşük derecede mineralizasyona sahip bir dentin ile birbirlerine bağlanmış durumdadırlar (Şekil 1.1) (Frank, 1959; Takuma, 1960). Tübüller içinde, dentin matriksinin sentezi sırasında görev alan odontoblastların sitoplazmik uzantıları ve proteinler ve proteoglikanları içeren organik dentin sıvısı bulunur (Gotliv ve ark., 2006). Peritübüler dentin, kolajen fibriller içermeyen proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar ve fosforlanmış proteinlerden oluşan kompakt kompozit bir materyaldir (Bertassoni ve ark., 2012). İntertübüler dentin ise kolajen molekül kümelerinden oluşmaktadır. Bu kümeler, tip I fibrillerin ve kolajen barındırmayan diğer moleküllerin içerdikleri su ile beraber aralarında köprüler kurmasıyla oluşmaktadır (Bertassoni ve Swain, 2014). Organik ve inorganik yapıların bu şekildeki etkileşimi sonucu olağan üstü dirence sahip biyo-kompozit bir yapı meydana gelmektedir. Bu yapı kırılğan mine için bir temel oluştururken aynı zamanda canlı pulpa dokusu için koruyucu bir bariyer görevi görmektedir. Ayrıca, yapısal olarak kırılğan olan mine tabakasında oluşan çatlaklar bu temel sayesinde dentin dokusuna daha fazla ilerleyememektedirler (Marshall, 1993)



Şekil 1.1. Dentin tübüllerinin anatomik şeması (Jimenez, 2015)

Mine-dentin birleşim yeri mikroskop altında incelendiğinde taraksı ve hipermineralize bir alan olarak belirgin şekilde seçilebilmektedir. Bu yapının varlığı, oluşma biçimi, mine ve dentinin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünde önemli rol oynar. Mine-dentin birleşim yerini takiben dentin dokusuna doğru mikroskop altında izlenen taraksı görüntüler dentin tübüllerinin başlangıç noktalarını oluşturur. Dentin tübüllerinin varlığı yüzünden, dentin mineye göre daha geçirgindir (White ve ark., 2005).

1.3.1. Dentinin Organik Yapısı

Dentin organik yapısının %90' a yakın kısmını kolajenler oluşturmaktadır. Bu kolajenlerden, tip I kolajen en fazla bulunurken, tip III, IV ve V kolajen daha az ve değişken oranlarda dentin organik yapısında yer alır (Linde ve Goldberg, 1993). Dentinin geri kalan organik yapısının %10'nu nonkollajenez proteinler olan peptitoglikanlar, fosforin, dentin sialoproteinleri ve %2 oranında lipidler oluşturur (Ten Cate, 2008).

1.3.1.1. Kolajen

Kolajen, vücudun çeşitli bağ dokularında bulunan hücre dışı matristeki ana yapısal proteinlerinden biridir. İnsan vücudunda bulunan kolajenin %90'ı tip I kolajendir ve dentin matriksinde de bu durum aynıdır (Ten Cate, 2008). Tip I kolajen, ikisi birbirinin aynı olan üç tane alfa (α 1) zincirinden oluşmaktadır. Her zincir 1000 kadar amino asit kalıntıları içermektedir (Linde ve ark., 1993).

Dentin dokusu içerisinde çubuk benzeri kolajen molekülleri, uzunlamasına fibriller bir yapı oluşturacak biçimde kümelenmektedir. Bu dizilme şekline bağlı olarak, fibrillerin diğer moleküller ile kesiştiği alanlarda farklı açılarda düzlemler ve boşluklar meydana gelmektedir. Dentin dokusundaki kolajenin, elektron mikroskopu altında çapraz çizgi şeklinde görünmesinin sebebi budur (Miller ve Gay, 1987).

Kolajen, vücudun diğer dokularındakine benzeyen bir mekanizma ile odontoblast hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Odontoblastlar, predentin boyunca kolajeni oluşturarak fibrilisel bir ağ meydana getirirler. Kolajen, odontoblast hücre gövdelerinin yakınında az yoğunlukta iken predentin-dentin birleşim yerine doğru maksimum yoğunluğuna ulaşır. Sentez aşaması odontoblast hücrelerinin endoplazmik retikulumlarında pro-kolajenin kolajene dönüştürülmesiyle gerçekleşir. Tek alfa zincirlerine göre pro-kolajen halkaları molekülün üçte birini oluşturacak şekilde amino ve karboksil uçlarında uzantılara sahiptir (Eyre, 1987; Linde ve ark., 1993).

1.3.1.2. Nonkolajenöz Makromoleküller (NCP)

Mineralize olmuş bağ dokusunun ekstrasellüler matriksi (ESM) üç boyutlu kompleks makromoleküller bir yapıdır. ESM içerisinde mineralize kolajen fibrillere ilave olarak fosfoproteinler, glikoproteinler, proteoglikanlar (PGs), glikozaminoglikanlar (GAGs), büyüme faktörleri ve proteazlar bulunmaktadır (Theocharis ve ark., 2016).

Bütün dentin türlerinde bulunan majör NCP yapılarından biri fosfoproteinlerdir (PP-H). Farklı derecelerde fosforlanmış proteinler dentinden izole edilebilmektedir. PP-H'ler kemik matriksinde bulunmaz iken dentin dokusundaki NCP'lerin yarısından fazla bir oranını oluştururlar (Linde ve ark., 1993).

Dentin organik matriksinde glikozaminoglikanlar (GAGs) denilen negatif yüklü polisakkaritler yer almaktadır. Bu polisakkaritler, PGs'lar arasında kovalent bağları oluştururlar. Oluşturdukları bu kovalent bağ ile organik matriks içerisinde su tutabilen hidrofilik bir yapı meydana gelir (Mickenausch, 2005).

1.3.1.3. Dentinin İnorganik Yapısı

Dentin mineralize bir doku olup, hidroksiapatit kristalleri mineral yapısının büyü kısmını oluşturmaktadır. Bu kristallerin uzunlukları 20 ila 50 nm, kalınlıkları ise 12 ila 20 nm arasında değişmektedir. Dentinin diğer majör inorganik bileşenleri arasında karbonat, magnezyum, potasyum, demir, çinko, stronsiyum ve kurşun sayılabilir. Dentinin minör inorganik bileşenleri ise karbonat, sodyum ve magnezyumdur (Tymczyna-Borowicz ve ark., 2019).

Hidroksiapatit kristaller dentinde düzensiz bir biçimde dağılmış iken, minede ise düzenli bir biçimde dizilmişlerdir. Ayrıca dentindeki hidroksiapatit kristalleri mineye göre daha küçük boyutta ve daha az miktarda kalsiyum ile karbonat içerirler. Mine dokusunda bulunan hidroksiapatit kristalleri hacimsel olarak daha fazla yüzey alanına sahiptirler. Budan dolayı, dentin asitten daha kolay etkilenir ve mineyle karşılaştırıldığında dentin çürüğü daha hızlı ilerlemektedir (M. Goldberg ve ark., 2011).

1.3.1.4. Süt ve Daimi Diş Dentinin Farklılıkları

Uzun yıllar süt ve daimî dişlerin morfolojisi, bileşimi ve histolojik yapısının benzer olduğu varsayılmıştır. Ancak, yapılan çalışmalar daimî ve süt dişlerinin arasında, dentinin mekaniksel özelliklerini etkileyecek önemli farklılıkların olduğunu göstermiştir (Agematsu ve ark., 1990; Hirayama ve ark., 1986; Yi ve ark., 2021).

Mikroskobik incelemelerde, dentin tübüllerinin yapısı oldukça önemli bir farklılık göstermektedir. Süt dişlerinde dentin tübüllerinin sayısı, daimî dişlere oranla daha fazladır ve tübüllerin açılanmaları kalıcı dişlere göre, özellikle furkasyon bölgesine doğru, daha diverjandır. Bu farkın nedeni, dentin-mine birleşim yerine yakın dentin yüzey alanının, pulpaya yakın dentin yüzey alanından daha az olmasına bağlanabilir. Aynı zamanda peritübüler dentin, intertübüler dentin ve çevresel dentin oluşumları sırasında bu alansal farklılıktan etkilenmektedir (Jain, 2015).

Morfolojik ve histolojik olarak süt ve daimi dişlerin yapısı benzer olsa da, daimi dişlerde dentinin mineral konsantrasyonunun daha fazla olması, dış kuvvetlere karşı daha fazla dayanıklılık kazandırmaktadır (Chowdhary ve Reddy, 2010). Kalsifiye bir dokunun mekanik özelliklerinin genel olarak mineral içeriğine bağlı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, daimî ve süt dişleri arasındaki mineral ve kristal yapı farklılıkları, süt dişlerinde gözlenen mekanik özelliklerin daha zayıf olmasını açıklamaktadır (Mahoney ve ark., 2000; Oliveira ve ark., 2009; Poolthong, 1998).

Süt dişleri, daimi dişlere göre daha fazla oranda potasyum (K), manganez (Mn) ve magnezyum (Mg) içerirken, daha az oranda sodyum (Na) ve çinko (Zn) içerirler (Lakomaa ve Rytömaa, 1977). Ayrıca, süt dişlerinin organik içeriğinin fazla olmasından dolayı, dentin boyunca kolajen konsantrasyonu daha fazladır ve buna bağlı olarak proteaz enzimlerine daha duyarlıdırlar (Maravic ve ark., 2021).

1.4. Çürük

Diş çürükleri, biyofilm aracılı, diyet ile modüle, çok faktörlü, dinamik bir hastalıktır ve diş sert dokularında mineral kaybıyla sonuçlanır. Biyolojik, davranışsal, psikososyal ve çevresel faktörler çürük oluşumunda etkilidir (Machiulskiene ve ark., 2020).

Çürüğün, düşük pH ortamında bulunan H^+ iyonları tarafından dişin inorganik sert dokularında bulunan kalsiyum fosfat kristallerinin organik matriks ile aralarında olan elektrostatik bağlantının fizikokimyasal düzeyde bozulması sonucu, bu kristal yapılarının çözünmesiyle başlayan ve bunun sonucunda makroskobik madde kaybı ile geniş dönüşümsüz kavitasyonun meydana geldiği patolojik bir değişim olduğu bilinmektedir (Nakajima ve ark., 2011).

1.4.1. Demineralizasyon

Hidroksiapatit kristalleri, nötral ve nötrale yakın pH'da termodinamik olarak stabil formdadırlar. Bakteriler, alınan karbonhidratları metabolize etmesi sonucu yan ürün olarak asit oluşturup, ortam pH'ını düşürerek hidroksiapatit kristallerinin çözünmesi sürecine demineralizasyon denilmektedir (Zero, 1999).

Düşük pH'da, kalsiyum ve fosfat iyonların çözünmeyen formda kalabilmeleri için doymun ortama ihtiyaçları vardır. Tükürük, bu kalsiyum ve fosfatın doymuş ortam sağlayarak dentin dokusunun koruyan bir rezervuar olabilir. Ancak pH 5.5'a düştüğü zaman bu mineraller ortam doymunluğu azaldığı için çözünmeye başlar (Larsen, 1990; Ten Cate ve van Loveren, 1999).

Kalsiyum, fosfat ve florür iyonlarının demineralize alan içerisine difüze olmasıyla, kavitasyon başlamamış lezyonlar içerisindeki kristaller yeniden tamir olabilmekte ve

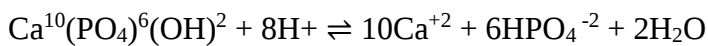
demineralizasyonun etkisi geri dönebilmektedir. Demineralizasyonun tersine döndüğü bu sürece remineralizasyon adı verilir. Demineralizasyon ve remineralizasyon sürekli olarak gerçekleşen bir döngüdür. Demineralizasyon süreci baskın hale geçtiği zaman çürük ilerler. Eğer remineralize edici faktörler baskın hale geçerse çürük ilerlemesi durur ve yeniden mineralizasyon gerçekleşir. pH dış çürüğü oluşumunda kritik öneme sahip olup, demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsünde etkilidir (Featherstone, 2000).

1.4.1.1. Dentinde Demineralizasyon

Dentin çürüğü, hidroksiapatit kristalleri ve inorganik yapıların başta laktik asit olmak üzere asitler tarafından çözülmesiyle başlar. Demineralizasyonda rol oynayan asitler, karyojenik bakterilerin metabolizmal yan ürünleri sonucu ortaya çıkar (Featherstone, 1996). Çürük lezyonu ilerledikçe, dentinin organik matriksi bakteriyel toksinler ve matriks metalloproteazlar (MMP'ler) olarak bilinen bazı intrinsik proteazlar tarafından istila edilir (Chaussain-Miller ve ark., 2006). Bu değişimler sonucu dentinin mikrosertliği, elastik modülü, dentin matriksinin içsel dayanımı doğru orantılı olarak azalır (Ito ve ark., 2005).

Ortaya çıkan lezyon, mineral içeriği, kolajen yıkım oranı, bakteri penetrasyonu ve mekanik özelliklerinde farklılıklar içeren birçok alana sahiptir (Kuboki ve ark., 1977; Pugach ve ark., 2009; Zheng ve ark., 2003).

Hidroksiapatit, kalsiyum fosfatlar grubunun termodinamik olarak en kararlı fazıdır. Ortam pH'sının düşmesiyle hidroksiapatitin (HAP) çözünmesi artar. Ortamdaki Ca^{+2} , PO_4 ve OH^- konsantrasyonlarının bir fonksiyonu olan bu süreç, basitleştirilmiş bir denge denklemiyle ifade edilebilmektedir (Abou Neel ve ark., 2016).



HAP'ın çözünmesinde ortamın pH'ı dışında ortamın termodinamik kinetiği de önemli bir etkidir. Ortamın sıcaklığı ile difüze halde bulunan iyon kinetiği ne kadar fazla ise HAP'ın çözünürlüğü ve buna bağlı olarak lezyonun oluşma hızı doğru orantılı şekilde artacaktır (Ehrlich ve ark., 2009).

1.4.1.1.1. Dentin Demineralizasyonunda Organik Matriks

Dentin hacminin yaklaşık %30'u organik matriksten oluştuğundan, dentinde çürük yıkımı minedekinden farklı mekanizmalar ile ilerler. Geçmişte, organik matriksin tahribatının esas olarak bakteriyel kolajenazlardan kaynaklandığı düşünülmekteydi (Kleter ve ark., 1994). Daha sonra Kawasaki ve Featherstone (1997), bakteriyel kökenli kolajenazların demineralizasyon sırasında pH'ın düşmesiyle beraber inaktive olduğunu ve bu nedenle matriks yıkımının sadece bakteriyel kolajenazlar tarafından olmadığını göstermişlerdir. Pashley ve ark. (2004) dentin matriksinde veya tükürükte bulunan MMP'lerin dentin çürüğü sürecinde önemli bir rolü olduğunu öne sürmüşlerdir. Genel olarak, MMP'ler yaygın olarak birçok süreçte yer alır ve hem normal hem de patolojik olaylara katkıda bulunabilir. MMP-8 (nötrofil kolajenazlar), interstisyel kolajen tip I, II ve III'ü parçalama kabiliyetine sahiptir. MMP-8'deki kolajenazlar hücre içi ve hücre dışı matriks moleküllerini parçalayabilir. MMP-2 (jelatinaz A) ve MMP-9'un (jelatinaz B) sadece denatüre kolajen moleküllerini (jelatin) ve tip IV kolajeni değil, aynı zamanda diğer proteinleri de katalize edici rolü vardır (Hannas ve ark., 2007).

Dentin, demineralizasyona uğradığı zaman, yapısında bulunan kolajen ağı bozulur ve dentinin mineral matriksinde bulunan matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) ve sistein-katepsinler (CC'ler) gibi endojenik proteaz enzimleri aktive olur. Bu proteazlar, dentin matriksinin yapısını bozar ve aynı zamanda, kolajenin enzimatik aracılı hidrolizini hızlandırarak çürüğün oluşma sürecini başlatırlar (Scheffel ve ark., 2020).

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), bütün ekstrasellüler matriks bileşenleri parçalayabilen, aynı zamanda birçok biyolojik ve patolojik süreçte önemli bir rol oynayan Zn^{+}

ve Ca^{+} iyonuna bağımlı enzimlerin bir ailesidir. MMP'ler çoğunlukla aktif olmayan proenzimler (zimojenler) olarak salgılanır; burada inaktif proteinler, katalitik alanın fonksiyonel aktivitesini engeller. Aktivasyon, katalitik çinko ile inaktif proteinler arasındaki köprü, diğer MMP'ler, sistein katepsinler veya diğer proteinazlar tarafından ön kimyasal olarak meydana gelen pH değişiklikleri ile gerçekleşir (Tjäderhane ve ark., 2015).

MMP'ler, odontoblastlar tarafından proenzim olarak sentezlenir ve çeşitli mekanizmalar sonucu bu enzimler aktif hale gelir. Dentin dokusu mineralize olduğu sürece bu enzimler inaktif halde bulunurlar ancak demineralizasyon meydana geldiği zaman ortaya çıkar ve kolajen dejenerasyonunu başlatırlar (Sajjanhar ve ark., 2017). MMP'lerin aktive olduğu bir diğer yol ise düşük pH ortamında sistein-katepsinlerin MMP'ler de bulunan amino asit reseptörüne bağlanması ile olur. Sistein ve katepsinler birer amino asit türevidir ve doğru koşullarda MMP'ler üzerinden vücutta bulunan diğer hücrelerin proteolitik sürecini başlatırlar (Mahalaxmi ve ark., 2016).

Demineralizasyon evresi, dentin organik matriksinde yer alan tip I kolajenlere bağlı olarak karmaşık aşamalar ile ilerleyen bir süreçtir. Lezyon yüzeyinde bulunan demineralize organik matriks (DOM), demineralize alanın dışındaki ortam ve içindeki iyonların difüzyonuyla etkileşerek, sonraki asit atakları sırasında erozyonun oluşumunu belirleyecek olan bir iyon dengesine girer (Ganss ve ark., 2004). Ancak, pepsin veya matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) gibi proteazların ve dentinde yapısal olarak bulunan katepsinlerin dejeneratif etkisiyle demineralizasyonun ilerlemesini hızlandırabilir (Martines de Souza ve ark., 2017).

DOM'da başlayan ve ilerleyen lezyonlar mineral çözünmesi dışında, proteazların litik aktiviteleriyle de oluşabilmektedir. İn vitro olarak yapılan çalışmalarda ortamdan DOM uzaklaştırıldığı zaman, çürüğün daha yavaş ilerlediği gösterilmiştir (Martines de Souza ve ark., 2017).

Belli oranda demineralize olmuş dentinde, MMP'ler, sistein ve katepsinler, kolajen moleküllerinin terminal non-heliksel uçlarını (telopeptidler) degrade etmeye başlamasıyla, moleküller arası boşlukların kademeli olarak kaybolmasına neden olabilmektedir. Bu olay, matriksin intrafibiller arası alanların birbirleri üzerine çökmesiyle, remineralizasyon gerçekleşmesini zorlaştırır ve buna bağlı olarak dentinin mekanik özelliklerinin geri kazanmasını güçleştirir (Tjäderhane ve ark., 2015).

Süt ve daimî dişler arasındaki mineralizasyon oranı, proteolitik aktivite miktarı ve matriks dejenerasyonu hızı gibi farklılıklar, çürüğün önlenmesini, restoratif materyal seçimini ve restoratif protokolleri etkileyebilir (Scheffel ve ark., 2020).

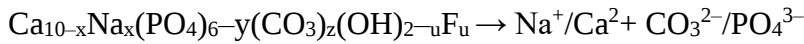
1.4.1.1.2. Dentin Demineralizasyonunda İnorganik Matriks

Mineralize dentinde, kolajen fibrilleri hidroksiapatit (HAP) kristalleri tarafından bozulmadan korunmaktadır. HAP kristalleri heksagonal bir yapı ile kafes formuyla kolajenleri çevreler ve bu yapı demineralizasyon sırasında birçok mineral iyonu kaybetmesine rağmen formunu koruyabilmektedir (Abou Neel ve ark., 2016).

HAP aside maruz kalarak çözündükçe, dişler daha yumuşak hale gelir ve bu nedenle mekanik aşınmaya daha duyarlı bir hal alırlar. Çözünen hidroksil iyonları, HAP içerisindeki karbonat veya fosfat ile bağlanır ve anyonları kimyasal reaksiyon ile solüsyon ortamına bırakır. Karbonat fosfattan daha reaktif bir moleküldür. Reaksiyona girmesi için daha düşük oranda hidroksil iyon konsantrasyonu gerektirir. Bu nedenle HAP içerisinde ne kadar karbonat barındırırsa o kadar kolay demineralize olabilmektedir (Wiegand ve Attin, 2007).

Şelasyon, düşük pH'da HAP yüzeyinin kararsızlaşmasına neden olarak fosfat bağlarını zayıflatır (Featherstone ve Lussi, 2006). Karboksilik asitler tarafından oluşturulan hidroksil iyonu, fosfat ile kolayca bağlanarak fosfat katyonları oluşturur. Bu katyonlar, çevreleyen matriksteki mineral iyonlarını çözerek yaygın demineralizasyon yaratarak kalsiyum asit

şelasyon kompleksi oluştururlar. Nadiren bu bileşikler HAP tabakasının yüzeyine yakın kalarak minimal demineralizasyon yaratabilirler (Lussi ve Jaeggi, 2008). Karboksilik asitler ayrıca şelasyon yoluyla HAP yapısına zarar verir. Sitrik asit (C₆H₈O₇) gibi meyve asitleri bunun yaygın olarak bulunan örnekleridir. Sitrik asitte, karboksil (COOH) grubu ayrışır, hidronyum (H₃O⁺) için H⁺ oluşturur ve bir COO⁻ anyonunun kalsiyum şelasyon ile bağlamasına izin verir (Taji ve Seow, 2010).



Dentinde bulunan HAP daha geniş yüzey alanına sahip olduğu için, asit ataklarına maruz kaldığında çözünmeye olan duyarlılığı, mine dokusunda bulunan HAP'a göre daha fazladır. Bu sebepten dentin mineralleri, mine minerallerine göre daha hızlı çözülür ve dentinde mineye göre daha az toplam mineral bulunduğundan asit atağı dentinde daha hızlı ilerler (Grawish ve ark., 2022). Aynı zamanda HAP'ın çözünme hızı üzerinde sıcaklık önemli bir etkiye sahiptir. Ağızda ortam sıcaklığı, oda sıcaklığından daha yüksektir, bu da çözünme hızını artırır (Burr, 2004; Rytömaa ve ark., 1998).

1.4.2. Remineralizasyon

Remineralizasyon, dentin matriks yapısından kaybedilen minerallerin yeniden dentin yüzeyinde depolanmasıyla meydana gelmektedir ve aynı zamanda çürük oluşum dinamiğinin bir parçasıdır (Hicks ve ark., 2004). Kısmen demineralize olmuş apatit kristalleri, yüksek mineral doygunluğundaki solüsyonlara maruz kalınca orijinal boyutlarına dönebilmektedirler. Remineralizasyon, nötre yakın fizyolojik pH koşulları altında meydana gelir, tükürük ve plak sıvısındaki kalsiyum ve fosfat iyonları çürük lezyonu içinde yeniden birikerek, meydana gelebilecek yeni asit ataklarına karşı daha dirençli olan daha büyük boyutta ve dayanıklı yeni HAP kristallerinin oluşumuna neden olur (Arifa ve ark., 2019).

Demineralizasyon ve remineralizasyon sürecinin kimyasal temeli mine, dentin ve sement için benzer niteliktedir. Ancak bu organik yapılar arasındaki mineral oranları ve organik doku içeriğindeki farklılıklar, çürük lezyonunun yapısında ve evrelerinde önemli ayrımlara neden olmaktadır (C. Y. Cao ve ark., 2015).

Remineralizasyonun, mevcut apatit çekirdek kristalitleri üzerinde kalsiyum ve fosfat iyonlarının epitaksiyel birikimiyle başladığı bilinmektedir (Niu ve ark., 2014). Tamamen demineralize dentinde çekirdek kristalitlerinin bu alanlarda bulunmadığı durumda remineralizasyon oluşamaz. Ancak, demineralize kolajen varlığında kalsiyum ve fosfat içerikli nanoprekürsör partiküller kolajen alanlarına çökelerek, apatit kristalitlerinin tekrar oluşabildiği gösterilmiştir (C. Y. Cao ve ark., 2015).

1.4.2.1. Dentin Remineralizasyonu

Çürüğe bağlı demineralize olmuş dentin, eğer bakteriler tarafından enfekte olmamış ise fizyolojik açıdan tekrar mineralize edilebilir. Ancak dentinin mineralizasyonu sahip olduğu organik içerikten dolayı, minedekinden farklı olarak karmaşık mekanizmaları içeren bir sürece sahiptir (Thompson ve ark., 2008).

Mine üzerinde artık şekilde kalmış mineral kristalleri bulunur ancak bu kristaller dentin lezyonlarında yeterince bulunmamaktadır (C. Y. Cao ve ark., 2015). Bu fark, daha az miktarda artık mineral kristallerine ve asitle demineralize olmuş dentin yüzeyinde organik matriksin (esas olarak tip I kolajen) açığa çıkmasına bağlanabilir (Niu ve ark., 2014).

Dentin remineralizasyonunun amacı, demineralize olmuş dentin yüzeyini remineralize ederek, dentin tübüllerini tıkamak ve dentini asit ataklarına karşı korumak adına remineralize olmuş dentin yüzeyinde mine benzeri bir doku tabakası oluşturmaktır (Chris Ying Cao ve ark., 2015; Ning ve ark., 2012). Demineralize dentin dokusunun onarımı, uygun koşullarda

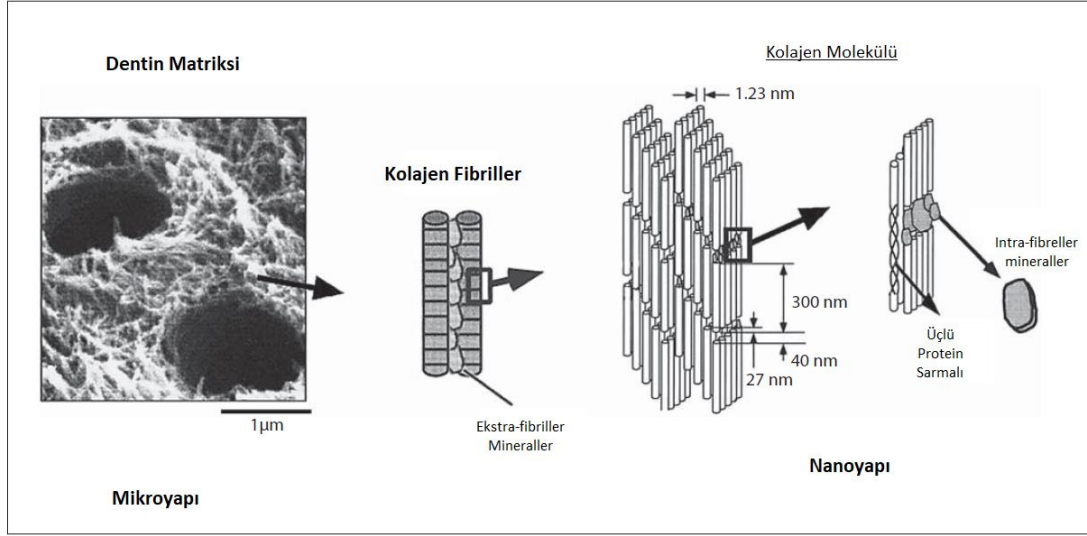
inorganik minerallerin lezyon içerisine çökelmesinden farklı olarak, organik matriksin de dahil olduğu bir süreçle de gerçekleşebilir. Organik matriks aracılı remineralizasyonun en önemli özelliği ise minerak-matriks ara yüzünde moleküllerin etkileşimleriyle oluşan kümelenme alanlarının varlığıdır (Ning ve ark., 2012). Kümelenme bölgeleri, demineralize dentinin kolajen matrisindeki artık kristallerin remineralizasyona başladığı alanlar olarak tanımlanmaktadır. Tamamen ve kısmen demineralize dentin arasındaki temel fark, remineralizasyona öncülük edecek kadar kalan rezidüel kristallerin sayısıdır. Bundan dolayı, kısmen demineralize edilmiş bir kolajen matriksinin remineralizasyonu tamamen demineralize edilmiş kolajen matriksine göre daha kolay gerçekleşmektedir (Mai ve ark., 2009).

Araştırmalarda, intrafibriller mineral eksikliğinde, dentinin mineral bileşimi ve mekanik özellikleri arasındaki beklenen doğru orantılı ilişkinin, doku dehidrate olduğu zaman kaybolduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda, etkilenen dentinin mekanik işlevselliğinin yeniden kurulabilmesi için sadece ektrafibriller bölgelerde değil, intrafibriller boşluk bölgelerinde de mineral geri alımının olması ve hidrate koşulların sağlanması gerektiği bildirilmiştir (Angker ve ark., 2004; Kinney H. ve ark., 2003; Kinney M. ve ark., 2003). Bu nedenle; demineralize dentinin tedavisinde yalnızca kaybolan minerali yerine koymak değil, aynı zamanda alınan mineralin, demineralize matriks ile etkili bir şekilde entegrasyonu sağlanarak, dokunun mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi gereklidir. Matriks sıvısı içerisinde serbest halde bulunan mineraller, kolajen yapıya bağlanmadıkları için kolajen yapısını desteklemezler. Bu durumda kolajen kendi içinde kolabe olup, mekanik özelliklerinde azalma meydana gelir. Bununla birlikte; eğer bu mineraller matrikse bağlanır ve kolajen yapıyı intrafibriller alanları doldurarak destekler ise dentin matriksin doğal dentin matriksine yakın oranda mekanik özelliklerini geri kazandığı gösterilmiştir (Bächli ve ark., 2019; Saito ve ark., 2003).

1.4.2.1.1. Organik ve İnorganik Matriksin Remineralizasyondaki Rolü

Kolajen matriksinin kristal birikimi için bir yapı iskelesi olarak hizmet ettiği, ancak hidroksiapatitin kümelenmesi için bir mekanizma sağlamadığı bilinmektedir (Gajjerman ve ark., 2007). Mineralizasyon oluşumu, organik bileşenlerin %10'unu oluşturan bir takım non-kolajenöz proteinler tarafından (NCP) regüle edilir (Jia ve ark., 2014). Dentinin remineralizasyonunda, kalsiyum iyonları ve kolajen fibrillerine karşı yüksek afiniteye sahip NCP'ler, yüksek derecede fosforile edilmiş serin ve treonin kalıntıları ile dentin matriks proteinini (DMP1) ve dentin fosfoforin (DPP, DMP2) gibi minerallerin çekirdek kümelenmesinden ve büyümesini sorumludur (He ve George, 2004). Bu NCP'ler, inhibitör veya indükleyici nükleatör olarak çalışarak in vivo dentinin mineralizasyonunu indükleyebilir ve düzenleyebilir (Wiesmann ve ark., 2005).

Mineralize dentinin apatit fazında, mikro boyutta kolajen fibriller arasında ekstra-fibriller mineraller, nano boyutta ise kolajen molekülleri arasında intra-fibriller mineraller bulunur. Demineralizasyon meydana geldiğinde, ilk olarak kolajen molekülleri arasındaki intra-fibriller mineraller çözünmeye başlar. İntra-fibriller minerallerin kaybı sonucu, ekstra-fibriller mineraller de çözünür hale gelir ve demineralizasyon sonucunda kolajenler yapısal minerallerini kaybettiği için dış etmenlere açık hale gelir. Remineralizasyonun kolajenler arasında tekrar meydana gelebilmesi için, ortamda çözünmemiş halde nano boyutta intra-fibriller minerallerin kalmış olması gerekir. Eğer bu mineraller olmazsa sağlıklı bir mineralizasyon meydana gelemez. Kolajen molekülleri arasındaki intra-fibriller mineraller tekrar çöker ve moleküler yapıdaki mineralleşme sağlandıktan sonra mikro boyutta çözünmüş olan ekstra-fibriller minerallerinde tekrar kolajen fibrillerin arasında mineralleştiği gözlenir. Bu mekanizma sayesinde mekanik direncini demineralizasyon sonrası kaybeden kolajen fibrilleri, remineralizasyon ile mekanik özelliklerini geri kazanır (Şekil 1.2.) (Bertassoni ve ark., 2011; Kinney Habelitz ve ark., 2003) .



Şekil 1.2. Dentin Matrisinde Bulunan Kolajenin Ekstra-Fibriller ve İntra-fibriller Alanlarına Çökelen Mineraller (Bertassoni ve ark., 2009).

1.5. Dentin Remineralizasyonda Kullanılan Ajanlar

Remineralize edici ajanlar genel olarak aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır (Chandna ve ark., 2016) :

1) Florür içerikli ajanlar:

- Sodyum Florür (NaF)
- Asitlenmiş Fosfat Florür (APF)
- Kalay Florür
- Gümüş Diamine Florür
- Sodyum Monoflorofosfat

2) Kalsiyum ve fosfat türevleri:

- Kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat (CCP – ACP)

3) Bitkisel Ajanlar:

- Çin Sumağı
- Ksilitol
- Üzüm Çekirdeği ekstresi
- Arap Sakızı
- Hesperidin
- Psidium sıgır yaprağı

4) Farklı Ajanların Kombinasyonları

1.5.1. Florür İçerikli Ajanlar

Flor (F^-), reaksiyon potansiyeli fazla olan 10 eV^- ile bilinen en elektronegatif elementidir. Yüksek reaksiyon potansiyeli yüzünden, doğada serbest elementel formda bulunmamaktadır. İnorganik ve organik maddeler ile kolayca reaksiyona girebilmektedir. Yaklaşık 150 tane flor içeren mineral bilinmektedir (O'Mullane ve ark., 2016).

İnsanın metabolizmal aktivitesi için gerekli eser elementlerden biri olan florürün, diş çürüğü üzerindeki durdurucu etkisi kanıtlanmıştır (Carey, 2014; EAPD, 2009). Florür topikal ve sistemik yollar ile uygulanabilmektedir. Florürün topikal olarak uygulanmasının sistemik yollar ile alınımına göre remineralizasyon sağlamada daha etkili olduğu gösterilmiştir (Hardwick ve ark., 2000; Hellwig ve Lennon, 2004). Topikal florür, dental restoratif materyaller, ağız gargaraları, diş ipleri, florür jeller veya vernikler ile uygulanabilmektedir (Affairs, 2006).

1.5.1.1. Gümüş Diamin Florür

Gümüş (Ag), 1800’li yılların başlarından beri tıpta anti-karyojenik, anti-mikrobiyal ve anti-romatizmal etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin keşfinden önce klinisyenler gümüş bileşikleri ile bakteriyel hastalıkları tedavi etmeyi denemişlerdir (Peng ve ark., 2012). 1930’lardan sonra antibiyotiklerin keşfedilmesiyle beraber gümüş yerine penisilin ve diğer antibiyotik grupları tercih edilmeye başlanmıştır (Klasen, 2000). Ancak 1970’li yıllarda gümüş bileşikleri, mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç geliştirmeye başlaması ile yeniden gündeme gelmiştir. Modern tıpta gümüş, geniş spektrumlu anti-bakteriyel etkisi, düşük toksisite göstermesi ve bakterilerin direnç kazanamaması nedeniyle yeniden önem kazanmıştır (Peng ve ark., 2012).

Gümüş nitrat (AgNO_3) ve gümüş sülfadiazin gibi gümüş bileşikleri deri enfeksiyonları, yanıklar ve dermatolojik ülserlerin tedavisinde topikal olarak kullanılmaktadır (Atiyeh ve ark., 2007). Diş hekimliğinde, gümüşün tedavi amaçlı kullanımının ilk örnekleri 1840’larda görülmektedir (Spacciapoli ve ark., 2001).

Gümüşün, 1960’lı yıllara gelindiğinde florür ile kombine kullanılarak çürükleri önleyebileceği öne sürülmüştür. Çürük gelişiminin durdurulması amacıyla gümüş nitrat kullanılan ilk gümüş bileşiği olmuştur (James ve Parfitt, 1954; Klein ve Knutson, 1942; Schultz-Haudt ve ark., 1956). Takip eden yıllarda, bir diğer gümüş bileşiği olan gümüş diamin florürün (GDF) kimyasal asitlere karşı diş dokusunun çözünürlüğünü azalttığı ve mine remineralizasyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir (M. Firouzmandi ve ark., 2020). Aynı zamanda GDF’nin *S.mutans* bakterisinin karyojenik şuşlarının karşı anti-bakteriyel etki gösterdiği ve uygulandığı yüzey üzerinde bakteri kolonizasyonuna izin vermediği bulunmuştur. Bu bulgular sonucunda gümüş diamin üzerine yapılan çalışmalar hız kazanmaya başlamıştır (Contreras ve ark., 2017).

GDF, amonyak ile kompleks oluşturan, gümüşün antibakteriyel etkilerini ve florürün remineralize edici etkileri birleştiren renksiz, berrak alkali bir çözeltilidir. GDF gümüş, amonyum ve florür iyonlarının basit bir tuz bileşiği değil, aksine karışık bir ağır metal halojenür kompleksidir (C. H. Chu ve E. C. Lo, 2008b). İçeriğindeki amonyak sayesinde uzun süreler boyunca sabit bir konsantrasyonda kalabilmektedir (Mei ve ark., 2016).

Diş hekimliğinde gümüş, gümüş florür ve gümüş diamin florür olmak üzere iki farklı şekilde kullanılmaktadır. Gümüş florür, daha zor ulaşılabilen bir preperat olduğundan, gümüş diamin florür daha yaygın olarak kullanılmaktadır. GDF, %10'luk, %12'lik, %30'luk ve %38'lik gibi farklı konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Gao ve ark., 2016).

1.6. Gümüş Diamin Florür'ün Etki Mekanizmaları

1.6.1. Gümüş Diamin Florürün Mikroorganizmalar Üzerindeki Etkisi

Gümüş iyonları, mikroorganizmaların (bakteriler, protozoalar, mantarlar ve virüsler) hücre zarları, hücre içi organeller, DNA yapısı ve metabolizması üzerinde çeşitli etkilere sahiptir (Edwards-Jones, 2009). Gümüşün DNA ve proteinlerin sülfhidril gruplarını okside ettiği, hidrojen bağlarını bozduğu, hücre içi solunumu baskıladığı, DNA sarmalını parçaladığı, hücre zarı sentezini ve hücre bölünmesini önlediği gösterilmiştir (Oppermann ve Johansen, 1980). Bu etkilerin temel mekanizması, gümüşün organik dokularda bulunan tiyol gruplarıyla reaksiyonu sonucudur (Russell ve Hugo, 1994). Gümüş iyonları bakterilerde, amino ve nükleik asitlerin tiyol gruplarıyla reaksiyona girerek yeni bir gümüş-amino asit zincirini oluşturur. Oluşan bu yeni nükleik asitler, hücrenin metabolik ve üreme fonksiyonlarını yerine getirmesine engel olur ve buna bağlı olarak mikroorganizmanın ölümü gerçekleşir (Rosenblatt ve ark., 2009)

In situ model üzerinde yapılan bir çalışmada, GDF'nin uygulandığı biyofilm üzerinde, mikroorganizma sayısında ve biyokütlede azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda GDF'nin sağ kalan bakteriler üzerinde gen mutasyonuna sebebiyet vererek yeni suşlar oluşturma kabiliyetlerini yitirmelerini sağladığı belirtilmiştir (Klanliang ve ark., 2022).

1.6.2. Gümüş Diamin Florürün Dentin Üzerindeki Etkisi

1.6.2.1. Gümüş Diamin Florürün Dentin İnorganik Dokusuna Etkisi

Araştırmacılar, GDF ile tedavi edilen dişlerde dentin üzerinde daha az miktarda hidroksipirilinine açığa çıktığını ve kontrol gruplarına göre daha fazla oranda sağlam kolajen varlığını tespit etmişlerdir (M. L. MeiC. H. Chu ve ark., 2013; M. L. MeiL. Ito ve ark., 2013). GDF aynı zamanda MMP-2, MMP-8, MMP-9 gibi matriks metalloproteinazlar (MMP) ve sistein katepsinler üzerine inhibitör etki göstermektedir. (Zhao ve ark., 2018).

MMP'ler üzerinde GDF'nin etkisini inceleyen bir çalışmada, %38'lik GDF'nin anlamlı derecede MMP-2,-8,-9'un inhibisyonuna neden olduğu ve bu inhibisyon sonucunda dentin çürüğü lezyonunda organik madde yıkımının durduğu gösterilmiştir (M. L. Mei ve ark., 2012). GDF'nin dentinde bulunan MMP 2,8 ve 9 üzerinde konsantrasyona bağlı bir inhibitör etkiye sahip olduğunu bilinmektedir. %38'lik GDF çözeltisi, bu üç MMP'nin aktivitelerinin %80'ine kadarını engelleyebilir. Gümüş iyonları, katalitik fonksiyonları inaktive etmek için MMP'lerin H^+ gruplarıyla reaksiyona girer. Bu reaksiyonun gerçekleşmesi için ortamda yüksek konsantrasyonda Ag^+ bulunması gerekmektedir (Jain ve ark., 2009). Klinik çalışmalarda, çürüğü durdurmada %38'lik GDF'nin başarısının daha yüksek olmasının sebebi budur (Richards, 2017; Yee ve ark., 2009). Araştırmalarda, %12 GDF çözeltisinin MMP-2'yi zorlukla inhibe edebildiğini ve MMP-8 ve MMP-9'u da düşük oranda inhibe ettiği bulunmuştur (M. L. Mei ve ark., 2012; May L. Mei ve ark., 2012; Zhao ve ark., 2018).

1.6.2.2. Gümüş Diamin Florürün Hidroksiapatit Üzerine Etkisi

GDF'nin hidroksiapatit ile reaksiyonu sonucu kalsiyum florür ve gümüş iyonları açığa çıkar. Bu reaksiyon sonrası ortaya çıkan iyonlar, demineralize dentinde ektrafibriller ve intrafibriller alanda mineral oluşumunu başlatırlar. Dentin dokusundaki farklılıklar nedeniyle mineralizasyon için ne kadar gümüş iyonunun yeterli olabileceği bilinmemektedir. Bundan dolayı reaksiyona giremeyen Ag^+ iyonları görünür ışıkla reaksiyona girerek, bulunduğu yüzeyler üzerinde siyah renkli bir görüntüye sebep olur (May L Mei ve ark., 2014).

Bir çürük lezyonunun remineralizasyonu için, apatit ile aşırı doymuş çözeltilere maruz kaldığında, orijinal boyutuna ulaşabilecek kadar tamamen demineralize olmamış apatit kristallerinin varlığına ihtiyaç vardır. Gümüş diamin içerisindeki florür, hidroksil gruplar ile iyon alışverişi yaparak florapatiti oluşturur ve kristal yapıların büyümesini indükler. Ayrıca hidroksiapatit ile reaksiyona giren gümüşün oluşturduğu gümüş fosfat moleküllerinin, florapatit çevresinde suda iyonik çözünürlüğü azaltan yeni bir katman oluşturduğu düşünülmektedir (Hu ve ark., 2018; May L Mei ve ark., 2014).

1.7. Gümüş Diamin Florürün Klinik Uygulamaları

2002'den bu yana, çürük pandemisini kontrol altına almak için yenilikçi yaklaşımlar arayışı sonucu, GDF'nin diğer kemopreventif ajanlarla (florür verniği gibi) karşılaştırmalı etkinliğinde üstünlüğünü ortaya koyan birçok invitro ve klinik çalışma yapılmıştır. (C. H. Chu ve E. C. Lo, 2008a; Chu ve ark., 2002; Gao ve ark., 2020; May L Mei ve ark., 2013; M. L. MeiQ. L. Li ve ark., 2013). Aynı zamanda bu dönemde, minimal girişimsel diş hekimliği konseptinin de gelişmesiyle GDF'nin atravmatik restoratif diş hekimliği protokolünde kullanımı önem kazanmıştır (Modasia ve Modasia, 2021).

Gümüş diamin florür diş hekimliğinde, 1970'lerden beri tedavi edici bir ajan olarak kullanılmaya başlanmıştır (Yamaga ve ark., 1972). İlk olarak Japonya'da terapötik bir ajan

olarak kullanımı için onay verilmiştir (Yamaga, 1969). 2014 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Food and Drug Administration (FDA) tarafından medikal amaçlı kullanımı onaylanmış olup, 2015 yılından itibaren çeşitli marka isimleri altında satışa sunulmaya başlanmıştır (Çizelge 1.1.) (Horst ve ark., 2016).

Çizelge 1.1. Gümüş diamin florürün ticari isimleri ve konsantrasyonları

Ticari İsim	Firma	GDF Konsantrasyonu
Advantage Arrest®	Elevate Oral Care	%38
Cariostatic®	Inodon Laboratorio	%10
FluoroplatV®	Laboratorios Naf	%38
Fagamin®	Tedequim S.R.L.	%38
Saforide®	J. Morita; Toyo Seiyaku Kasei Ltd	%38
Cariestop®	Biodinamica Quimica e Farmaceutica Ltda	%12 ve %38
Bioride®	Dentsply Industria e Comercio Ltda	%30
E-SDF®	Kids-e-dental LLP	%38

GDF Amerika Birleşik Devletleri Tıp Enstitüsü'nün belirlediği altı kalite hedefini de (güvenli, efektif, verimli, hızlı, hasta odaklı, ulaşılabilir) sağlamaktadır. Çürük lezyonları durdukça, ortaya çıkan gümüş yan ürünlerin çökmesi sonucu lezyon alanlarının siyah renk alması ve bu nedenle ön dişlerde kullanımı için caydırıcı olması tek dezavantajdır (Crystal ve Niederman, 2019).

2017 yılında Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi, çocuklarda erişkinlerde ve özel sağlık bakım gereksinimleri olan çocuklarda diş çürüklerinin tedavisinde gümüş diamin florür kullanımına yönelik bir kılavuz yayınlamıştır (Crystal ve ark., 2017). 2021 yılında bu kılavuzun revize edilmiş hali yayınlanmıştır (Dentistry, 2021). Bu kılavuzda, çürüğün önlenmesi için florür verniğinin kullanılmasına benzer şekilde, çürüğü durdurmak amaçlı GDF kullanımı teşvik edilmiştir (Council; Crystal ve ark., 2017). Dünya Sağlık Örgütü'nün 'Erken

Çocukluk Çağı Çürüklerine Karşı Halk Sağlığı Müdahaleleri' hakkındaki 2016 raporu da, GDF' nin süt dişlerindeki dentin çürüklerini durdurabileceği ve tedaviden sonra tekrarlamasını önleyebileceği sonucuna varmıştır (Phantumvanit ve ark., 2018). 2019 yılında yayınlanan Avrupa Pediatrik Diş Hekimliği Birliği (EAPD) rehberinde ise henüz Avrupa'da GDF'nin çocuklarda çürüğü durdurmak amacıyla kullanılmadığı, ancak Avrupa'da da GDF kullanımına ilginin giderek arttığı belirtilmiştir (Toumba ve ark., 2019).

1.7.1. Dentin Hipersensivite Tedavisi

Dentin aşırı duyarlılığı, soğuk ve dokunma gibi uyaranlara yanıt olarak açığa çıkan dentin yüzeylerinden kaynaklanır. Dentin aşırı duyarlılığı şiddetli, kalıcı ağrı ve rahatsızlığa neden olabilir (Chu ve ark., 2011). Yapılan laboratuvar çalışmaları, GDF'nin uygulandıktan sonra hassasiyete sebebiyet olan dentin tübüllerini tıkadığını göstermiştir (Kiesow ve ark., 2022; Li ve ark., 2019; Peng ve ark., 2021). Aynı zamanda klinik çalışmalar, kalıcı dişleri aşırı hassasiyete sahip olan yetişkinlerde bir hafta içinde GDF uygulamasının ağrıyı hafiflettiğini göstermiştir (Castillo ve ark., 2011; Craig ve ark., 2012; Ma, 1993). Bu gelişmeler doğrultusunda klinisyenler, GDF'nin manipülasyonu likit formuna göre daha kolay olan %38'lik jel formunu hassasiyeti gidermek için geliştirmişlerdir (Kiesow ve ark., 2022). GDF cam iyonomerlerin bağlantısını etkilemediğinden, dişlerde kesim sonrası oluşan post operatif hassasiyeti gidermek için de kullanılabilir (Al-Qahtani, 2021; Zhao ve ark., 2019).

1.7.2. Hipomineralize Molarların Remineralizasyonu

Hipomineralizasyon, genellikle daimi kesici dişleri ve birinci daimi azı dişlerini etkiler. Organik matriksin amelogenesis sırasında uygun oranda uzaklaştırılmamasından dolayı oluşur (Da Costa-Silva ve ark., 2011; Weerheijm, 2003). Hipomineralize dişler, hızlı diş aşınması ve dentin açığa çıkması nedeniyle aşırı hassasiyete neden olur. Ayrıca hipomineralize dişlere sahip çocuklar yüksek çürük risk grubundadır. GDF, hipomineralize dişleri yönetmek için basit ve ağrısız bir tedavidir. Yapılan klinik bir çalışmada, yılda iki kez GDF uygulamasının

hipomineralize azı dişlerinde çürük gelişimini önlediği ve dentin aşırı duyarlılığını azalttığı bulunmuştur (Da Costa-Silva ve ark., 2011). Ballıkaya ve ark. (2022)'da hipomineralize molar dişlerde GDF uygulamasının hassasiyeti ve çürük gelişimini önlediğini bildirmişlerdir.

1.7.3. Endodontik Tedavilerde Kök Kanal Dezenfektanı Olarak Kullanımı

Kronik periapikal periodontitis, endodontik tedavinin başarısızlığına neden olan yaygın bir endodontik patolojidir. Bu endodontik enfeksiyonu yönetmek için %3,8 gibi düşük bir konsantrasyonda GDF solüsyonları geliştirilmiştir (Wang ve ark., 2012). Yapılan bir araştırmada, endodontik tedavide %3.8 SDF solüsyonu ile irrigasyonun kök kanallarındaki *E. faecalis* biyofilmlerinin giderilmesinde etkili olduğunu bulunmuştur (Al-Madi ve ark., 2019). GDF, kök kanallarını dezenfekte eder ve geride kalan Ag^+ iyonları yeniden enfeksiyon oluşmasını önler. GDF, dentindeki dentinofilik bakterileri öldürebilmektedir (Al-Madi ve ark., 2019; Hiraishi ve ark., 2010). GDF'nin gümüş iyonları dentin tübüllerine çökelerek, bakterilerin dentin tübüllerini yeniden enfekte etmesini önler. Araştırmacılar, kanal içerisinde kalan gümüş bileşiklerinin, zaman içinde gümüş iyonlarının kademeli olarak salınmasına izin veren potansiyel bir rezervuar görevi gördüğünü öne sürmektedir. Ayrıca aynı araştırmacılar, GDF'nin dentin geçirgenliğini azalttığını, yüzey sertliğini arttırdığını ve kök kanalının kırılma direncini güçlendirdiğini bildirmiştir (Yamaga ve ark., 1972; Yokoyama ve ark., 2001; Yokoyama ve ark., 2000).

1.7.4. Dental Erozyonda GDF Kullanımı

Diş erozyonu, diş yapısının bakteri kaynaklı olmayan asit atakları yüzünden çözünmesidir (Cunha ve ark., 2021). Açık dentin tübülleri ile diş yapısının kaybı sıklıkla dentin aşırı duyarlılığını başlatır ve bu da şiddetli, kalıcı ağrı ve rahatsızlığa neden olabilir. (C. H. Chu ve E. C. M. Lo, 2008c). Yu ve ark. (2018) GDF uygulamasından sonra mine yüzeyinde gümüş içeren hidroksiapatit molekülleri oluştuğunu bulmuştur. Bu hidroksiapatit moleküllerinin erozyonun önlemede etkin olduğu düşünülmüştür. İn vitro bir çalışmada,

GDF'nin mine ve dentinde diş erozyonunu azaltmakta etkili olduğu gösterilmiştir (Ainoosah ve ark., 2020).

1.7.5. Gingivitis Tedavisi

GDF'nin, periodontitise sebep olan bakteriler üzerinde antibakteriyel etkisi olduğu bilinmektedir (Rams ve ark., 2020). Bazı çalışmalar, GDF'nin, subgingival alana penetre olarak bu bölgede yer alan patojenler üzerinde toksik etkiye sahip olduğunu ve aynı zamanda hiperplastik gingivitis tedavisinde yeni bir terapötik periodontal ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Alshehri, 2020; Ho ve ark., 2022; Rams ve ark., 2020). Bir yıllık takip ile yapılan klinik bir çalışmanın sonuçları, GDF'nin gingivitise sahip yaşlı bireylerde herhangi bir olumsuz etki olmadan periodontal durumu iyileştirdiğini göstermiştir (Alshehri, 2020).

1.7.6. Diş Çürüğünün Yönetimi

Son yirmi beş yılda, global olarak çürük kaynaklı sağlık problemi yaşayan çocuk sayısında artış gözlemlenmektedir (Mehta, 2018). Ailelerin sosyoekonomik durumunun düşük olması, çocuklar için daha yüksek çürük riskine yol açmaktadır (Costa ve ark., 2012). Aynı zamanda çocuğun kooperasyonu, çocuklardaki bu çürüklerin kontrol altına alınabilmesinde önemli bir faktördür. Bu nedenle, çürüğün sağlık sistemi üzerinde oluşturduğu yükü azaltmak ve buna bağlı oluşan patolojileri kontrol altına almak için, diş çürüğü riski yüksek ve diş tedavisine erişimi sınırlı olan hastalar için maliyeti düşük ve etkili alternatif bir yöntemdir (Chu ve ark., 2008b).

Özellikle sosyal yardım hizmetlerinde GDF kullanmak, çürük yönetimi için yararlı bir strateji olabilir. GDF tedavisi basit, non-invaziv ve ucuzdur. Küçük çocukların yanı sıra, GDF tedavisi, yaşlı erişkinlerde ve fiziksel durumları geleneksel diş tedavisine izin vermeyen özel ihtiyaçları olanlarda diş çürüklerini yönetmek için kullanılmaktadır. Ek olarak, GDF aerosol oluşturmaz ve çapraz enfeksiyon riski düşüktür (Chen ve ark., 2018; Zheng ve ark., 2022).

Özellikle COVID-19 salgını sırasında bu avantajı, GDF üzerine olan ilgiyi arttırmıştır (Timms ve ark., 2020).

GDF çürük lezyonların durdurulmasında, non-restoratif kavite kontrolü kapsamında çürük lezyonlarının restoratif tedavisinin bir parçası olarak kullanılır (Strijp ve Loveren, 2018). GDF uygulaması sonrası, ilerlemesi durdurulmuş çürük lezyonların üzerine diş fonksiyon kazandırmak amacıyla restoratif bir materyal uygulanabilir. Bazı çalışmalarda, GDF uygulamasının dentine olan bağlanma dayanımını etkilemediği ve diş dokuların fonksiyon ve estetik kazandırılabilceği bildirilmiştir (R. L. Quock ve ark., 2012; D. I. Wu ve ark., 2016). Son zamanlarda, gümüş ile modifiye atravmatik restoratif tedavi (SMART) protokolü popülerlik kazanmaya başlamıştır (Modasia ve ark., 2021). Bu yöntem; GDF uygulamasının dahil edildiği atravmatik restoratif tedavinin bir varyasyonudur (Frencken ve ark., 1996).

SMART yönteminde, cam iyonomer restorasyonların GDF ile etkileşimi sonucu ideal olmayan estetik sonuçlar ile karşılaşılabilir. Ancak GDF uygulaması ile kavitedeki bakterilerin büyük bir kısmı inhibe olur. Diş dokusuna kimyasal olarak bağlanabilen ART'ye uygun restorasyonlar ile kalan bakterilerin de ağız ortamıyla olan ilişkisi kesilerek çürük lezyonun durdurulması, ardından remineralize olması ve böylece diş-pulpa yapısının vitalitesini korunması gibi avantajları sayesinde bu çekince önemini yitirmektedir (Alvear Fa ve ark., 2016).

1.7.7. GDF'nin Uygulanma Yöntemi, Sıklığı ve Takibi

GDF'nin uygulanma aralığı konusunda literatürde görüş birliği mevcut olmayıp, çocuklarda ve yaşlılarda yapılan klinik araştırmalarda %38'lik GDF'nin yılda bir ya da iki kez uygulandığı görülmektedir (Duangthip ve ark., 2016; Yee ve ark., 2009; Zhi ve ark., 2012). Chu ve ark. (2014), çürüklerin tedavisi ve çürüğü durdurmak için 3 hafta süreyle her hafta %38'lik GDF uygulamışlar ve bu uygulamanın, hassasiyet kaynaklı semptomları rahatlattığını ve aktif çürüğü durdurabilmede etkili olduğunu bildirilmişlerdir. GDF'nin yılda bir kez

uygulamasının, yılda dört kez %5'lik sodyum florür vernik uygulamalarına göre çürüğü durdurmada daha etkili olduğu bildirilmiştir (Lo ve ark., 2001).

GDF uygulanmasındaki sıklığın artmasıyla, çürüğün durdurulma oranı artmaktadır. Yılda iki kez GDF uygulanması, yılda bir kez GDF uygulanmasına kıyasla çürüğü durdurmada daha etkilidir (M. H. T. Fung ve ark., 2016; Lo ve ark., 2001). Yılda üç kez GDF uygulamasının ise çürüğü durdurmada en etkili sıklık olduğu çalışmalarda belirtilmiştir (Ballıkaya ve ark., 2018; M. H. T. Fung ve ark., 2016; Llodra ve ark., 2005). GDF'nin uygulanma sıklığı, ilk %38'lik GDF uygulamasından sonra üçüncü ayda ve sonraki iki yıl boyunca altı ayda bir önerilmektedir (Horst ve ark., 2016).

AAPD'nin 2018 de yayınladığı rehberde GDF'nin klinik koşullarda hasta üzerine uygulanması aşamalı olarak anlatılmaktadır (AAPD, 2018);

- Çürük dentinde GDF'nin daha iyi penetre olabilmesi için debrislerin uzaklaştırılması gereklidir.
- Eğer renklenmesi beklenen çürük dentin miktarını azaltmak isteniyorsa, GDF uygulaması öncesi çürük dokunun belli bir kısmı uzaklaştırılabilir.
- Pamuk rulolar, rubber dam, vazelin, diş eti bariyeri gibi izolasyon yöntemleri ile GDF'nin diğer ağız içi dokulara teması engellenmelidir.
- GDF mikro-fırça ile dikkatli uygulandığı takdirde çevre dokuların etkilenme ihtimali düşüktür. Bir hasta için randevu başına bir damladan fazla GDF uygulanmamalıdır.
- Diş havayla kurutulduktan sonra, GDF bir mikro-fırça ile bir dakika boyunca doğrudan çürük lezyonuna uygulanmalıdır.

- Uygulamanın sonunda, reaksiyona girmemiş ortamdaki fazla GDF'yi uzaklaştırmak için pamuk pelet ya da gazlı bez ile lezyon çevresi silinmelidir.
- Lezyonlara GDF uyguladıktan sonra, tüm dişlere ince bir tabaka %5 sodyum florür (NaF) vernik uygulanarak bütün dentisyonun tedavisi önerilmektedir.

GDF uygulamaları sonrası klinik başarıyı gözlemlemek için takip önemlidir. Yüzeysel dentin çürüklerini durdurmak için yapılan uygulamalarda, GDF tedavisinin başlangıcından ikiyle dört hafta geçtikten sonra lezyonların ilerleme durumu değerlendirilmelidir. Takip randevularında aktif olduğu gözlenen çürük lezyonlarına tekrar GDF uygulanmalıdır. Çocuğun kooperasyonuna göre, ilerleyen randevularda dişe fonksiyon kazandırmak adına geleneksel restorasyonlar kullanılarak lezyon restore edilebilir (Hu ve ark., 2018).

1.7.8. Vaka Seçimi

GDF uygulamalarında klinik vaka seçimi ve prosedürü için çeşitli protokoller bulunmaktadır (Crystal ve ark., 2017; Horst ve ark., 2016). AAPD'nin klinisyenler için yayımladığı rehberde, GDF'nin kullanımı için endikasyon ve kontrendikasyonları maddeler halinde belirtilmektedir (Crystal ve ark., 2017) ;

Endikasyonları:

- Yüksek çürük riski taşıyan, çok sayıda randevu gerektirecek lezyonu olan hastalar,
- Hem ön hem de arka grup süt dişlerinde, tedavi edilebilir dentin çürük lezyonları olan hastalar,
- Kooperasyon problemiyle anestezi altında tedavi endikasyonu olan hastalar,
- Diş tedavilerine erişim imkanı kısıtlı olan hastalar,
- GDF'nin uygulanabilmesi için oral kavite içerisinde mikro fırça ile erişilebilecek konumda bulunan lezyonlar.

Kontraendikasyonları:

- Tedavi edilmesi planlanan dişte spontan veya şiddetli ağrı gibi semptomların varlığı,
- Radyografik olarak pulpayla yakın ilişkisi olan çürük lezyonlarda,
- Hasta veya ebeveyninin GDF kaynaklı renklenmeyi reddetmesi durumunda,
- Gümüş alerjisi olan bireylerde.

1.7.9. Gümüş Diamin Florür'e Potasyum İyodür İlavesi

Gümüş diamin florür uygulandığı yüzeyde yaklaşık olarak 2 dakika içerisinde renk değişikliği meydana getirir ve takip eden 6 saat içerisinde bu değişim daha belirginleşir. GDF'nin önemli bir dezavantajı olan, uygulama sonrası lezyon ve çevre dokularında yarattığı renklenmeyi önlemek adına uygulama sonrası potasyum iyodür ilavesi önerilmiştir. Potasyum iyodür %76 iyodin ve %23 potasyumdan oluşun altı gen yapıdaki bir tuz bileşiğidir. GDF ile beraber potasyum iyodür uygulandığında ortamdaki serbest gümüş iyonlarına bağlanarak gümüş iyodür bileşiği oluşturarak çökelir ve bu sayede renklenmeye neden olan serbest gümüş iyonlarının oranı ciddi oranda azalır. Bu bileşik sarı renkli ve ortam sıvısında çözünmeyen bir bileşiktir (Patel ve ark., 2018).

Potasyum iyodür GDF'nin çürük durdurma özelliğini etkilememektedir (Primus, 2017). Ancak, bazı çalışmalar ortamdaki serbest gümüş iyonları azaldığı için antibakteriyel etkinliğinde azalma olabileceğini göstermiştir (Primus, 2017; Zhao ve ark., 2017). Ayrıca potasyum iyodürün uygulama sonrası alerjik reaksiyon oluşturabileceği ifade edilmiştir (Zhao ve ark., 2017).

1.7.10. Gümüş Diamin Florür Toksisitesi

GDF'nin potansiyel toksisitesi, sahip olduğu 44.800 ppm florür ile doğrudan ilişkilidir. Ayrıca, GDF içeriğindeki gümüş iyonları biyolojik yapılar için reaktiflerdir. Bundan dolayı insan vücudunda emilebilmekte, deri ve diğer organlarda birikebilmektedir. FDA tarafından, gümüş diamin florürün öldürücü dozunu (LD50) belirlemek için hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, oral uygulama ile ortalama LD50'nin 520mg/kg ve subkutan uygulama ile 380mg/kg olduğu belirlenmiştir (Horst ve ark., 2016). Literatürde, profesyonel GDF uygulaması sonrası akut toksisite ve benzer yan etki bildirilen hiçbir vaka yoktur. Farmakokinetik olarak incelendiğinde, GDF kullanımı sınırlı sayıdaki çürük lezyonlarda uygulanabildiğinden güvenli bir yöntem olarak kabul edilir. Alerjik reaksiyonlar, toksisite veya pulpal irritasyon gibi ciddi yan etkiler literatürde bildirilmemiştir. %38'lik GDF'de bulunan doz güvenli aralıktadır. Daha düşük konsantrasyonlar GDF'nin etkinliği düşürmekte iken, yüksek konsantrasyonlarda ise toksisite riski artmaktadır (Fancher ve ark., 2019)

1.8. Bitkisel Kaynaklı Remineralizasyon Ajanları

Gelişen teknoloji ile gıda sanayinde endüstrileşmenin de ilerlemesi, doğal ürünlerin tüketilmemesine, sonuç olarak kalp-damar, diyabet, kanser gibi birçok hastalığın artmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Doğal beslenmenin, bu hastalıkların oluşmasını önleyebileceğine yönelik yaklaşımlar sonucunda, insanların yıllardan beri tükettiği doğal ve faydalı bitkiler ve onlardan elde edilen ekstraktlar araştırılmaya başlanmıştır (Bagchi ve ark., 2000) Aynı zamanda, doğal ürünler binlerce yıldır halk tarafından ilaç olarak kullanılmıştır. Günümüzde, doğal olarak oluşan, yenilebilir ve toksik olmayan ürünlerin çoğu, umut verici yeni terapötik ajan kaynakları olarak kabul edilmektedir (Bagchi ve ark., 2000).

Son zamanlarda, biyoaktif fitokimyasallar açısından zengin bitki polisakkaritleri, proteinleri ve özlerinin, diş hekimliğinde kullanılan biyomateryallere dahil edilmesi araştırılmaya başlanmıştır (Varoni ve ark., 2012).

Bitkisel kaynaklı antimikrobiyal bileşiklerin diş plağı ve ağız hastalıkları kontrolü için yaygın olarak kullanılan kimyasallara alternatif olabileceği düşünülmektedir. Ortaya atılan hipotezler, bitkilerin ve seçilmiş gıdaların, oral patojenlerin büyüme ve virülans faktörlerini baskılayabilen ve böylece ağız sağlığına fayda sağlayan antimikrobiyal fitokimyasallara sahip olduğu yönündedir (Silva ve ark., 2015).

Yeşil çay, kahve, rhus chinensis, kitosan, ozon, probiyotikler, kakao, üzüm çekirdeği ve propolis güncel literatürde remineralizasyon üzerine etkinliği olduğu bilinen bitkisel kaynaklı ajanlardır (Govind ve ark., 2021; Oznurhan, 2020).

1.8.1. Üzüm Çekirdeği Ekstresi (ÜÇE)

Doğal olarak yetişen asma bitkisinin meyvesi olan üzüm, birçok toplumda şarap, sirke, pekmez gibi farklı ürünlere dönüştürülerek kullanılmaktadır. Üzüm meyvesi, kendi doğal yapısı içerisinde birçok vitamin, mineral, polifenollerin de dahil olduğu çeşitli fitokimyasal bileşenler içermektedir (Shrikhande, 2000).

Üzüm fenol bakımından zengin bir bitkidir ve bu fenolikler üzümün sulu orta kısımlarında değil esas olarak kabuğunda, gövdesinde, yaprağında ve çekirdeğinde bulunur (Makris ve ark., 2008). Fenolik bileşikler esas olarak proantosiyanidinler, antosiyaninler, flavanoller, resveratroler ve fenolik asitleri içermektedir (Hernandez-Jimenez ve ark., 2009).

Üzüm çekirdeği (*Vitis vinifera*) ekstresi, üzüm çekirdeklerinin kurutulup saflaştırılmasıyla elde edilen, antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuar etkileri olan, flavonoid ve proantosiyanidin (PA) içeren polifenolik bir bileşiktir. Doğal bitki metaboliti olan PA, doğal bir antioksidan ve serbest radikal temizleyicidir. Fenoller ya da fenolikler, aromatik bir halka olan benzen halkasına doğrudan eklenmiş OH grubu içeren, aromatik yapılu bileşiklerdir. Polifenoller, birçok biyolojik aktiviteye ve sağlığı geliştirici faydalara sahip oldukları için üzümdeki en önemli fitokimyasallardır (Wada ve ark., 2007). Üzerinde çokça

durulan, araştırılan antosiyanidin ve proantosiyanidinler flavonoid yapısında olup, flavan-3-ols gibi moleküller oluşturarak üzüm çekirdeği içerisinde bulunmaktadırlar (Garrido-Bañuelos ve ark., 2019). Polifenoller, mikrobiyal membran proteinleri, enzimler ve lipidler ile etkileşime girmeleri sonucunda, hücre geçirgenliğini değiştirip protein, iyon ve makromoleküllerin geçişlerine izin veren bileşiklerdir (Jawale ve ark., 2017).

1.8.2. Proantosiyanidin

PA'ların yapı taşları, üç halkaya (A halkası: triketid, halka B: fenilpropanoid, halka C: yoğunlaşma ile oluşan piran) sahip flavan-3-ol oligomerleridir. Üzüm çekirdeği ekstresi (ÜÇE) PA'daki ana flavan-3-ol birimleri kateşin (C), epikateşin (EC), kateşin gallat (EG) ve epikateşin gallat (EKG)'dir (Rigaud ve ark., 1993). Üzüm çekirdeğinde bulunan flavan-3-ols birimlerinin kimyasal yapısı, fiziksel özelliklerini, reaktivitesini ve kolajen ile etkileşimini belirler (Núñez ve ark., 2006).

Meyvelerde, sebzelerde, kabuklu yemişlerde, tohumlarda ve çiçeklerde yaygın olarak bulunan PA, doğal bir bitki metaboliti, antioksidan ve serbest radikal temizleyicidir. S.mutans'ların hücre duvarı yapısındaki glukan sentezini baskıladığı ve böylece S.mutans'ların dış yüzeylerine tutunmalarını engellediği ve çürük oluşturma insidanslarında azalma gerçekleştiği gösterilmiştir (Kshitiz ve ark., 2011).

Birçok faydası bulunan üzüm çekirdeği ekstresinin, diş hekimliği alanında araştırılması sonucunda; remineralizasyon açısından dentinin stabilitesini ve kolajen yapının bozulmasını önlemesinden dolayı mekanik özelliklerini geliştirdiği gösterilmiştir (Walter ve ark., 2008). Üzüm çekirdeği içerisinde bulunan antioksidan ve antienflamatuar özelliklere sahip polifenollerin, kolajen yapısına pozitif özellikler katması sebebi ile remineralizasyon ajanı olarak kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstresi içerisinde bulunan PA, çözünür kolajenin çapraz bağlarını güçlendirerek, çözünmez hale dönüşümünü hızlandırmakla birlikte, remineralizasyon sırasında kolajen sentezini

artırmaktadır. PA, kolajen matriksin bölünme bölgelerini maskeleyerek çapraz bağları güçlendirip, kolajen matriksin enzimatik bozulma oranını azaltıp, böylece kolajen matriksinin ömrünü uzatmaktadır (Han ve ark., 2003; Walter ve ark., 2008; Xie ve ark., 2008). Çapraz bağlanmanın tam olarak mekanizması anlaşılmasa da, PA'nın kovalent, hidrojen bağı, iyonik ve hidrofobik proteinler ile etkileşimlerini inceleyen teoriler vardır (Balalaie ve ark., 2018).

Protein amid karbonil ve fenolik hidroksil grupları arasındaki hidrojen bağları, PA ile muamele edilmiş kolajen fibrillerini stabilize etmekte büyük öneme sahiptir. Ayrıca, kolajen üçlü helikal sarmalının üç boyutlu yapısı, peptit omurgasının karbonil oksijenine hidrojen bağlanmasını kolaylaştırarak olası mineralizasyonlar için temel olmaktadır (Ku ve ark., 2007). Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), PA'nın kolajen mikrofibriller arasındaki suyu değiştirebildiğini ve fibriller arasında bazı yeni hidrojen bağları oluşturabildiğini göstermiştir. Böylece PA fibrilleri bir arada tutarak üçlü helikal yapının stabilitesini artırmaktadır. Ayrıca, daha yüksek PA konsantrasyonları, yapısal su kaybını engelleyerek, daha yoğun bir kolajen matriksi oluşturabilmektedir (Loomis, 1974).

Yapay çürük lezyonları oluşturulmuş demineralize dentin yüzeyinin, PA'lardan zengin üzüm çekirdeği ekstresi ile tedavi edilmesinden sonra mikrosertlik testlerindeki ölçüm değerlerinde de fark edilebilir oranda bir artış olduğu belirtilmiştir (Benjamin ve ark., 2012). Asitli içeceklere maruz kalmış mine dokusuna, üzüm çekirdeği ekstresinin jel formunda uygulanmasıyla, minenin mikrosertlik değerlerinin eski haline dönebildiği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Saragih ve ark., 2017; Silva ve ark., 2015). Mine dokusunun yüzeyinde aşındırıcı etkiye sahip diş beyazlatma ajanları ile tedavi edilmiş dişler üzerinde, aşındırılmış mine yüzeyinin remineralizasyonunu sağlayabilmek için üzüm çekirdeği ekstresinin kullanıldığı başka bir çalışmada, aşınmış mine yüzeyinin iyileşme süreci üzerinde PA'nın olumlu etkileri olduğu ve remineralizasyon potansiyeline sahip etkili bir doğal ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Nagi ve ark., 2019).

1.8.2.1. Proantosiyonidinin Matriks Metalloproteinazlar Üzerine Etkisi

Bazı doğal moleküllerin MMP inhibe edici özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Bu moleküllerden biri olan, üzüm çekirdeği ekstresinin (ÜÇE), kültür ortamındaki makrofajlar tarafından lipopolisakarit ile indüklenen MMP-1, MMP-2 ve MMP-9 salgılanmasını baskıladığı ve aktivitelerini inhibe ettiği gösterilmiştir ve buna bağlı olarak MMP aracılı patolojilerin yeni tedavilerinde kullanılabileceği düşünülmüştür (La ve ark., 2009). Doğal MMP-inhibitör etkili ajanların, topikal uygulanan diş macunu, gargara ve vernik gibi ürünlere minimal yan etkiyle entegre edilebilme potansiyeline sahip olması önemli bir avantajdır. Ayrıca, artan ÜÇE konsantrasyonlarının, bakteriyel kolajenaz aktivesini düşürerek, dentin matriksinin dejenerasyon hızını azalttığı gösterilmiştir. ÜÇE konsantrasyonu ile kolajen çözünmesi arasında ters bir ilişki mevcuttur (Bedran-Russo ve ark., 2008).

PA daha önce de bahsedildiği üzere kolajen köprülerinin kurulmasında etkinlik gösterir. Busenlehner ve Armstrong (2005) PA'nın çapraz kolajen köprüleri kurma özelliğinden dolayı MMP'ler ve diğer ekzojenik proteolitik enzimlerin üç boyutlu yapısını değiştirdiğini bildirmişlerdir. Sela-Passwell ve ark. (2010) çapraz bağlayıcıların antagonist moleküller olarak davranıp, MMP'lerin katalitik alanını hedeflediğini veya alternatif enzim alanlarını allosterik inhibisyonu yoluyla etkisiz hale getirdiğini öne sürmüştür. PA'nın periodontal patojenlere karşılık olarak, makrofajlar tarafından salgılanan MMP-1 ve MMP-9 üretimini bozarak dentin dokusu dışında, insan vücudu üzerinde de etkinliği olduğu rapor edilmiştir (Feghali ve ark., 2012).

Epasinghe ve ark. (2013) üzüm çekirdeği ekstresindeki PA'nın demineralize dentin üzerindeki etkisini incelemiş ve PA'nın çözünür formdaki rekombinant MMP-2, -8 ve -9'un %90'ından fazlası ile sistein katepsinlerinin yaklaşık %70-80'ini etkisiz hale getirebildiğini göstermişlerdir. Bununla birlikte, dentin MMP'lerinin çoğu çözünür formda değildir, ancak kolajen matrisine bağlanırlar, bu nedenle PA'nın demineralize dentindeki MMP inhibitör etkisinin kesin bir değerlendirmesini yapabilmek için endojenik kolajenaz aktivitesini takiben kaybedilen kuru kütle ve kolajen miktarının ölçülmesi gerekmektedir. (J. Epasinghe ve ark., 2015).

MMP aktivitesini inceleyen testlere göre, demineralize dentinin %5 PA ile 1 dakikalık tedavisi, temel değerlere kıyasla enzim aktivitesini %64'e kadar düşürmekte ve MPP'leri %69 oranında inhibe etmektedir. Aynı tedavi süresinde daha düşük konsantrasyona rağmen %1 PA'nın %5 PA ile karşılaştırıldığında daha yüksek MMP inhibitör etkisine sahip olması önemli bir bulgudur. Bu sonuçlar akabinde, PA ile tedavi edilmiş demineralize dentin örnekleri uzun dönemli çok faktörlü testlere tabi tutulmuş ve salgılanan MMP-8, -2 ve -9 miktarındaki inhibisyonun %5 içerikli ÜÇE konsantrasyonunda 6 ay boyunca etkinliğine devam ettiği ancak %1 konsantrasyonun daha kısa sürede etkinliğini yitirdiği bulunmuştur (Seseogullari-Dirihan ve ark., 2016). Daha sonra yapılan güncel çalışmalar incelendiğinde, ideal PA içerikli üzüm çekirdeği konsantrasyonun %6,5 olduğu kabul görmeye başlamıştır (Balalaie ve ark., 2018; Liu ve ark., 2014; C. F. Tang ve ark., 2013; Zhao ve ark., 2022).

1.9. Dentin Remineralizasyon Ajanlarının Bağlantı Dayanımı Üzerine Etkisi

1955 yılında rezin materyallerin, mine üzerindeki retansiyonunu artırmak amacıyla asitle pürüzlendirme tekniğinin bulunması sonucu mikromekanik retansiyon kavramı ortaya çıkmıştır. Böylece daha estetik, fonksiyonel ve konservatif restorasyonların yapılması mümkün hale gelmiş ve diş hekimliğinde adeziv sistemlerin temeli atılmıştır (Buonocore, 1955).

Dentin adezyonunda yer alan başlıca etkenler; dentin içeriği (tübüllerin çapı, densitesi, peritübüler ve intertübüller dentin miktarı), dentin kalınlığı ve yapısı (demineralize, remineralize), smear katmanı ve yaştır. Bu etkenler dentin geçirgenliğinde alansal farklılıklar oluşturur (Latta ve Barkmeier, 1998). Dentin kişiden kişiye, diştten dişe hatta dişin bölgesine ve derinliğine göre farklılıklara sahip, mineye göre daha kompleks yapıdaki bir dokudur. Yüzeysel dentin, derin dentinden daha mineralizedir ve daha az su içerir. Pulpaya yaklaştıkça tübül sayısı artış gösterir. Bu nedenlerle derin dentinde bağlanma yüzeysel dentine oranla daha zordur. Bundan dolayı bağlantı esnasında dentin yüzey koşulları primer olarak etkilidir (Oilo, 1993).

Adeziv sistemler ile dentin arasındaki bağlantı, minedekiyle aynı şekilde dentin dokusu içerisine rezinin infiltrasyonu ile mikro mekanik olarak gerçekleşir. Aynı zamanda, mikro mekanik bağlantı yanında kimyasal reaksiyonlar ile dentin bağlantısı sağlanabilmektedir. Ortamda bulunan çeşitli serbest radikallerin varlığı, MMP'lar gibi dejeneratif enzimlerin bulunması ve yüzey sertliği özellikle dentin dokusunda adeziv sistemlerin etkinliği üzerinde doğrudan etkilidir. Bu sebeplerden, adeziv sistemlerin dentin ve mine yüzeyini rehabilite ederek bağlantı dayanımı arttıracak ajanlar literatürde önem kazanmıştır (Castellan ve ark., 2011; Lopes ve ark., 2006).

1.9.1. Gümüş Diamin Florürün Bağlanmada Etkisi

GDF'nin dentin yüzeyinde MMP'ler, sistein ve katepsinler sayesinde oluşan dejenerasyonu bu enzimleri inhibe ederek durduğu bilinmektedir. MMP'ler, sistein ve katepsinler bağlantı sonrası oluşan hibrit tabakanın yapısını uzun dönemde bozabilmektedir. GDF bu enzimleri inhibe ederek ve aynı zamanda aktivasyon süreçlerinden beri yaratmış oldukları etkileri geri çevirerek hibrit tabakanın yapısını korur ve bu sayede bağlantının ömrünü uzatır. Aynı zamanda GDF'nin antibakteriyel etkisi ortamda bulunan mikroorganizmaları yok ederek ürettikleri proteazları nötrler ve bağlanma dayanımını azaltacak potansiyel dejeneratif etkileri önler. Ayrıca, GDF uygulaması sonrası ortamda bulunan gümüş iyonları sekonder çürük oluşuma riskini düşürerek restorasyonun başarısını artırır (Maryam Firouzmandi ve ark., 2020).

Gümüş diamin florür demineralize dentinin özelliklerini geliştirerek bağlantı dayanımı arttırmaktadır. Ancak, sağlam dentinde bağlantı dayanımı için uygulandığı zaman rezin içerikli restorasyonların bağlantısını azalttığı gösterilmiştir (Maeda ve ark., 2009). GDF uygulaması sonrası, gümüş iyonları ortamda bulunan kalsiyum ile dentin ve mine üzerinde kristal globüler bir yapı oluşturmaktadır. Oluşan bu kristal yapı rezin içerikli restoratif materyallerin bağlantısında kullanılan asit içerikli bonding ajanların diş dokusu üzerine olan etkisini tamponlayarak rezin infiltrasyonunu engellemektedir. Ancak rezin içerikli bonding ajan kullanmayan restoratif materyallerin bağlantısında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Maeda ve ark., 2009; R. Quock ve ark., 2012; Di I Wu ve ark., 2016).

Potasyum iyodür'ün GDF'nin dentin üzerinde bağlantısını inceleyen çalışmalar, GDF uygulaması sonucu oluşan serbest gümüş iyonlarının oluşturduğu kristal bileşiklerinin potasyum iyodür ile ortamdan uzaklaştırılarak meydana gelen kristal miktarını azaltılabileceğini öngörmüşlerdir. Bunun sonucunda bonding ajanlarının dentine olan penetrasyonu artacağı için rezin içerikli restorasyonla bağlantı dayanımı potansiyel olarak artmaktadır. Aynı zamanda bu çalışmalar içerisinde, rezin içermeyen geleneksel cam iyonomer simanların bağlantısında ise potasyum iyodür eklenmesinin bağlantıyı azaltan anlamlı bir etkisi gösterilmemiştir (Koizumi ve ark., 2016; Priya ve ark., 2022; Uchil ve ark., 2020; Zhao ve ark., 2019).

Geleneksel cam iyonomer türevi restorasyonların dentine yapışması hem kimyasal bağlanma hem de mikromekanik kilitlenme ile sağlanmaktadır (Nicholson, 2016). Son dönemde, ART konseptini geliştirmek adına GDF'nin cam iyonomerlerin bağlantısı üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda GDF'nin ilk aşamada dentinin mikromekanik özelliğini arttırarak mikromekanik bağlantı için daha stabil yüzey oluşturduğu ve SEM kesitlerindeki incelemeler akabinde globüler yapı oluşturarak mikromekanik bağlantı için daha fazla yüzey alanının ortaya çıktığı bulunmuştur. Araştırmalar sonucunda GDF'nin CİS bağlantısını etkileyen bir diğer özelliği ise kolajen degradasyonunu azaltarak kimyasal bağlantı için daha sağlıklı bir dentin dokusunu geride bırakmasıdır (Jiang ve ark., 2020a; Puwanawiroj ve ark., 2018; Van Duker ve ark., 2019).

1.9.2. Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Bağlanmada Etkisi

Proantosiyanidin dentin yüzey bağlantısı üzerindeki en önemli etkisi, kolajen biyosentezinde önemli bir adım olarak prolin hidroksilasyonunu katalize eden bir enzim olan prolin hidroksilazı indüklemeye özelliğidir. Bu sebeple proantosiyanidin, diğer çapraz bağlama ajanlarına göre daha fazla kolajen ile etkileşime girebilir ve bunun sonucunda kimyasal reaksiyon ile bağlanan restoratif ajanlar için stabil bir dentin yüzeyi elde edilmesini sağlar (Al-Ammar ve ark., 2009; Odthon ve ark., 2015).

Kompozit rezinlerin mineyle olan bağlantısında, ortamda serbest radikal olarak oksijen iyonları bulunduğu zaman, rezinin mine porları içeresine penetre olmasını engelleyerek bağlantı dayanımını düşürdüğü bilinmektedir. Proantosiyanidin serbest radikallere sahip mine yüzeyine uygulandığında, bu radikalleri inhibe ederek rezin monomerlerinin mine içerisindeki gözeneklere daha iyi penetre olmasını sağlamaktadır (Kılınç ve ark., 2016; Souza-Gabriel ve ark., 2020; Srivastava ve Yeluri, 2021).

Yapılan bir çalışma, beyazlatma sonrası mine yüzeyinde ortaya çıkan serbest radikalleri proantosiyanidinin bağlayarak, mineda orijinale yakın bir bağlanma sağladığını ortaya koymuştur (Srivastava ve ark., 2021).

Remineralize olmuş dentinde bağlantı sırasında oluşan hibrit tabaka, demineralizasyon sonrası ortamda artık şekilde kalmış MMP'lar, sistein ve katepsinlerin uzun dönemde yarattıkları dejenerasyona bağlı olarak bu tabakanın bağlantısını riske atmaktadır. Çalışmalar PA gibi bu yüzeye MMP inhibitörlerinin uygulanmasının, uzun dönemde bağlantı dayanımını arttıracaklarını göstermiştir (Castellan ve ark., 2011).

Son dönemde, cam iyonomer simanların dentine bağlantısını arttırmaya çalışan araştırmacılar, proantosiyanidin gibi doğal kolajen köprüsü oluşturan ajanlara yönelmişlerdir. Birçok araştırmanın sonucunda proantosiyanidinin cam iyonomer restoratif materyallerin bağlantısını olumlu yönde arttırdığı gözlemlenmiştir. Ancak rezin içeriği fazla olan restoratif materyallerdeki etkisini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Aref ve Abdallah, 2021; Atabek ve Özden, 2019; Gousalyav ve ark., 2021).

Tip I kolajenlerin hibrit tabaka oluşumunda önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Bu faktörden yola çıkılarak yapılan bir çalışmada tip I kolajen köprüsü kurduğu bilenen üç farklı ajanın bağlantıya olan etkileri kıyaslanmıştır. Araştırma sonucunda, genipin ve üzüm çekirdeği ekstresi uygulanmış olan dentin yüzeylerinde anlamlı oranda bağlantının arttığı bulunmuştur (Al-Ammar ve ark., 2009).

P. Gousalyav ve ark. (2021), üzüm çekirdeği ekstresinin çeşitli restoratif materyallerin dentin ile olan bağlantısını nasıl etkilediğini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda PA 'nın genel anlamda bütün restoratif materyaller, en fazla olarak da cam iyonomerler üzerinde bağlantı dayanımını arttırdığını göstermişlerdir. Ayrıca çapraz köprü kurabilen ajanlar içerisinde bağlantıyı en çok artıran ajanın PA olduğu sonucuna varmışlardır.

1.10. Restoratif Materyallerin Diş Dokularına Bağlanma Kuvvetinin Test

Yöntemleri

Tanım olarak, bağlanma dayanım kuvveti, restoratif materyali diş yapısından ayıran kuvvetlere karşı dirençtir (Suresh ve Nagarathna, 2011). Restoratif materyallerin klinik başarısı, ağız boşluğu içinde oluşan çeşitli makaslama ve çekme kuvvetlerine karşı, dentin yüzeyi ile olan bağlanma dayanımına bağlıdır. Bu kuvvetler, basınç, çekme ve makaslama dayanımı olarak ölçülmektedir (Manuja ve ark., 2011). Sabitlenmiş bir cisme belli oranda bir kuvvet uygulandığında bu kuvvete karşı materyal içerisinde direnç olarak stres gelişir. Bu direnç, uygulanan kuvvetin miktarında ve ters yönde oluşup cismin yüzey alanı boyunca dağılır. Bu nedenle meydana gelen stres miktarı; gelen kuvvetin, kuvvetin uygulandığı alana bölünmesiyle hesaplanır. Oluşan stres birimi, genellikle megapaskal (MPa) cinsinden ifade edilir (Craig, 2012).

Laboratuvar koşullarında dental materyallerin diş sert dokularına olan bağlanma kuvvetini ölçebilmek için sıklıkla makaslama (shear) ve çekme (tensile) test yöntemleri tercih edilir (Ayaz ve ark., 2011).

1.10.1. Makaslama (Shear) Bağlantı Dayanımı Testleri

Makaslama dayanım testinde kopma kuvveti, hazırlanmış diş yüzeyine paralel düzlemde uygulanmaktadır. Kuvvet uygulayan uç, diş ile adezivin birleşim yüzeyine

olabildiğince en yakın bölgeden temas etmelidir, aksi takdirde materyal üzerinde tork momenti gelişebilir. Makaslama testlerinde bağlantın olduğu yüzey içerisinde kuvvet dağılımı daha uniform olmaktadır (Armstrong ve ark., 2010). Makaslama testi için örnekler cihaz içerisinde düz yüzeye sahip özel tutmaçlar arasına sabitlenir ve dış yüzeyine paralel düzlemde olacak şekilde belli bir hızda hareket eden makaslama ucu ile bağlantı, kopma noktasına gelinceye kadar ölçülür (Craig, 2012).

1.10.2. Çekme (Tensile) Bağlantı Dayanımı Testleri

Çekme testlerinde kopma anındaki kuvveti hesaplamak için kuvvet dış yüzeyine dik açı ile uygulanması gerekir. Çekme testlerinde kuvvetin eşit şekilde dağılması için örnek makine üzerinde doğru pozisyonda konumlandırılması gerekir. Kuvvetin doğrultusundaki veya örneğin pozisyonundaki herhangi bir hata kuvvetin eşit şekilde dağılmamasına ve istenilen sonuçların değişmesine neden olabilmektedir. Bağlanma kuvvetinin test edildiği örneklerde, bağlanan materyalin yarattığı hacimsel direnç, ortaya çıkacak kopma tipini etkiler (Craig, 2012).

Kopma tipleri oluşum şekillerine göre (Craig, 2012);

- Adeziv kopma; bağlanan materyal ve bağlanılan yüzey arasında meydana gelen kopmaları ifade eder.
- Koheziv kopma; aynı materyalin kendi içerisinde meydana gelen bütünlük kaybıdır.
- Karışık (mix) kopma; adeziv ve koheziv kopmanın aynı anda gerçekleştiği kopmalar olarak gruplandırılır.

1.11. Remineralize Edici Ajanların Etkinliğinin Kantitatif Değerlendirme Yöntemleri

Remineralize edici ajanların dentin lezyonlarının mineral yapısında ve lezyon derinliklerinde meydana getirdikleri değişiklikleri konfokal lazer mikroskobu, mikroradyografi, mikrosertlik, SEM, transmisyon elektron mikroskobu (TEM), kantitatif ışık etkili floresans (QLFTM) yöntemi ve optik Koherens Tomografi (OCT) gibi yöntemler kullanılarak değerlendirilmektedir (Arends ve ten Bosch, 1992; Hicks ve ark., 2004; White ve ark., 1992)

1.11.1. Konfokal Lazer Mikroskop

Özellikle biyolojik materyallerin incelemesinde geniş kullanım alanına sahiptir. Diş hekimliğinde alanında konfokal lazer mikroskop kullanımı, diş dokuları ve restoratif materyal yüzeylerini incelemek adına ilk kez Watson (1997) tarafından geliştirilmiştir. Elde edilen tomografik görüntü materyalin bileşimi hakkında bilgi verdiğinden, mineralizasyon üzerine dokuda oluşan değişimleri yüzdesel olarak analiz etmeye imkan sağlar (Watson, 1997).

1.11.2. Transvers Mikroradyografi (TMR)

Son dönemde diş hekimliği ile ilgili yapılan çalışmalarda, dokulara ilişkin değişikliklerin değerlendirilmesi için kantitatif bir yöntem olarak mikroradyografi analizi yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. X-Ray ışınlarının doku üzerinden yansıdığına sahip oldukları dalga boylarının analiz edilmesi sonucu dokunun bileşenleri hakkında detaylı bilgi sunmaktadır. Son derece hassas bir analiz olan Transversal Mikroradyografi (TMR) yöntemi dokuların mineral bileşimini, yoğunluğunu ve dağılım oranının direkt ve kantitatif ölçümlerinde uygulanabilen, güvenilir bir yöntemdir (Sønju Clasen ve ark., 1997).

1.11.3. Uzunlamasına Mikroradyografi (LMR)

TMR'in gönderdiği X ışınlarının geliş açısından dolayı oluşan iyonize edici hasarını en aza indirmek adına, uzunlamasına mikroradyografi (LMR) olarak adlandırılan farklı bir mikroradyografi metodu geliştirilmiştir. LMR, dokulardaki mineral dağılımlarının tespitinde ölçümlerin tekrar analizine TMR'ye göre daha fazla sayıda izin vermesiyle farklılık gösterir (Sønju Clasen ve ark., 1997).

1.11.4. Mikrosertlik Analiz Yöntemi

Mikrosertlik, diş sert dokularının mineral bileşimini analiz etmede literatürde uzun süredir tercih edilen başarılı bir yöntemdir. Mikrosertlik test cihazı, elmas bir ucun ışık mikroskobu altında incelenen materyal yüzeylerine belirli kuvvetlerin belirli sürede uygulanmasıyla, yüzeylerde bıraktığı izlerin derinlik veya boyutunun hesaplanmasıyla test edilen cismin sertlik değerinin belirlenmesi sağlamaktadır (Featherstone ve ark., 1983). Diş hekimliğinde, dental materyal ve organik dokuların sertlik analizi için Knoop ve Vickers testleri tercih edilmektedir (Craig, 2012).

1.11.4.1. Knoop sertlik ölçüm yöntemi

Knoop sertlik ölçüm testi, kırılğan materyallerin sertliğini ölçmek için uygundur. Otuz beş Newton'luk yükü geçmemek koşuluyla yumuşak ve kırılğan materyallere uygulanabilmesi ile geniş kullanım alanına sahiptir. Dezavantajı ise test süresinin uzun olması ve fazla cilalanmış düz bir yüzey istemesidir (Craig, 2012). Knoop sertlik testlerinde, dentin, mine, porselen, kompozit ve diğer benzeri restoratif materyallerin sertlik değerleri incelenebilir (Anusavice, 2003).

1.11.4.2. Vickers sertlik ölçüm yöntemi

Vickers yönteminde mikrosertliği ölçülecek materyal yüzeyine kare tabanlı tepe açısı 136° olan, piramit şekilli bir elmas uç ile kuvvet uygulanarak materyal yüzeyinde dörtgensel bir iz oluşturulur (Broitman, 2016). Meydana gelen iz üzerinde, cihazda bulunan bir ışık mikroskopu yardımıyla hareketli iki cetvel çapraz köşegenler arasına yerleştirilir, ardından aralarındaki mesafeler ölçülerek ortalamaları alınarak sertlik değeri hesaplanır. Vickers sertlik değeri kg olarak ifade edilen deney yükünün mm^2 olarak ifade edilen iz alanına bölümü olup $HV=1.854 \times \text{kuvvet} / (\text{taban köşegeni})$ formülü ile hesaplanmaktadır. İz alanı ne kadar küçükse elde edilen Vickers sertlik değeri o kadar büyük olur ve materyalin daha sert olduğunu gösterir (Broitman, 2016; Nix ve Gao, 1998). Doğru ve güvenilir değerler üretebilmesi, kullanılan elmas ucun zamana bağlı olarak yıpranmaması ile tüm materyaller, ve özellikle de ölçümü zor olan organik yüzeyler için kullanılabilir olması Vickers sertlik testinin avantajıdır (Zhang ve ark., 2011). Ayrıca Vickers sertlik ölçümleri aynı örnek içindeki spesifik katmanlarında ölçümüne izin vermektedir (Dietschi ve ark., 2003).

1.11.5. Elektron Mikroskopları (SEM ve TEM) Kullanılarak Yapılan Analiz

Günümüzde diş hekimliğinde en çok kullanılan elektron mikroskopları SEM ve TEM'dir. TEM'de incelenen materyal üzerine gönderilen elektronlar, materyal içinden geçerek arkada bulunan alıcıya çarpması sonucu görüntü oluşturmaktadır. Bu elektron demeti bir veya iki elektromanyetik mercekle tarafından örnek üzerine odaklanır. Örnekten geçen elektron, objektif merceği aracılığıyla büyütülmüş bir görüntü oluşturur. Bu görüntü diğer mercekler tarafından büyütülerek ekrana yansıtılır (Arana-Chavez ve Castro-Filice, 2019). SEM ise cisimlerin yüzeyini incelemek üzere geliştirilmiştir. Mine yüzeyinin topografik yapısını ve meydana gelen değişikliklerin detaylıca incelenmeye olanak sağlar. Güncel sistemlerde bu sensörlerden gelen veriler dijital sinyallere dönüştürülüp bilgisayar ekranına verilmektedir. Bu iki mikroskop altında yapılan incelemelerde, elektronların geri yansırken sahip oldukları dalga boyları analiz edilerek, materyallerin mineral içeriği hakkında detaylı bilgi elde edilebilmekte ve yüzdesel değişimler hesaplanabilmektedir (Marshall ve ark., 1988; Prati ve ark., 2020).

1.11.6. Kantitatif Işık Etkili Floresans (QLFTM)

Kantitatif ışık etkili floresan, diş dokularının floresan özelliklerini analiz eden bir aygıttır. Floresan özelliği, soğrulan ışığın dalgaboyundan başka bir dalga boyunda renk ile yansıması şeklinde gerçekleşir. Sağlıklı bir diş dokusuna belli bir dalga boyunda mavi ışık gönderildiğinde, dişin yapısında bulunan ve flofor (fluophore) adı verilen yapılar bu mavi ışığı absorbe edip, yeşil ışık olarak geri yansıtırlar. QLFTM görüntülerinde demineralize alanlar, erken çürük lezyonları yeşil fon üzerinde koyu renkli alanlar olarak görünürler. QLFTM ile 30 mikron (0.03 mm) derinliğine kadar olan dental dokuların mineral bileşenlerini analiz edebilmektedir (de Josselin de Jong ve ark., 1995) .

1.11.7. Optik Koherens Tomografi (OCT)

OCT, ışığın değişik yüzeylerden geçerken gösterdiği yansıma farkları üzerinden biyolojik yapılardan kesit görüntüler oluşturan bir görüntüleme sistemidir. Dental OCT sayesinde, dental materyal ve dokuların mikro yapılarının görüntüleri elde edilebilmekte ve söz konusu dokulara ait kalitatif ve kantitatif değişiklikler saptanabilmektedir. Bu tekniğin diş hekimliğinde kullanımı ile, diş çürüğü, diş dokusunun mineral bileşenleri ve dental restorasyonların yapısal bütünlüğü gibi konularda bilgi sahibi olmak mümkündür. Gelişmiş tekniklerle dahi saptanamayan çürük lezyonunun derinliğini OCT ile kantitatif olarak değerlendirilebilmektedir (Amaechi ve ark., 2001; Soğur ve ark., 2005).

1.12. Yapay Çürük Modelleri

İnsan organizmasında her an meydana gelen değişiklikleri, döngüleri, mekanizmaları açıklayabilmek için birçok çalışma modeli geliştirilmiştir. Birçok faktör karşısında, organizmanın verdiği rutin tepki ve tedavi mekanizmalarının başarısı, çok farklı değişkenlerin kontrolünde olmakla beraber, bilinmeyen birçok çevresel etkene de bağlı olabilmektedir. Çürük oluşumu ve organizma tarafından bu oluşuma verilen yanıtların diğer mekanizmalarda olduğu

gibi açıklanabilmesinde in vitro, in vivo ve in situ çalışma modelleri kullanılarak kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirilebilmektedir (Ten Cate ve Mundorff-Shrestha, 1995)

1.12.1. In Vitro Modeller

Diş hekimliğinde birçok materyal, tedavi metotlarını, çeşitli demineralize edici ajanların (jeller, solüsyonlar, vb.) etkisini ve oral biyofilm koşullarını simüle etmek amacıyla in vitro modeller kullanılmaktadır (McIntyre ve ark., 2000). Ancak, in vitro çalışmalarda kullanılan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} konsantrasyonlarının ve bazı durumlarda pH değerlerinin, daha hızlı bir demineralizasyon sağlamak için in vivo ortamlara göre daha düşük konsantrasyonlarda seçilmiş olduğu akılda tutulmalıdır. Demineralize substratın fiziksel ve mekanik özelliklerinde dikkate değer farklılıklara, dişin mineral yapısı, başlangıç sertlik derecesi, kullanılan solüsyonun/jelin konsantrasyonu, dişe uygulanan asidin türü ve viskozitesi gibi özellikler neden olabilmektedir (Lynch ve Ten Cate, 2006).

1.12.1.1. Asit Tamponlarının Kullanıldığı In Vitro Demineralizasyon Modelleri

Organik ve yapay asit solüsyonları ile hazırlanan in vitro demineralizasyon modelleri, ulaşılmasının kolay ve ekonomik olması, düzenli olarak tazelenebilir olması sebepleriyle, yaygın şekilde kullanılan in vitro yapay çürük modellerdir. Bu çalışma modelinde, çekilmiş dişlerin mine veya dentin yüzeylerinde alanlar oluşturularak, laboratuvar ortamında hazırlanan çözeltilerde organik veya yapay asit solüsyonları kullanılmaktadır (Cai ve ark., 2019). Çalışma öncesinde, çalışmada kullanılacak asidik çözeltinin pH değeri, ortam sıcaklığı, saklama koşulları gibi etkenler dikkate alınarak hazırlanmaktadır. Kullanılacak olan çözeltilere karar verilirken, içerdiği Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve F^- gibi iyon miktarları dikkate alınmalıdır (Amaechi ve ark., 2013).

1.12.1.2. Asidojenik Bakteri Ürünleri ile Hazırlanan In Vitro Demineralizasyon Modelleri

Diş çürüklerinde demineralizasyon-remineralizasyon mekanizmalarının aydınlatılabilmesi amacıyla, in vitro yöntemlerin farklı modifikasyon modelleri farklı yaklaşımlar ile kullanılabilmektedir (Firestone ve ark., 1993). Klasik in vitro yöntemlerde olduğu gibi asidojenik bakteri ürünleri ile hazırlanan in vitro demineralizasyon modeli için de; çalışma öncesinde çekilmiş dişler üzerinde temizlik, dezenfeksiyon, mine ve kök yüzeyinde pencere hazırlığı gibi ön hazırlıkların yapılması gerekmektedir (Moron ve ark., 2013). Bu modelin, diş çürüklerinin bakteriyel etiyolojisine ve bu hastalıkla ilişkili bazı bakteriyel virülans faktörlerine ilişkin in vitro araştırmalar için oldukça uygun olduğu gösterilmiştir. Ancak, ortamdaki Ca^{+2} , F^{-} ve PO_4^{-3} iyon seviyelerinin kontrol edilememesi, bakteriler ile çalışmanın insan sağlığı için risk oluşturması gibi dezavantajları da belirtilmiştir (Firestone ve ark., 1993)

1.12.1.3. pH Döngüsü Modeli Kullanılan Çalışma Modelleri

Demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsünü simüle ederek, ağız ortamının taklit edilmesine olanak veren pH döngüsü modelinde, in vitro koşullar modifiye edilebildiği için in vivo çalışmalara yol gösterici olabilmektedir. Bu model, gün içerisinde biyofilmin sebep olduğu asit ataklarını ve diyet ile alınan asidik gıdaların yarattığı eroziv etkileri taklit edebilen demineralizasyon solüsyonlarını ve tükürük tamponlama mekanizmaları sayesinde pH'ın 7'ye yükseldiği ortamı taklit edebilen remineralizasyon solüsyonlarını içermektedir. Bu model, incelenecek örneklerin vücut sıcaklığı olan 36-37 °C'de etüv içerisinde bekletilmesini, ajanların uygulanmasından sonra numunelerin incelenerek demineralizasyon ve remineralizasyon dinamikleri üzerine çürük önleyici ajanların etkinliğinin değerlendirilmesini kapsamaktadır. Bu metotta, remineralizasyon solüsyonları içerisinde yer alan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları, tükürüğün içerdiği doğal seviyede tutulmaya çalışılmaktadır (D. J. Epasinghe ve ark., 2015).

1.12.2. In Vivo Modeller

In vitro çalışma modellerinin aksine, canlı organizmalar üzerinde yapılan çalışmaların incelenebilmesi için geliştirilmiş yöntemler olarak gösterilen in vivo çalışma modelleri; literatürde birçok in vitro araştırma sonucundaki ortak bulguların birleştirilmesi ile potansiyel olarak gösterilmiş materyallerin, daha ileri çalışmalarda kullanılma gereksinimleri üzerine yapılmaktadır. Bununla birlikte, kontrollü klinik çalışmalarda ortaya çıkan kanıtların sınırlı olması, materyallerin taranması için genişletilmiş in vitro modellerin kullanılmasını gerektirmektedir. In vitro çalışmalardan elde edilen sonuçların doğru bir şekilde yorumlanabilmesi için kullanılan materyallerin in vivo koşullar altında da performanslarının değerlendirilmesi gerekli olabilmektedir (Hörsted-Bindslev, 1994).

1.12.3. In Situ Modeller

Uygulaması zahmetli ve etik tartışmalara sebebiyet verebilen bu modelde, onamı alınan bireylerin vücuduna in vitro ortamlarda hazırlanan materyaller implante edilerek incelenmektedir. Koruyucu diş hekimliği ve remineralizasyon ajanları üzerine yapılan in situ model çalışmalarında; demineralizasyon-remineralizasyon modelleri genellikle 25 mm² kesitler halinde bireylerin dişlerinin yüzeylerinde hazırlanan anahtar boşluklara yerleştirilip incelenerek gerçekleştirilmektedir. In situ çürük modelleri, iki temel amaç için kullanılmaktadır. Birincisi, standart oral fizyolojik süreçler hakkında bilgi edinmektir. Elde edilen bilgiler, oral ekosistem hakkındaki verileri detaylandırmaya ve in vitro deneyler sonrasında elde edilen sonuçları doğrulamaya yardımcı olmaktadır. İkinci kullanım amacı ise, laboratuvar testleri ve klinik çalışmalarda kullanılan tedavi edici ajanları test edebilmektir. (ten Cate, 1994).

1.13. Amaç

Diş hastalıklarının nedeni ve oluşumu anlaşıldıktan sonra, diş hekimliğindeki gelişmelerle birlikte, tedavi yöntemleri değişmiş ve minimal girişimsel diş hekimliği felsefesi tüm dünyada önem kazanmıştır. Minimal girişimsel diş hekimliğinin amacı dişlerin hayat boyunca sağlıklı ve fonksiyonel olarak ağızda tutulmasıdır. Bu gelişmelerin sonucunda, invaziv teknikler bırakılarak çürüğün erken teşhisi, demineralize mine ve dentinin remineralizasyonu, çürüğün önlenmesi gibi stratejileri içeren minimal girişimsel diş hekimliği görüşü önem kazanmıştır.

Uzun yıllardır yapılan çalışmalarda florürün remineralize edici etkileri kanıtlanmıştır. Sodyum florür ve diğer florür bileşikleri remineralizasyon amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Mine ve dentinin yapısal farklılıkları nedeniyle, dentinin remineralizasyonu daha zordur. Yapılan çalışmalarda, sodyum florürün mine remineralizasyonunda daha etkili olduğu ve dentinde mine kadar iyi sonuç vermediği ortaya konmuştur. Dentinde remineralizasyon ve çürük durdurma amacıyla kullanılan ve son yıllarda giderek daha popülerite kazanan ajanlardan biri gümüş diamin florürdür.

Son yıllarda flora karşı oluşmuş tepkiler nedeniyle, doğal kaynaklı remineralize edici ajanlara olan ilgi artmıştır. Bu ajanlardan biri olan üzüm çekirdeği ekstresi doğal bir kolajen çapraz bağlayıcısı olan proantosiyanidin içerir. Üzüm çekirdeği ekstresinin de tıpkı gümüş diamin florür gibi çürük lezyonları üzerinde remineralize edici etkisi vardır. Yapılan çalışmalar, PA'nın güçlü bir dentin biyomodifikasyon ajanı olduğunu göstermiştir.

Dentinde başarılı bir remineralizasyon için dentinde bulunan kolajenin yapısının korunması gereklidir. Hem GDF hem de ÜÇE dentin kolajeni üzerinde etkilidir. GDF dentin kolajenlerinin dejenerasyonunu durdururken, ÜÇE ise kolajenler arasında çapraz köprüler kurarak kolajeni stabil hale getirir. Bu nedenle bu iki ajanın kombine kullanımlarının sinerjistik etki göstereceği öne sürülmüştür.

GDF ve ÜÇE'nin çürük dentin lezyonu üzerinde remineralize edici etkileri daha önce araştırılmış olmasına rağmen, bu iki çürük durdurucu ajanın süt dişlerinde karşılaştırıldığı ve kombine kullanımlarının remineralizasyona etkilerini süt dişlerinde değerlendiren tek bir çalışma bulunmaktadır.

Minimal girişimsel diş hekimliği konseptinde çürüğün durdurulması ve diş fonksiyon kazandırılması önemlidir. Bu amaçla remineralize edici bir ajan uygulanmasından sonra, dişin bir restoratif materyal ile restore edilmesi önemlidir. Yapılan kaynak taramasında süt dişlerinde GDF, ÜÇE ve bunların kombine kullanımlarının restoratif materyalin bağlantısını nasıl etkileyeceği konusunda bilgi bulunamamıştır.

Bundan dolayı bu çalışmanın amacı, gümüş diamin florür ve üzüm çekirdeği ekstresinin tek veya kombine kullanımlarının süt dişi çürük dentin lezyonunda remineralize edici etkisinin ve uygulama sonrası restorasyonun bağlanma kuvvetine etkisinin değerlendirilmesidir.

Çalışmada hipotez olarak;

H₀: Demineralize süt dişi dentine GDF + ÜÇE kombine uygulamasının dentinin mikro sertliği ve restorasyon materyalinin dentine bağlanma kuvvetini GDF ve ÜÇE tek uygulanmasına göre fark olmayacağı, şeklinde kurulmuştur

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızda in vitro koşullarda Gümüş Diamin Florür, Üzüm Çekirdeği ekstresi ve kombine uygulamalarının, süt dişi dentin çürük lezyonunda remineralize edici etkisi mikrosertlik ölçümleri ile değerlendirilmiş ve bu üç ajanın uygulandığı örneklerle yüksek viskoziteli cam iyonomer restorasyon uygulanarak bağlanma testi ile restorasyonun tutuculuğu üzerine etkisi incelenmiştir.

2.1. Etik Kurul Onayı

Çalışmamızın etik kurul onayı Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 03.02.2021 tarihi ve 03/12 sayı numarasıyla alınmıştır (Ek-1). Çekim endikasyonu bulunan dişlerin çalışmamızda kullanılması amacıyla çocuk hastalara ve ebeveynlerine araştırma hakkında bilgi verilip, aydınlatılmış onam formları alınmıştır. (Ek-2)

2.2. Örneklem Sayısının Belirlenmesi

Örneklem hacminin belirlenmesi amacıyla çalışmaya başlamadan önce 'güç analizi' gerçekleştirilmiştir. Güç analizinin gerçekleştirilmesi sırasında literatürde daha önce yapılan benzer çalışmalar referans alınmıştır (Cai ve ark., 2019; M. Firouzmandi ve ark., 2019; M. Firouzmandi ve ark., 2020). ÜÇE ve GDF grupları için sonra-önce ölçüm farklarına ait ortalama standart sapma ($\pm$) değerleri sırasıyla $0,92\pm1,54$ ve $5,12\pm0,94$ olarak alındığında, 0,05 anlamlılık, %90 güç ve %5 tip 1 hata düzeyinde Mann Whitney U testi kullanılarak her bir grup için en az 5, grup başına 20 toplamda 40 dişin çalışmaya dahil edilmesi gerektiği bulunmuştur.

2.3. Örneklerin Hazırlanması

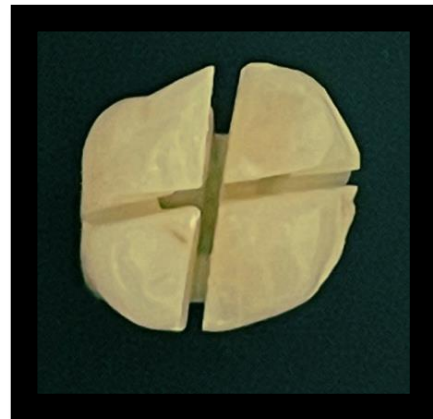
Çalışmamız klinik ve radyolojik muayene sonucunda kök rezorpsiyonun 2/3'ünü tamamlamış ve çekim endikasyonu konulmuş 40 adet süt ikinci molar dişler üzerinde yürütülmüştür.

Dişler üzerindeki plak ve yumuşak doku artıkları akan su altında fırçalanarak uzaklaştırılmıştır. Çalışılacak diş yüzeylerinde çürük, çatlak, kırık, demineralizasyon, hipomineralizasyon veya renklenme gibi görünür yapısal bozuklukların bulunmadığı stereomikroskop (Leica MZ12, Meyer Instruments, Houston, TX, USA) ile x10 ve x25 büyütmede incelenerek tespit edilmiş ve bu durumdan herhangi birine sahip dişler çalışma dışında bırakılmıştır. Dişler deney zamanına kadar oda sıcaklığında %0,1'lik timol solüsyonu içerisinde bekletilmiş ve 3 ay içerisinde kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılacak olan dentin örneklerinin hazırlanması için, dişler ilk önce okluzal yüzeyini ortalayan meziodistal ve bukkolingual düzlemlerde (Şekil 2.1.) 4 parçaya bölünmüş (Şekil 2.2.) ve bir dişten 4 örnek elde edilerek, 4 farklı uygulama aynı diş üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ardından 40 dişten elde edilen 160 örnek okluzal 1/3'lük kısımları dışarıda kalacak biçimde 2x2x2 cm'lik kalıplar içerisine soğuk akril (Meliodent, Heraeus) kullanılarak gömülmüştür.

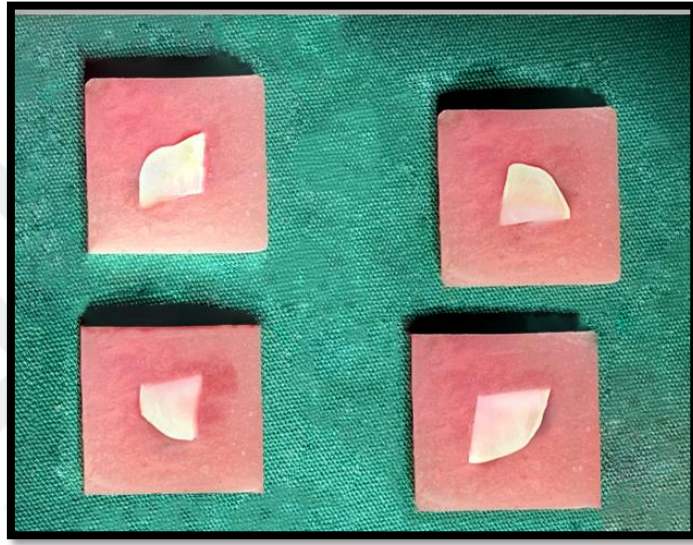


Şekil 2.1. Örneklerin kesilme doğrultusu



Şekil 2.2. Örneklerin 4 parçaya bölünmesi

Mine yüzeyleri, elmas frezler kullanılarak (Meisinger, Germany 841G-012) mine-dentin birleşimine kadar aşındırılarak dentin yüzeyleri açığa çıkarılmıştır. Yüzey pürüzsüzlüğü elde etmek amacıyla örnekler, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarında bulunan zımpara makinası (Metkon Gripo 2V Polisaj ve Zımpara Makinası, Bursa) ile sırayla 500, 800, 1000,1500, 2000, 3000 ve 5000 gridlik kâğıt zımparalarla (FEIHU kağıt zımpara, Amerika) zımparalanıp alüminyum oksit parlaticı ile cilalanmıştır (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Dentin yüzeyleri zımparalanmış ve cilalanmış örnek kesitleri

2.4. Dentin Örneklerinin Demineralizasyonu

Deney materyallerinin uygulanacağı standart dentin yüzeylerinin oluşturulabilmesi için dişlerin oklüzal yüzeyleri açıkta kalacak şekilde dişin geri kalan kısımları iki kat aside dayanıklı tırnak cilası ile kaplanmıştır.

Dentin yüzeylerinde demineralizasyon oluşturmak için dişler, 96 saat boyunca demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Örnekler 12 saatte bir solüsyondan çıkartılmış, de-iyonize su ile yıkanmış ardından tekrar taze solüsyon içerisine konulmuştur.

Demineralizasyon solüsyonu Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü laboratuvarında hazırlanmıştır. Demineralizasyon solüsyonunun içeriği:

- 2.2 mM CaCl_2 ,
- 2.2 mM NaH_2PO_4
- 0.05 M asetik asit karıştırılarak pH 4.6' ya ayarlanmıştır (Ten Cate ve ark., 1995).

2.4.1. pH Siklusu

Demineralizasyon sonrası ağız ortamındaki gün boyu oluşan pH değişikliklerini simüle etmek amacıyla demineralizasyon-remineralizasyon döngüsü (pH siklusu) 28 gün boyunca uygulanmıştır (ten Cate ve Duijsters, 1982).

Demineralizasyon solüsyonu: 2.2 mM CaCl_2 , 2.2 mM NaH_2PO_4 , 0.05 M asetik asit pH 5.0 olacak şekilde hazırlanmış ve örnekler bu solüsyonda 4 saat bekletilmiştir;

Remineralizasyon solüsyonu: 1.5 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.90 mM KH_2PO_4 ve 130 mM KCl pH 7.0 olacak şekilde hazırlanmış ve örnekler bu solüsyonda 20 saat bekletilmiştir;

pH döngüsünde kullanılan solüsyonlar, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde hazırlanmıştır. pH döngüsü sonrası, mikrosertlik testi ve bağlanma testi yapılacak örnekler 20'er dişten oluşan 80 örneklilik iki gruba ayrılmıştır.

2.5. Çalışmada Kullanılan Remineralizasyon Ajanları:

Gümüş Diamin Florür (GDF): %38'lik 44,800 ppm gümüş diamin florür preparatı (Fagamin, Tedequim S.R.L., Arjantin) (Şekil 2.4.)



Şekil 2.4. %38'lik 44.800 ppm gümüş diamin florür preparatı (Fagamin, Tedequim S.R.L. Arjantin)

Üzüm çekirdeği ekstresi (ÜÇE): Üzüm çekirdeği ekstresi solusyonu için kapsül formundaki üzüm çekirdeği ekstresinden (Balem, İstanbul Türkiye) (Şekil 2.5.) distile su içinde %6.5 lik solüsyonu hazırlanmıştır. Bunun için cam şişe içine 100 ml distile su, 6.5 gr üzüm çekirdeği ekstresi (Şekil 2.6.) eklenip karıştırılmıştır. Solüsyonun pH'sı tamponlayıcı olarak NaOH ilave edilerek pH=7'ye ayarlanmıştır (Şekil 2.7.).



Şekil 2.5. Üzüm çekirdeği ekstresi



Şekil 2.6. 6,5 gr Üzüm çekirdeği ekstresi



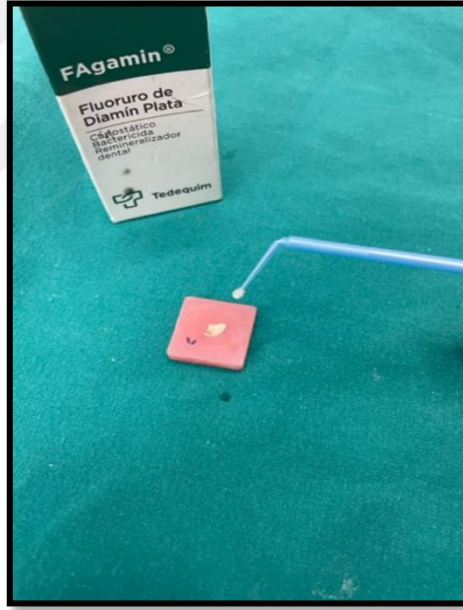
Şekil 2.7. 100ml Üzüm çekirdeği solüsyonu

2.5.1. Remineralizasyon Ajanlarının Uygulanması

Deneylerin başlangıç aşamasında her bir diştten elde edilen 4 örnekten biri kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Kalan üç örneğe GDF, ÜÇE ve her ikisinin kombinasyonu uygulanmıştır.

2.5.2. Gümüş Diamin Florür Uygulanması

Remineralizasyon amacıyla GDF uygulanacak grupta, üretici firmanın talimatıyla 2-3 damla solüsyon aplikatöre damlatıldıktan sonra 2-3 dakika kadar dentin yüzeyine ovalanarak uygulanmıştır. 1 dakika beklendikten sonra örnekler hava-su spreyi ile yıkanarak solüsyon uzaklaştırılmıştır (Şekil 2.8.)



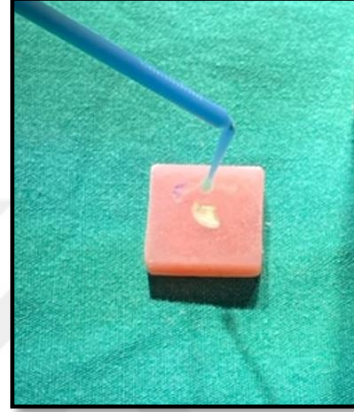
Şekil 2.8. Örnek yüzeylerine gümüş diamin florür uygulaması

2.5.3. Üzüm Çekirdeği Ekstresi Uygulanması

Remineralizasyon amacıyla ÜÇE kullanılacak grupta, hazırlanan solüsyon (Şekil 2.9.) aplikatör yardımıyla 2-3 dakika kadar uygulanmış ve 3 dakika bekletildikten sonra hava-su spreyi ile yıkanarak solüsyon uzaklaştırılmıştır (Şekil 2.10.).



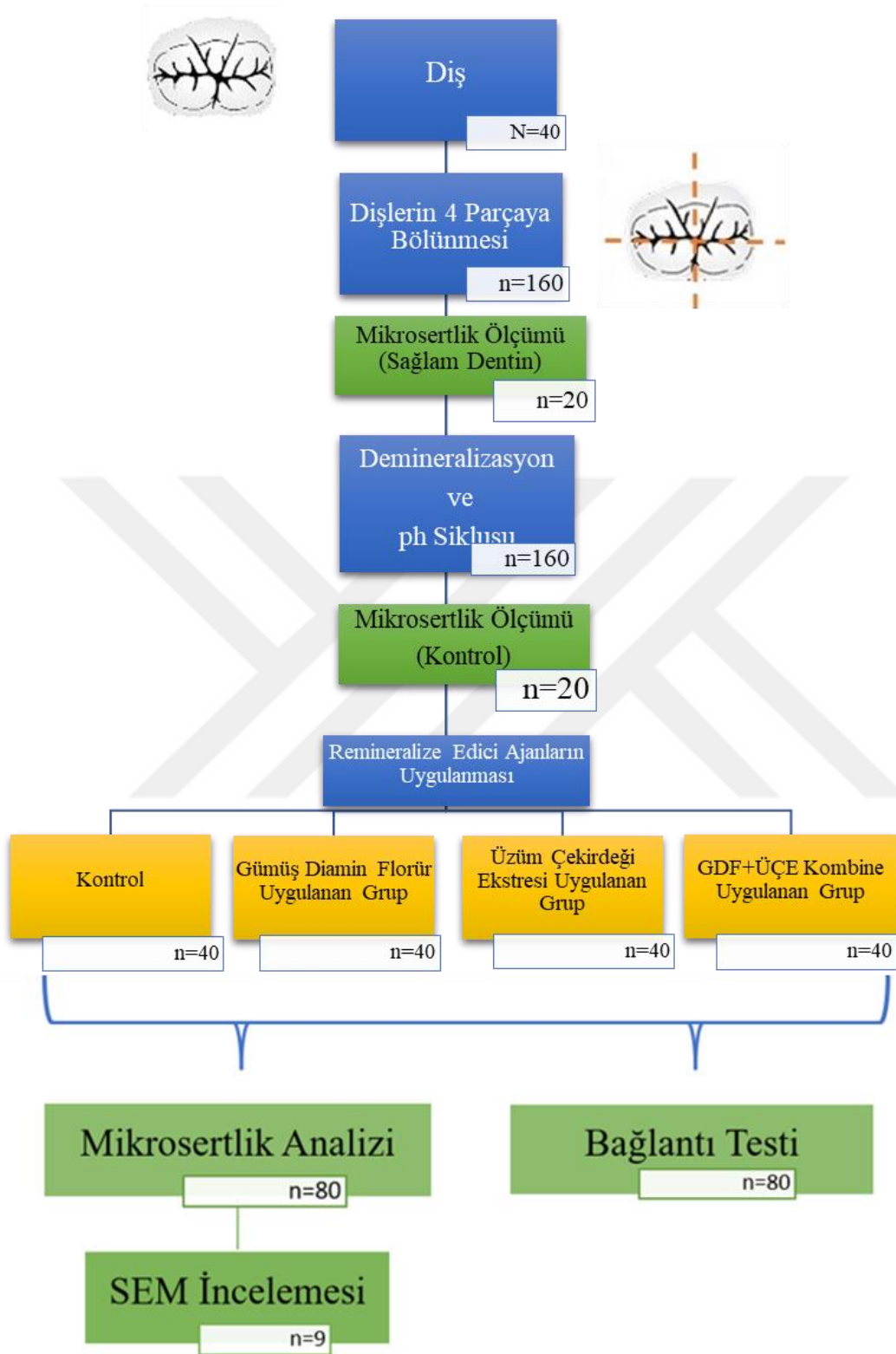
Şekil 2.9. Uygulama için ayrılmış üzüm çekirdeği ekstresi



Şekil 2.10. Örnek yüzeylerine ÜÇE solüsyonun uygulanması

2.5.4. Üzüm Çekirdeği ve Gümüş Diamin Florür Kombine Uygulanması

ÜÇE ve GDF beraber uygulanacak grupta, örnekler önce ÜÇE uygulanıp 3 dakika beklenip ardından GDF uygulanıp 4 dakika beklenmiştir. Örnekler daha sonra hava-su spreyi ile yıkanarak solüsyon uzaklaştırılmıştır.



Şekil 2.11. Deney prosedürünü anlatan şema

2.6. Mikrosertlik Ölçümü

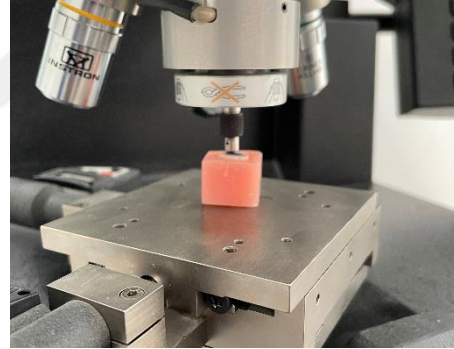
Mikrosertlik ölçümleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi Mekanik Test Laboratuvarında bulunan Vickers mikrosertlik test cihazı (Instron Testor 930/250, Amerika) (Şekil 2.12.) ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılan her bir diş örneğinden, 1 saniye boyunca 50g yük altında (Şekil 2.13.) farklı noktalardan üç adet ölçüm yapılarak elde edilen verilerin ortalaması Vickers Sertlik Ölçeği (VHN) cinsinden örneklerin mikrosertlikleri olarak kaydedilmiştir (Şekil 2.14.).

Örneklerden 3 kez ölçüm yapılmıştır;

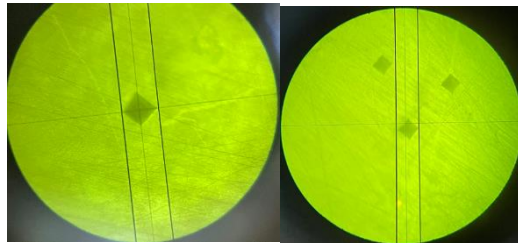
1. Demineralizasyon uygulamadan önce sağlam dentinde
2. Demineralizasyondan sonra
3. Remineralizasyon ajanları uygulandıktan sonra



Şekil 2.12. Instron Testor Cihazı



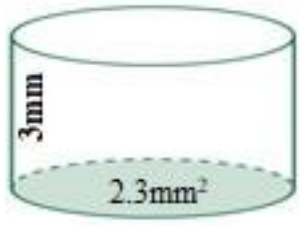
Şekil 2.13. 50g Yük altında mikrosertlik ölçümü



Şekil 2.14. Yapılan üç adet mikrosertlik ölçümü

2.7. Bağlantı Kuvveti Ölçümleri

Örneklerin dentin yüzeyine remineralize edici ajanların uygulanmasından sonra, 3mm yükseklikte ve 2.3mm² alana sahip (Şekil 2.15.) silindirik silikon kalıplar yerleştirilmiştir (Şekil 2.16.). Yüksek viskoziteli cam iyonomer siman (EQUIA Forte HT Fil, GC Corporation, Tokyo, Japan (G)) (YVCİS) (Şekil 2.17.) kalıp içerisine, materyalin firması tarafından verilen tabancasıyla tek inkremantasyon tekniği ile uygulanmıştır (Şekil 2.18.). Örnekler oda sıcaklığında 10 dakika kadar bekletildikten sonra silikon kalıplar çıkartılmış ve fazla materyal artıkları bistüri yardımı ile uzaklaştırılmıştır. Bütün örnekler YVCİS'in uygun şekilde sertleşme reaksiyonunu tamamlaması için 48 saat boyunca 37°C deki distile suda bekletilmiştir.



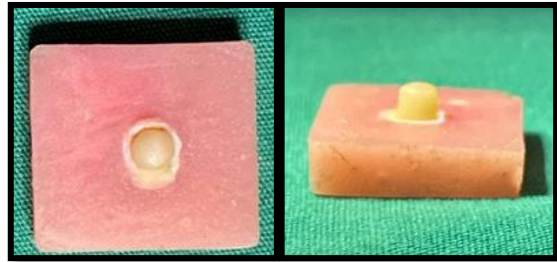
Şekil 2.15. Silikon kalıp şeması



Şekil 2.16. Silikon kalıp



Şekil 2.17. EQUIA Forte HT Fil kapsül

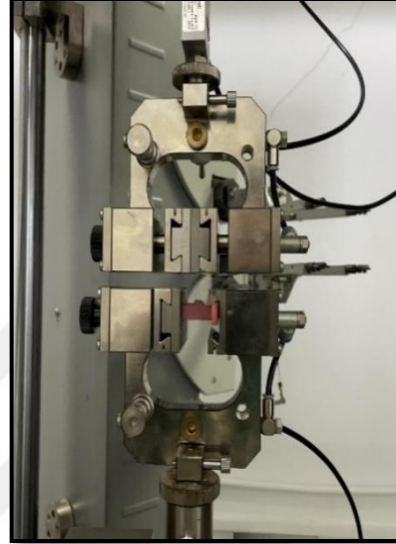


Şekil 2.18. Hazırlanmış Örnekler

Remineralizasyon ajanlarının restorasyonun dentine bağlantı dayanımını ölçmek için yapılan çekme testleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi Mekanik Test Laboratuvarında bulunan çekme test cihazında (Zwick/Roell Z250, Almanya) yapılmıştır (Şekil 2.19.).



Şekil 2.19. Zwick/Roell Mekanik test cihazı



Şekil 2.20. Bağlanma kuvveti ölçümü

Çalışmada kullanılan her bir diş örneği 0.2 Newton ön yükü ile dakikada 1mm çekme direnci olacak şekilde teste tabi tutularak, kopma noktasında yükler MPa biriminden kaydedilmiştir (Şekil 2.20.)

2.8. SEM Analizi

Daha önce mikrosertlik testinde kullanılan dişlerden, her gruptan 3'er örnek olacak şekilde toplamda 9 örnek, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarında (MERLAB) bulunan SEM (QUANTA 400F Field Emission SEM, Amerika) analiz cihazında incelenmiştir (Şekil 2.21.). EDX analizi içinde aynı cihaz ve örnekler kullanılmıştır. Örnekler SEM analizi öncesi tam atmosferik vakum altında kurutulmuş ve örnek yüzeyleri 10 nm kalınlığında altın-paladyum ile kaplanmıştır (Şekil 2.22.). Bütün örneklerden x2.000, x10.000 ve x20.000 büyütmede görüntüler alınmıştır (Şekil 2.23.).



Şekil 2.21. Quanta 400F SEM cihazı



Şekil 2.22. Örneklerin Au-Pd ile kaplanması



Şekil 2.23. Örneklerden çeşitli büyütmelerde görüntü alınması

2.9. İstatiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen veriler “Statistical Package for the Social Science” (SPSS 20 for Windows, SPSS Inc, USA) paket programı aracılığı ile analiz edilmiştir.

Demineralizasyon öncesi (kontrol) ve demineralizasyon sonrası, GDF, ÜÇE ve Kombine grubu olarak kendi içlerinde ardından birbirleri arasında değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı olarak nicel değişkenler için ortalama, $\pm$ standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) kullanılmıştır. İki bağımlı nicel değişken arasında fark olup olmadığına, normal dağılım varsayımları sağlanıyorsa Paired-t testi, sağlanmadığı durumlarda ise Wilcoxon İşaret testi kullanılarak bakılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0,001 olarak alınmış olup, $p < 0,001$ olması durumunda anlamlı farklılığın olduğu, $p > 0,001$ olması durumunda ise anlamlı farklılığın olmadığı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Mikrosertlik Test Bulguları

Çalışmamızda yapay olarak oluşturulan dentin çürük lezyonu üzerine uygulanan GDF, ÜÇE ve GDF+ÜÇE kombinasyonunun dentin yüzeyinde meydana getirdiği değişimlerin kantitatif olarak değerlendirilmesi adına yüzeyler üzerinde mikrosertlik testi uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan her bir diş örneğinden üç adet ölçüm yapıp elde edilen sertlik değerlerinin ortalamaları Vickers Sertlik Ölçeği (VHN) cinsinden Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. VHN cinsinden mikrosertlik ölçümleri

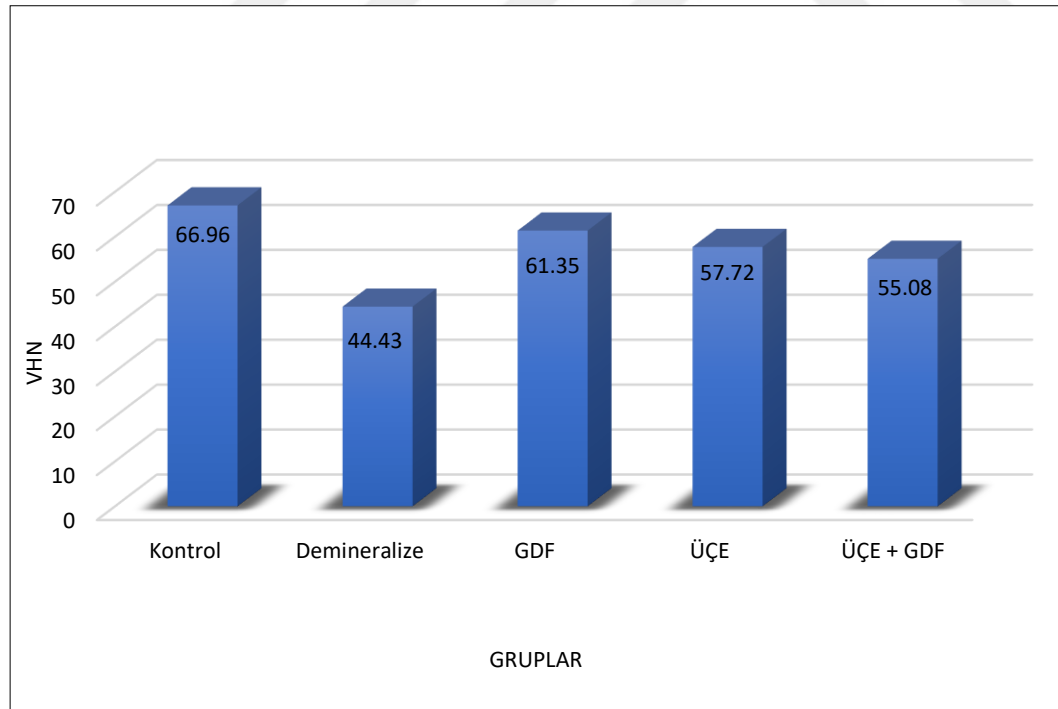
Diş Numarası	Sağlam Dentin (Kontrol)	Demineralizasyon Sonrası	GDF	ÜÇE	ÜÇE + GDF
1	50.7	33.6	49.8	46.2	43.2
2	70.5	48	57.3	53.7	51
3	63.9	45.6	57.6	51.3	54.3
4	61.5	36.6	54.3	53.1	50.1
5	103.5	69.9	81.3	79.8	78.3
6	58.2	33.3	56.4	53.1	51
7	83.1	57	69.9	63	60.3
8	81.9	54.6	79.8	76.5	63.9
9	80.7	60.3	77.7	74.4	69.9
10	86.4	60.9	76.5	72.9	73.2
11	70.2	57.3	66.3	63.9	61.5
12	63	51.3	61.5	58.5	57.3
13	52.5	33.3	49.8	46.2	42.3
14	55.2	30.3	51.9	48	46.5
15	51	29.7	49.8	46.2	43.2
16	43.8	30.6	42.3	39.9	36.9
17	59.7	33.6	51.6	46.5	42
18	52.2	30	49.8	47.7	45.3
19	54.6	29.7	53.1	46.2	47.1
20	96.6	63	90.3	87.3	84.3

Tüm grupların demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası dentin yüzeylerinden elde edilen istatistiksel değerler ile ortalama mikrosertlik değerleri Çizelge 3.2. ve Şekil 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Mikrosertlik değerlerinin istatistiksel analizi

Mikrosertlik (VHN)							Wilcoxon İşaret Testi
	n	Ort.	Med.	Min.	Max.	Ss(±)	p değeri
Kontrol	20	66.96	62.25	43.8	103.5	16.19	<0,001 ^(a)
Demineralize	20	44.43	41.1	29.7	69.9	13.38	<0,001 ^(b)
GDF	20	61.35	56.85	49.8	90.3	13.08	<0,001 ^(c)
ÜÇE	20	57.72	53.1	39.9	87.3	13.34	<0,001 ^(d)
Kombine	20	55.08	51	42	84.3	12.90	<0,001 ^(e)

a: GDF-ÜÇE, b: GDF-ÜÇE+GDF, c: GDF-Kontrol, d: ÜÇE-ÜÇE+GDF, e: ÜÇE-Kontrol, f: ÜÇE+GDF-Kontrol, arası ikili gruplar karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.1. Gruplar arası ortalama mikrosertlik değerleri

Grupların mikrosertlik değerleri sırasıyla; kontrol grubunda (sağlam dentin) 66.96 VHN, demineralizasyon sonrası 44.43 VHN, GDF grubunda 61.35 VHN, ÜÇE grubunda 57.72 VHN ve ÜÇE + GDF kombine uygulanan grupta 55.08 VHN olarak bulunmuştur. İstatistiksel değerlendirme sonucunda, gruplar arasında anlamlı derecede farklılıklar saptanmıştır ($p<0,001$). Sağlam dentinden (kontrol grubu) elde edilen ortalama mikrosertlik değerinin, diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0,001$). ÜÇE uygulanan grubun ortalama mikrosertlik değerinin demineralize ve ÜÇE+GDF (Kombine) uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). GDF grubuna ait ortalama mikrosertlik değeri ÜÇE grubuna ait mikrosertlik değerine göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). GDF, ÜÇE ve ÜÇE+GDF (Kombine) uygulanan gruplar arasında en düşük ortalama mikrosertlik değeri ÜÇE+GDF (Kombine) grubunda saptanmış olup ($p<0,001$) bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

3.2. Bağlantı Kuvveti Test Bulguları

Çalışmada kullanılan her bir diş örneğinin kopma noktasında kaydedilen değerleri Megapaskal (MPa) biriminden kaydedilmiştir. Her örnekten elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. MPa biriminden bağlantı kuvvetleri

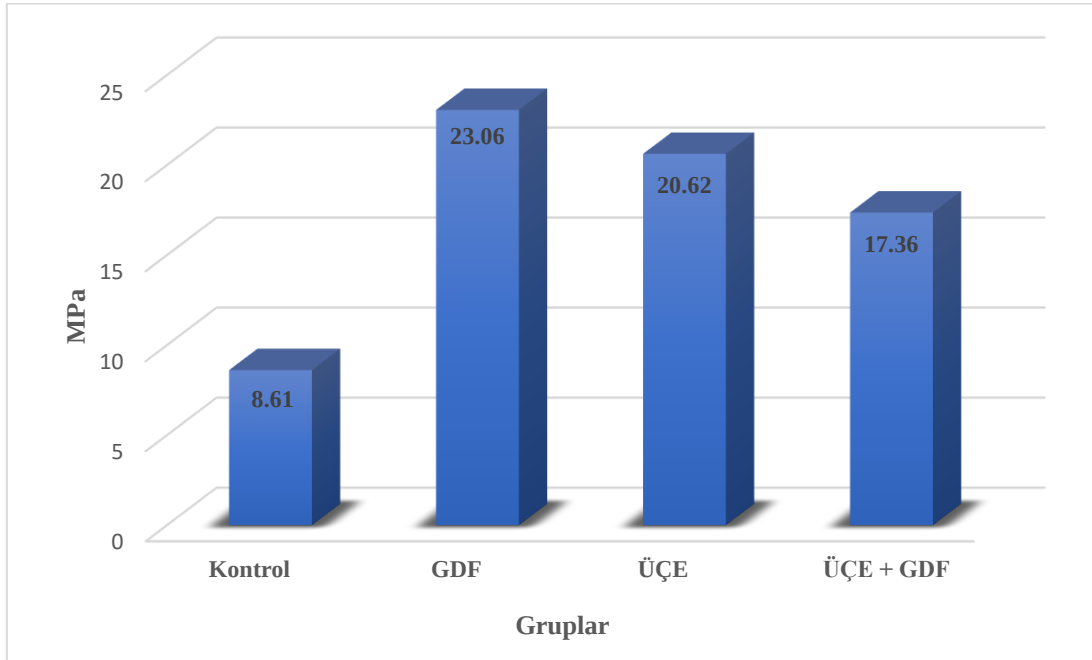
ÖRNEK	Kontrol (Demineralize)	GDF	ÜÇE	ÜÇE + GDF
1	9.1	24.01	20.4	18.2
2	10.03	21	21.1	19.01
3	8.05	23	22.01	17.05
4	8.88	21	19.2	18.54
5	8.65	22.5	19.97	17.05
6	8.55	22.02	22	16.04
7	9	23.7	19.05	17.02
8	8.77	24.06	21.5	16.88
9	8.33	25.86	19.88	17.83
10	8.21	23	21.7	17.22
11	8.18	24.01	21.4	16.6
12	8.12	22	20.5	18.9
13	9.01	21.04	20.95	15.2
14	7.94	23.05	20.05	17.8
15	8.22	25.01	20.66	18.1
16	8.42	24.11	20.64	18.2
17	8.55	22	21.2	17.95
18	8.13	23.3	19.99	17.44
19	9.11	22.4	21	16.98
20	9.02	24.1	19.22	15.1

Örneklere ait elde edilen istatistiksel veriler ile ortalama MPa değerleri Çizelge 3.3. ve Şekil 3.2.'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Bağlanma kuvvetine ait istatistiksel veriler

MPa							Paired-t Test
	n	Ort.	Med.	Min.	Max.	Ss(±)	p değeri
Demineralize (Kontrol)	20	8,61	8,55	7,94	10,03	0,51	<0,001 ^(a)
GDF	20	23,06	23,03	21,00	25,86	1,33	<0,001 ^(b)
ÜÇE	20	20,62	20,65	19,05	22,01	0,90	<0,001 ^(c)
ÜÇE + GDF	20	17,36	17,33	15,10	19,01	1,08	<0,001 ^(d)
							<0,001 ^(e)
							<0,001 ^(f)

a: GDF-ÜÇE, b: GDF-ÜÇE+GDF, c: GDF-Kontrol, d: ÜÇE-ÜÇE+GDF, e: ÜÇE-Kontrol, f: ÜÇE-Kontrol, arası ikili gruplar karşılaştırılmıştır.



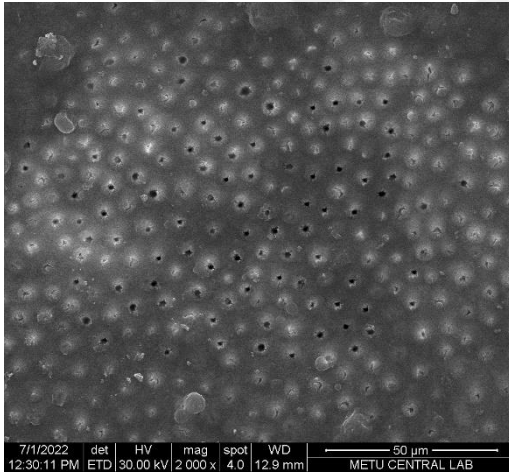
Şekil 3.2. Ortalama MPa değerleri

GDF grubu için çekme testi sonucuna ait ortalama MPa kuvveti 23.06 iken bu ortalama ÜÇE grubunda 20.62, ÜÇE + GDF kombine grupta 17.36 ve Demineralizasyon (Kontrol) grubunda 8.61 olarak bulunmuştur. Tüm ikili gruplar arası karşılaştırmalar anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Demineralize edilen örneklerden elde edilen ortalama bağlanma kuvveti diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,001$). GDF grubuna ait ortalama bağlanma değeri diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). ÜÇE uygulanmış gruba ait ortalama bağlanma değeri Kombine grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p<0,001$). Remineralize edici ajan uygulanan gruplar arasında en düşük bağlanma değeri GDF+ÜÇE kombine uygulanan grupta saptanmış olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).

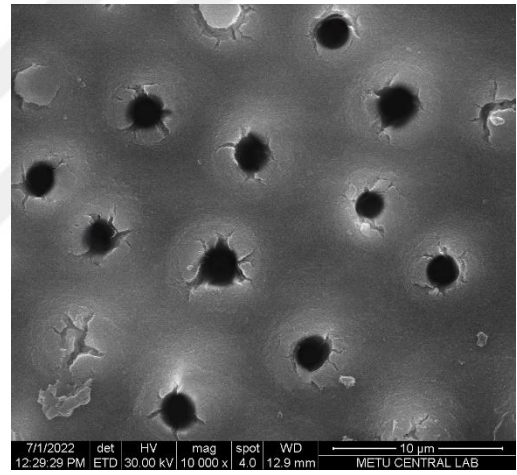
3.3. SEM ve EDX Analizlerinin Bulguları

3.3.1. Demineralizasyon Grubuna Ait Bulgular

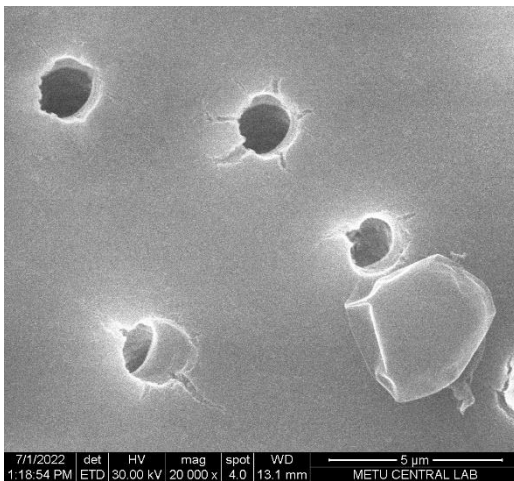
Demineralizasyon ve pH siklusuna tabi tutulmuş dentin örneklerinden x2.000 (Şekil 3.3.), x10.000 (Şekil 3.4.), x20.000 (Şekil 3.5.) büyütmelerde elde edilmiş görüntüler aşağıda verilmiştir. Demineralizasyon sonrası dentin tübüllerinin açığa çıktığı görülmüştür. x20.000 büyütme altında dentin tübüllerinin içlerinin boş olduğu gözlenmektedir. EDX incelemesinde kalsiyum ve fosfat iyonlarının yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır. (Şekil 3.6.)



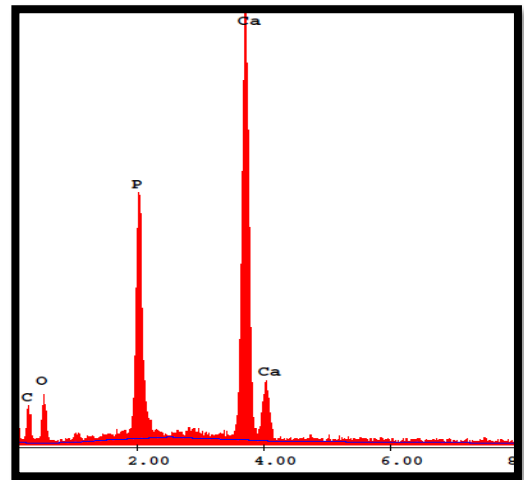
Şekil 3.3. x2.000 büyütmedeki görüntü



Şekil 3.4. x10.000 büyütmedeki görüntü



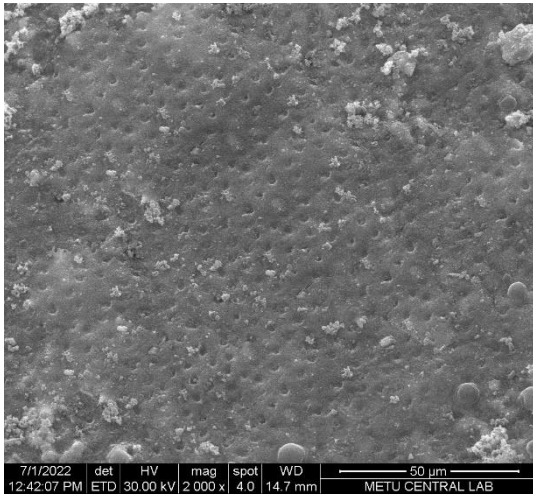
Şekil 3.5. x20.000 büyütmedeki görüntü



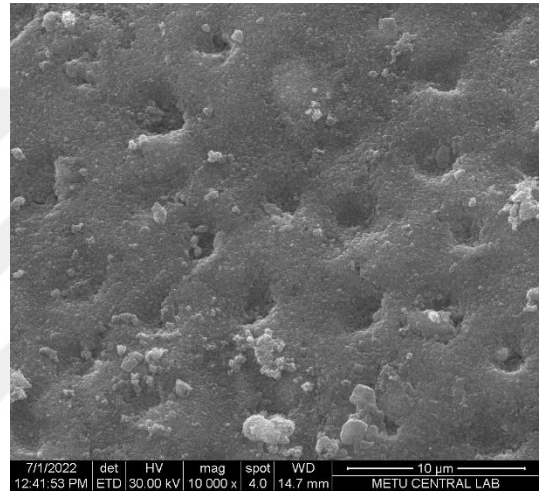
Şekil 3.6. EDX Analizi

3.3.2. Gümüş Diamin Florür Grubuna Ait Bulgular

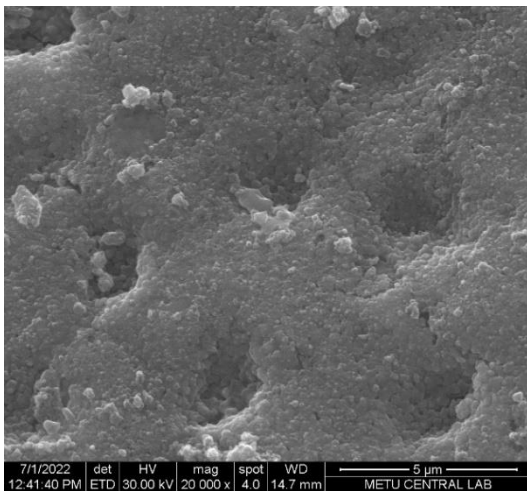
Demineralizasyon sonrası GDF uygulanmış dentin örneklerinden x2.000 (Şekil 3.7.), x10.000 (Şekil 3.8.), x20.000 (Şekil 3.9) büyütmelerde elde edilmiş görüntüler aşağıda verilmiştir. Dentin yüzeyinin tamamen globüler bir yapı ile örtülü olduğu ve dentin tübüllerinin içlerinin kısmen dolu olduğu gözlenmiştir. EDX incelemesinde gümüş, klorür ve fosfat iyonlarının daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 3.10.).



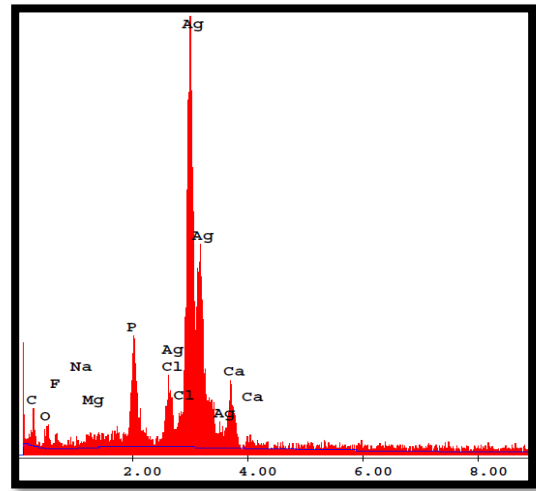
Şekil 3.7. x2.000 büyütmedeki görüntü



Şekil 3.8. x10.000 büyütmedeki görüntü



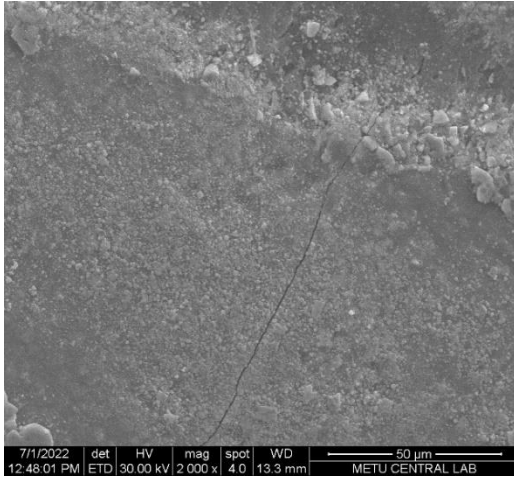
Şekil 3.9. x20.000 büyütmedeki görüntü



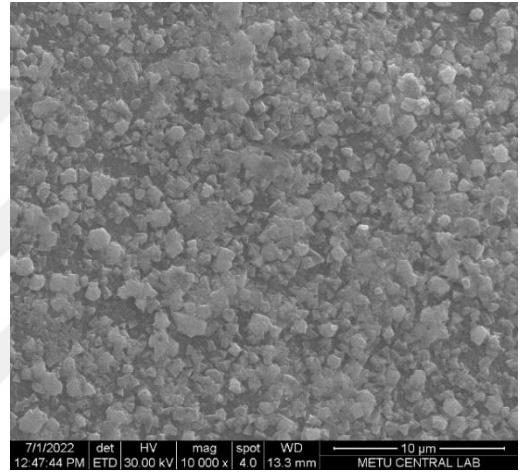
Şekil 3.10. EDX Analizi

3.3.3. Üzüm Çekirdeği Ekstresi Grubuna Ait Bulgular

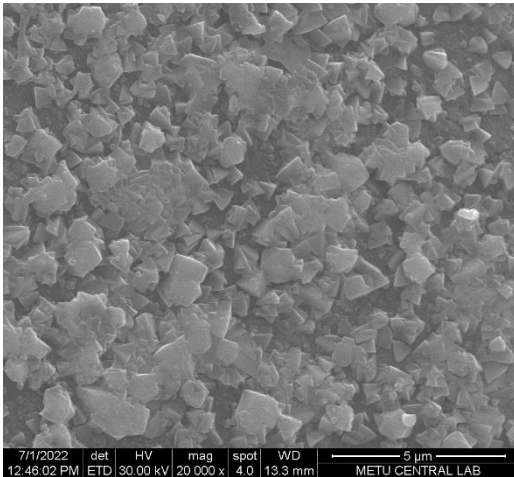
Demineralizasyon sonrası ÜÇE uygulanmış dentin örneklerinden x2.000 (Şekil 3.11.), x10.000 (Şekil 3.12.), x20.000 (Şekil 3.13.) büyütmelemlerde elde edilmiş görüntüler aşağıda verilmiştir. Dentin tübüllerinin tamamen kapandığı ve tübüllerin çevresinde kristal benzeri katmanlı bir yapının oluştuğu gözlemlenmektedir. EDX analizinde fosfat ve kalsiyum iyonlarının yüksek oranda olduğu görülmektedir (Şekil 3.14.).



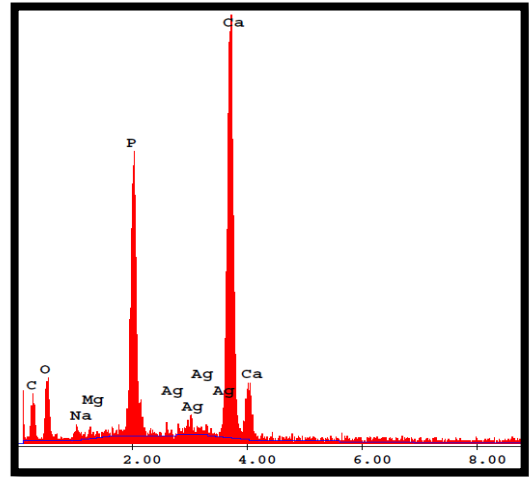
Şekil 3.11. x2.000 büyütmedeki görüntü



Şekil 3.12. x10.000 büyütmedeki görüntü



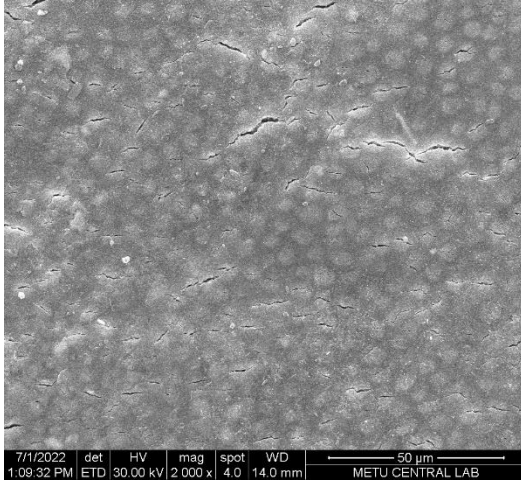
Şekil 3.13. x20.000 büyütmedeki görüntü



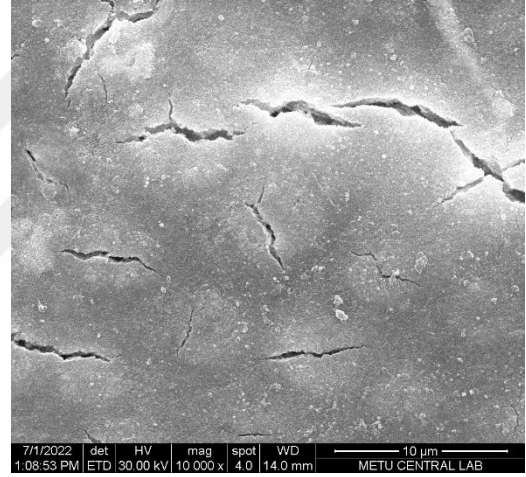
Şekil 3.14. EDX Analizi

3.3.4. Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanıldığı Gruba Ait Bulgular

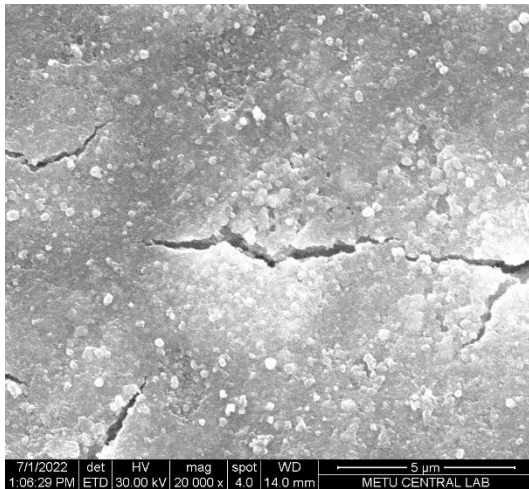
Demineralizasyon sonrası ÜÇE ve GDF kombine uygulanmış dentin örneklerinden x2.000 (Şekil 3.15.), x10.000 (Şekil 3.16.), x20.000 (Şekil 3.17.) büyütmelemede elde edilmiş görüntüler aşağıda verilmiştir. Dentin tübüllerinin tamamen kapandığı ve dentin yüzeyinin ince bir tabakayla örtüldüğü ancak yer yer çatlaklar olduğu gözlemlenmiştir. EDX analizinde fosfat, kalsiyum, gümüş, florür ve klorür iyonlarının yüksek oranda bulunduğı saptanmıştır (Şekil 3.18.).



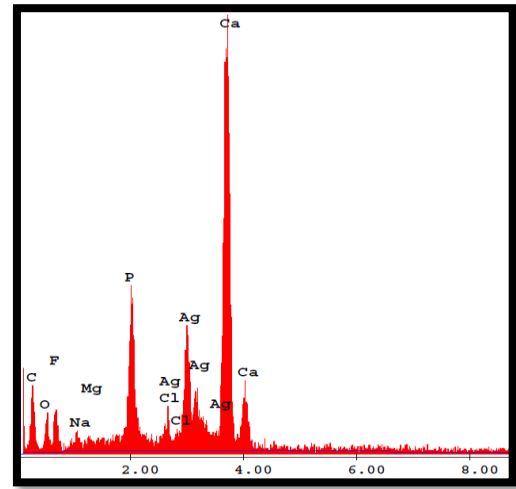
Şekil 3.15. x2.000 büyütmedeki görüntü



Şekil 3.16. x10.000 büyütmedeki görüntü



Şekil 3.17. x20.000 büyütmedeki görüntü



Şekil 3.18. EDX Analizi

3.3.5. EDX Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması

SEM ile incelenen örneklerin mineral miktarlarının ölçümü için yapılan EDX analizine ait kalsiyum, fosfat ve gümüş nanogram değerleri Çizelge 3.5.'te verilmiştir;

Çizelge 3.5. EDX analiz sonuçları (nanogram biriminde)

Gruplar	Ca	P	Ag	Cl
Kontrol	90.08	32.32	-	-
GDF	105.31	26.62	60.59	20.69
ÜÇE	148.5	81.50	-	-
ÜÇE + GDF	124.16	37.19	33.57	15.56

GDF ve ÜÇE + GDF gruplarda gümüş iyonlarının ortamda varlığı tespit edilmiştir. GDF grubundaki gümüş iyonlarının miktarının, ÜÇE + GDF gruba göre ortamda daha fazla olduğu bulgulanmıştır. GDF ve ÜÇE + GDF grupta klorür iyonlarına rastlanmıştır. GDF grubundaki ortamda bulunan klorür iyon miktarı Kombine gruba göre daha fazladır.

4. TARTIŞMA

Diş çürükleri, dünya çapında insanlarda görülen en çok rastlanan kronik hastalıklarından biri olup, bireyler hayatları boyunca bu hastalığa karşı risk altındadırlar (Selwitz ve ark., 2007). Diş çürükleri çocukların sosyal ve psikolojik durumlarını önemli ölçüde olumsuz etkiler (BaniHani ve ark., 2018). Ayrıca, kötü ağız ve diş sağlığı, beslenmeyi etkileyerek uzun vadede çocuğun büyümesinin yanı sıra bilişsel gelişimini de olumsuz etkileyebilmektedir. (Acs ve ark., 1992; Acs ve ark., 1999; Sheiham, 2006).

Sağlık alanındaki tüm çalışmalar temel olarak insan vücudunun ve fonksiyonun korunmasına yöneliktir. Geçmişte, hastalığın prevalansı, hastalık sürecine ilişkin anlayışımız, mevcut materyallerin sınırlamaları ve kanıtlanmış alternatif tedavilerin eksikliği nedeniyle, diş hekimliğinde bu fonksiyonun korunabilmesi için çürük dokuların invaziv olarak çıkarılması ve kalan dokunun bir restoratif materyali ile onarılması konsepti yaygındı. Diş dokularının daha iyi anlaşılması ve gelişen teknoloji ile beraber bu yaklaşımın yerini minimal invaziv teknikler almaya başlamıştır (Murdoch-Kinch ve McLean, 2003).

Minimal invaziv diş hekimliği alanında yürütülen çalışmalar özellikle dentin dokusunun onarımı ve fonksiyonun geri kazandırılması üzerine odaklanmaktadır. Bu amaçla çeşitli remineralizasyon ajanları geliştirilmiştir (Desai ve ark., 2021; Hu ve ark., 2018; Nishino ve ark., 1969). Remineralize edici ajanlar içerisinde florür türevi ajanların dentin dokusunun korunması ve onarımında etkinliklerinin yüksek olduğu bilinmektedir (Chandna ve ark., 2016). Özellikle gümüş diamin florür bu ajanlar içerisinde dentin üzerindeki kolajen köprülerini fiks etmesi, antikaryojenik özelliği ve MMP inhibitör etkisiyle ön plana çıkmaktadır (Crystal ve ark., 2019).

Florür içerikli ajanların yarattığı tartışmalar ve daha doğal alternatiflerin arayışı nedeniyle, bitkisel kaynaklı remineralizasyon ajanları gündeme gelmiştir (Garg ve ark., 2013; Oznurhan ve Keskus, 2019; Pande ve ark., 2020).

Bitkisel kaynaklı remineralizasyon ajanlarından biri olan üzüm çekirdeği, içerisinde bulunan proantosiyanidin ile dentin üzerinde onarıcı etkinliği kanıtlanmış bir polifenoldür (Benjamin ve ark., 2012). Proantosiyanidin kolajen çapraz bağları güçlendirici etkisi nedeniyle, demineralize dentinin mekanik özelliklerini geliştirir, hibrit tabakayı güçlendirir ve enzimatik yıkımlara karşı direnç kazandırır, aynı zamanda uygulanan restoratif materyalin uzun dönem prognozunu olumlu yönde etkiler. (Al-Ammar ve ark., 2009; Gousalyav ve ark., 2021; Seseogullari-Dirihan ve ark., 2016).

Son dönemde yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalara göre, PA demineralize dentin organik dokularında GDF'ye yakın oranda etki göstermektedir (Cai ve ark., 2019; Hussein ve ark., 2021). Araştırmalar, her iki ajanın da demineralize dentinin mekanik özelliklerini sağlam dentine yaklaştırdığı göstermiştir (Benjamin ve ark., 2012; M. Firouzmandi ve ark., 2019; Silva ve ark., 2015; Srivastava ve ark., 2021). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, dentin demineralizasyonunun kompleks sürecini kontrol altına alabilmek için, bu ajanların kombine kullanımıyla sinerjistik etkinliği değerlendirilmiştir (Cai ve ark., 2019; Hussein ve ark., 2021; M. Firouzmandi ve ark., 2019; M. Firouzmandi ve ark., 2020).

PA ve GDF'nin kombine kullanımının dentinin mekanik özelliklerini arttırdığını gösteren araştırmalar olmasına karşın, (Cai ve ark., 2019; Hussein ve ark., 2021) kombine kullanımlarının tek kullanımları kadar başarılı olmadığını gösteren araştırmalarda vardır (M. Firouzmandi ve ark., 2019; M. Firouzmandi ve ark., 2020).

Proantosiyanidin (PA), kolajenin gücünü artırır ve litik enzimlerin yapısal proteinler üzerindeki bozunma etkisini baskılar (Al-Ammar ve ark., 2009; Jawale ve ark., 2017). GDF içerisindeki gümüş iyonları, dentin alt katmanlarına daha fazla nüfuz ederek demineralize dentine tamamen infiltre olabilir. Aynı zamanda, MMP'lerin aktivitesi ile kolajen liflerinin enzimatik bozulmasını da engellemektedir. GDF içerisindeki florür remineralize edici etkisi dışında kolajen ve inorganik dokular üzerinde oluşabilecek yeni asit ataklarına karşı bir koruyucu bariyer oluşturur (M. L. Mei ve ark., 2012; Rosenblatt ve ark., 2009). PA ve GDF'nin temel etki mekanizmaları göz önüne alınarak dentin üzerinde kombine olarak kullanımının

sinerjistik etkiyle daha başarılı bir remineralizasyona neden olacağı düşünülmektedir (M. Firouzmandi ve ark., 2020).

GDF ve ÜÇE'nin çürük dentin lezyonu üzerinde remineralize edici etkileri daha önce araştırılmış olmasına rağmen (Firouzmandi ve ark., 2019; M. Firouzmandi ve ark., 2020), bu iki çürük durdurucu ajanın ve kombine kullanımlarının süt dişi dentininde remineralizasyona etkisinin karşılaştırıldığı ulaşabildiğimiz tek bir çalışma bulunmaktadır (Hussein ve ark., 2021). Ayrıca literatürde kombine kullanımlarının restoratif materyallerin bağlantı dayanımına etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Bundan dolayı gümüş diamin florür ve üzüm çekirdeği ekstresinin tek veya kombine kullanımlarının süt dişi dentin lezyonunda remineralize edici etkisinin ve uygulama sonrası restorasyonun bağlanma kuvvetine etkisinin değerlendirilmesi planlanmıştır.

Diş hekimliğinde, deneysel testler klinik olarak hastalar üzerinde (in-vivo) veya laboratuvar koşullarında (in-vitro) yapılabilmektedir. Ağız boşluğuna yerleştirilecek malzemelerin güvenliğinin belirlenmesi, klinik kullanımdan önce olası zararlı etkilerin tespit edilebilmesi için çalışmaların ilk önce in vitro koşullarda yapılması gereklidir. İnsan deneklerde gerçekleştirilen in-vivo deneyler, verilerin yorumlanmasını zorlaştırabilecek birçok değişkene sahiptir. Buna karşın, in vitro deneyler tüm koşulların kontrol edilip ve standardize edilebildiğinden daha güvenli sonuçlar vermektedir. Aynı zamanda, in vitro testler çoğu in vivo teste göre daha kısa zaman aralığında efektif olarak deneylerin gerçekleştirilmesine olanak sağlar (Johansson ve ark., 2001). Bu nedenlerle araştırmamız in vitro koşullarda yapılmıştır.

Dentin üzerine yapılan in-vitro çalışmalarda genellikle insan veya memeli grubu hayvan dişleri kullanılmaktadır. Hayvan dişleri ve insan dişleri arasındaki yapısal farklılıklar yüzünden, dentin üzerinde yapılan demineralizasyon ve remineralizasyon uygulamaları aynı şekilde sonuç vermemektedir (Tanaka ve ark., 2008). Aynı zamanda, restoratif materyaller insan dişlerinin organik içeriği ve mekanik özellikleri göz önünde bulundurularak geliştirilmiştir (Ronald Sakaguchi ve ark., 2019). Bu sebeplerden dolayı çalışmamız çekilmiş insan dişleri üzerinde yürütülmüştür.

GDF ve PA'in dentin remineralizasyonunda etkisini inceleyen çalışmaların çoğu daimî 3. molar dişler üzerinde yürütülmüştür (Gousalyav ve ark., 2021; P. Gousalyav ve ark., 2021; M. L. MeiL. Ito ve ark., 2013; C. F. Tang ve ark., 2013). Süt dişi dentini üzerinde GDF ve PA'nın etkisini kombine ve karşılaştırmalı olarak inceleyen literatürde sadece bir çalışma vardır (Hussein ve ark., 2021). Süt dişi yapısının daimi dişlerden farklı olması ve literatürde süt dişleri üzerinde GDF ve PA'nın karşılaştırmalı olarak remineralize edici etkisini inceleyen yetersiz çalışma olmasından dolayı, çalışmamız çekilmiş süt dişleri üzerinde yürütülmüştür.

Süt ikinci molar ve süt birinci molar dişler arasında inorganik ve organik yapı bileşenleri açısından önemli bir fark yoktur (Chowdhary ve Subba Reddy, 2010; David A Sumikawa ve ark., 1999). Literatürde, süt dişi dentini üzerinde yürütülen in vitro çalışmalar, kullanılabilecek yüzey alanlarının süt birinci molar dişlere göre daha fazla olması nedeniyle genellikle süt ikinci molar dişler üzerinde yürütülmüştür (Aliuddin, 2021; Braga ve ark., 2009). Bu nedenle çalışmamız, süt ikinci molar dişler üzerinde yürütülmüştür.

İnsan veya hayvan dişleri üzerinde yürütülen in vitro çalışmalarda dişlerin saklama koşulları çalışmaların sonuçlarını direkt olarak etkileyebilecek bir faktördür. Organik bir doku olan dişler patojenlerin konaklayarak çoğalabilecekleri bir ortam oluşturur. Bu patojenler özellikle insan dişlerinden kan yoluyla bulaşan hastalıklar olabilir ve çevre için risk potansiyeli taşır (Schulein, 1994). Bu nedenle laboratuvarında herhangi bir test yapılmadan önce bu dişlerin sterilizasyon sağlayacak bir solüsyonda dekontamine edilmesi önemlidir. Literatürde organik dokuların saklanması amaçlı bakterisidal ve bakteriyostatik özelliklere sahip çeşitli ortamlar kullanılmıştır (Mitchem ve Gronas, 1986). İn vitro çalışmalar için saklama ortamı olarak en yaygın olarak kullanılan solüsyonlardan bazıları formalin, timol ve sodyum azid'tir (Aquilino ve Williams, 1987; M. Firouzmandi ve ark., 2020; Miniotis ve ark., 1993; Mitchem ve ark., 1986; R. L. Quock ve ark., 2012; Santana ve ark., 2008). Mikrosertlik ve bağlanma testleri üzerinde yürütülen çalışmalarda, uzun dönem saklama süresi sağladığı için %0.1'lik timol solüsyonu öncelikli olarak tercih edilmektedir (Santana ve ark., 2008). Araştırmamızda, literatürdeki bilgiler doğrultusunda örneklerin saklama ortamı olarak %0.1'lik timol solüsyonu kullanılmıştır.

Dentin ve minenin organik - inorganik kompozisyonu bireyler arasında farklılık gösterir. Aynı bireyde, dişlerin boyut ve şekillerinin farklı olmasından dolayı, dentin tübüllerinin dizilim açıları etkilenir ve minimal farklılıklar oluşur. (Michel Goldberg ve ark., 2011). Özellikle in vitro çalışmalarda standardizasyonu sağlayabilmek için aynı bireylerden elde edilen örneklerin kullanılması sonuçların güvenilirliği açısından önemlidir (Coffey ve ark., 1985). Bu sebeplerden dolayı, çalışmamızda gruplar arası standardizasyonu sağlayabilmek için bir diştten dört kesit alınmış ve 4 çalışma grubu aynı diş üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarda, örnekler arası standardizasyonun elde edilebilmesi için deneylerin yapılacağı örneklerin demineralizasyon oranlarının ve miktarlarının aynı olması gerekir. Doğal çürük lezyonları bu standardizasyonun sağlanması için uygun olmadığından, çalışmalarda yapay çürük lezyonları tercih edilmektedir. Laboratuvar ortamında, dentin demineralizasyonu için farklı yöntemler, farklı sürelerde uygulanabilmektedir. pH siklus modeli, mikrobiyal metot, asit jel yöntemi ve demineralizasyon solüsyonu uygulaması bunlardan birkaçıdır. pH döngüsü, daha kalın bir demineralizasyon tabakası oluşturduğu için rutinde kullanılan kimyasal çürük oluşturma yöntemlerinden daha iyi bir demineralizasyon sağlar ve asitlendirilmiş jelden daha etkilidir (Marquezan ve ark., 2009). Ayrıca asit jel yönteminde, yüzey üzerinde düzensiz bir demineralize alan oluşmaktadır. Mikrobiyal yöntemin morfolojik olarak doğal çürük lezyonuna yakın sonuçlar verdiği, ancak doğal şekilde oluşan çürük lezyonlarına göre daha düşük sertlik değerleri oluşturduğu bildirilmiştir (Joves ve ark., 2013). Son dönemdeki in vitro araştırmalarda, ilk etapta demineralizasyon solüsyonunun uygulandığı ardından pH siklusuna tabi tutulan bir demineralizasyon yöntemi kullanılmaktadır (Firouzmandi ve ark., 2019; M. Firouzmandi ve ark., 2020; Valizadeh ve ark., 2022). Araştırmamızda, homojen bir demineralize alan oluşturabilmek ve dentin çürük lezyonunu taklit edebilmek için ten Cate ve ark. (1982) kullandığı demineralizasyon solüsyonu ve pH siklus modeli tercih edilmiştir.

GDF'nin bakterisidal etkisi, hem mine hem dentin üzerinde remineralizasyon sağlaması ve proteazların inhibisyonu ile kolajen yıkımını önlemesi klinik kullanımı için önemli bir avantajdır. GDF piyasada farklı konsantrasyonlarda farklı marka adlarıyla bulunmaktadır. Ancak yapılan klinik çalışmalar, %38 konsantrasyondaki GDF preparatlarının MPP-2,8 ve 9 üzerinde en etkili inhibisyonu yaptığını göstermiştir (M. L. Mei ve ark., 2012; May L. Mei ve

ark., 2012). Aynı zamanda, %38'lik GDF preparatı diğer konsantrasyonlardaki preparatlara göre dentin yüzeyinin mekanik özelliklerini arttırmada en başarılı bulunmuştur (M. Fung ve ark., 2016; May L Mei ve ark., 2012).

Çalışmamızda sahip olduğu remineralize edici avantajlardan dolayı %38'lik GDF tercih edilmiş olup, dentin mekanik özellikleri üzerindeki etkisini inceleyen araştırmalar, üretici talimatları ve yayınlanan rehberler doğrultusunda (AAPD, 2018; Firouzmandi ve ark., 2019; Hussein ve ark., 2021), 2-3 dakika yüzeye uygulayıp hava su spreyi ile ortamdan uzaklaştırılmıştır.

ÜÇE'nin remineralize edici etkinliğini değerlendiren araştırmalarda, piyasada bulunan üzüm çekirdeği kapsüllerinden elde edilen solüsyonlar kullanılmıştır (Elsafy ve Yassen, 2018; Hussein ve ark., 2021) . PA konsantrasyonu ve tedavi süresi ile ilgili olarak, son yıllarda laboratuvar koşullarında çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Balalaie ve ark., 2019; Boteon ve ark., 2017). Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada, %0.65 ve %6.5 konsantrasyonda üzüm çekirdeği ekstresi farklı uygulama süreleri ile (10, 30 dk. ve 1, 2, 4 saat) karşılaştırılmış ve PA konsantrasyonu ile uygulama süresi arttıkça, demineralize dentinin sertlik değerlerinin de arttığı gösterilmiştir (Bedran-Russo ve ark., 2008). Çalışmamızda da diğer benzer araştırmalarda da olduğu gibi ÜÇE %6.5 konsantrasyonda hazırlanmış ve 2-3 dakika kadar uygulanıp 3 dakika beklendikten sonra hava su spreyi ile uzaklaştırılmıştır.

GDF ve ÜÇE'nin kombine uygulamasında literatürde yapılmış benzer çalışmalardaki uygulama protokolüyle aynı şekilde (Cai Jing ve ark., 2019; Firouzmandi ve ark., 2019; M. Firouzmandi ve ark., 2020; Hussein ve ark., 2021), ilk önce 2-3 dakika kadar ÜÇE uygulanıp 3 dakika beklenmiş ardından 2-3 dakika GDF uygulanıp 4 dakika kadar beklendikten sonra solüsyon ortamdan hava su spreyi ile uzaklaştırılmıştır.

Dentin, moleküler olarak hiyerarşik bir organizasyona sahip olan kompleks bir yapıdır. Bu komplekslikten dolayı, mekanik performansını etkileyen mekanizmaları anlamak güçtür.

Mikro ve nano düzeydeki heterojen yapısı nedeniyle geleneksel makro testler, yapısal bileşenleri açısından dentinin mekanik özelliklerini incelemek için uygun değildir. Bu yüzden dentin yüzey analizlerinde, genellikle nano-indentasyon ve mikrosertlik test yöntemleri tercih edilmektedir (Shahmoradi ve ark., 2014b). Diş sert dokularındaki mineral değişikliklerinin indirekt olarak ölçülmesinde mikrosertlik analizleri hata payları düşük olduğundan güvenilir yöntemlerdir. Aynı zamanda mikrosertlik ölçümleri nemli ortamda yapabilirken, nano-indentasyon ölçümleri için dijital sensör gerektiğinden hatalı sonuçlar verebilir (Farhat ve ark., 2019). Dentinin inorganik ve organik yapıları arasındaki ilişki, intrafibriller remineralizasyonla birlikte direkt olarak dentinin mekanik özelliklerini etkilemektedir. Mekanik özelliklerin geri kazandırılması dentin çürüklerinin onarımını veya durulmasına olanak sağlar. Remineralizasyon sonrası dentinin yüzey katmanında oluşan mineral birikimi sertlik testleri ile ölçülebilir (M. Firouzmandi ve ark., 2020). Dentin yüzeyinde mineral kazanımı Vickers ve Knoop adı verilen iki tür mikrosertlik testi ile gerçekleştirilmektedir (Kinney ve ark., 2003). Knoop testi ince yüzeyler üzerinde başarılı ölçümler sağlarken, daha kalın yüzeylerde Vickers testi daha güvenilir sonuçlar vermektedir (Wang ve Weiner, 1998). Dentin üzerine yapılan GDF ve ÜÇE'nin remineralizasyon oranlarını karşılaştırmalı olarak inceleyen çalışmalarda, Vickers mikrosertlik yöntemi kullanılmıştır (M. Firouzmandi ve ark., 2020; M. L. Mei ve ark., 2018; Santiago ve ark., 2005; Siripamitdul ve ark., 2022). Çalışmamızda, dentin numunelerinin hacminin yeterli olması ve benzer çalışmalar göz önüne alınınca Vickers sertlik ölçümünün kullanımı uygun görülmüştür.

GDF'nin kullanım alanlarından biri de non-restoratif çürük kontrolüdür. Bu konseptte çürük GDF uygulanarak geleneksel tedavi yapılmadan bırakılır (Strijp ve ark., 2018). Ancak, estetik ve fonksiyon kazandırılması istenilen durumlarda GDF uygulamasından sonra kavitenin bir restoratif bir materyal ile örtülmesi önerilmektedir. Ayrıca, travmatik restoratif tedavinin bir modifiye şekli olan SMART tedavisinde de tercih edilen materyal yüksek viskoziteli cam iyonomer simanlardır (Lopez ve ark., 2005; Modasia ve ark., 2021).

Restoratif materyalin başarısı uzun dönemde materyalin diş dokusuyla olan retansiyonu ile doğrudan ilişkilidir. Restoratif materyal ile diş dokusu arasındaki bağlantının zayıf olması materyalin stresler altında dokudan ayrılmasına ve mikrosızıntı sonucu sekonder çürük

gelişimine sebep olmaktadır (D. I. Wu ve ark., 2016). Uzun dönem klinik takiplerin, zaman alması ve standardize olarak yapılması güç olduğundan, çekme (tensile) bağlantı dayanım testleri dental materyallerin değerlendirilmesinde çoğunlukla tercih edilmektedir (Özyeşil ve ark., 2009). Remineralize edici ajanların bağlantı üzerine etkinliğini karşılaştırmalı olarak inceleyen çalışmalarda, çekme (tensile) bağlantı testleri tercih edilmiştir (Autieri ve ark., 2018; Maryam Firouzmandi ve ark., 2020; R. Quock ve ark., 2012; D. I. Wu ve ark., 2016).

Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda restoratif materyal olarak YVCİS olan Equia HT Forte ve restorasyonun remineralize edilmiş dentin dokusuna olan bağlantısını değerlendirmek için çekme (tensile) bağlantı testi kullanılmıştır.

Dentin mikroyapısını ve morfolojisini incelemek için kullanılan teknikler arasında, taramalı elektron mikroskobu (SEM), materyallerin $\times 300.000$ veya daha fazla büyütmelerde görüntülenmesine olanak sağlar (Kuntze ve ark., 2020). SEM, çok yönlü bir gözlem yöntemidir. Dentin gibi katı materyalin mikro yapısının analizi ve çeşitli materyallerin dental dokular ile olan arayüzlerinin görselleştirilmesi için kullanılabilir (Lopes ve ark., 2018; Tedesco ve ark., 2018; Wagner ve ark., 2017). SEM’de elde edilen görüntülerde, istenilen yüzeyler kolayca yorumlanabilir (Tedesco ve ark., 2018). SEM incelemelerinde, sıklıkla beraber kullanılan EDX analizi, bir numunenin elementel bileşimi hakkında nicel sonuçlar sağlar. SEM ve EDX analizlerinin kombinasyonu numuneler hakkında kimyasal bileşimlerini vererek, kapsamlı bir metalürjik değerlendirme sağlar. Dentin mikroyapısını değerlendirmek için SEM ve EDX analizini kullanan birkaç çalışma; bu yöntemlerin dentin yapısını analiz etmek için tutarlı birer yöntem olduğunu göstermiştir (Lopes ve ark., 2018; Wagner ve ark., 2017). Aynı zamanda, birçok çalışmada gümüş diamin ve üzüm çekirdeğinin dentin üzerine etkisinin incelenmesinde SEM ve EDX analizleri kullanılmıştır (Elsafy ve ark., 2018; Glenda ve ark., 2017; Kiesow ve ark., 2022; C. F. Tang ve ark., 2013). Bu sebeplerden dolayı remineralize edici ajanların dentin mikroyapısı üzerindeki etkisini daha iyi anlamak adına çalışmamızda SEM ve EDX analizleri kullanılmıştır.

Sağlıklı mineralize dentinin Vickers sertlik değerleri dişin bölgesine, hangi diş olduğuna ve daimi ya da süt dişi olmasına bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte ortalama olarak 60 VH bildirilmiştir (Hosoya ve Marshall, 2005). Demineralize süt dişi dentinin sertliği, demineralizasyon protokollüne göre değişiklik göstermekte olup, ortalama 40 VHN olarak bildirilmiştir (Dalpian ve ark., 2012). Çalışmamızda, ortalama sertlik değerleri sağlam dentinde 66.96 VHN ve demineralize dentinde 44.43 VHN olarak bulunmuştur. Araştırmamızda elde edilen bu değerler, diğer araştırmalar ile uyumludur. Demineralizasyon sonrası mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p<0,001$). Demineralize olmuş dentin dokusu daha az mineral miktarına, artmış poroziteye, kolajen ve non-kollajonöz proteinlerin yapısında farklı dizilişlere sahiptir (Tjäderhane ve ark., 2015). Bu değişimler dentinin sertlik, bağlantı gücü ve elastik modülü gibi mekanik özelliklerini etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda bağlantı ve sertlik testlerinde düşük değerler elde edilme sebebinin, intertübüller dentinde meydana gelen mineral kaybına bağlı olduğu belirtmiştir (Knight ve ark., 2007; Marshall ve ark., 2001; Shi ve ark., 2019).

GDF uygulaması sonrası dentin mikrosertliği (61.35 VHN) diğer remineralizasyon gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Elde edilen değer, sağlam dentin sertliğine (66.96 VHN) sayısal olarak yakın gözükmesine rağmen, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). GDF'nin demineralize dentinin mikrosertliğini arttırması, benzer şekilde yapılan çalışmalar ile uyumludur (Cai Jing ve ark., 2019; Firouzmandi ve ark., 2019; M. Firouzmandi ve ark., 2020; Hussein ve ark., 2021). GDF dentin yüzeyine uygulandıktan sonra içerdiği gümüş iyonları, dentin yüzeyini kaplamakta ve dentin tübülerine penetre olmaktadır (Willershausen ve ark., 2015). Demineralize dentin içerisindeki geride kalmış olan hidroksiapatit kristalleri ile reaksiyona girerek kalsiyum florür ve gümüş fosfat oluşmaktadır. Bu reaksiyon sonucunda oluşan kalsiyum florür, bir florür rezervuarı olarak etki gösterir. Kalsiyum florür, ortama florür iyonu salarak pH seviyesini düzenler ve bu sayede florapatit gibi çözünürlüğü düşük olan bileşiklerin oluşumuna izin verir (Mei ve ark., 2013). SEM ile GDF uygulanmış dentin yüzeyi ve tübülleri görüntülendiğinde, yapısını kalsiyum florürün oluşturduğu ve içerisine gümüş fosfat iyonlarının çökeldiği globüler bir yapının olduğu bilinmektedir (Chu ve ark., 2012; Lou ve ark., 2011). GDF uygulanmış gruptan aldığımız SEM görüntülerinde, diğer çalışmalarla da uyumlu olarak, dentin yüzeyini ve tübüllerini örten globüler bir yapının olduğu izlenmiştir. Remineralizasyon sırasında, florapatit ve kalsiyum

florür oluşurken, ortamdaki kalsiyum iyonlarının azaldığı yapılan EDX analizlerinde gösterilmiştir (Manuschai ve ark., 2021; Mei ve ark., 2017) . Çalışmamızda diğer remineralizasyon ajanlarının uygulandığı gruplara göre kalsiyum miktarı, literatürle uyumlu olarak, en düşük GDF grubunda saptanmıştır.

Demineralizasyon sonrasında, açıkta kalan kolajen lifleri, MMP gibi proteaz enzimlerine karşı duyarlı haldedir. Florür iyonları, MMP-2, MMP-8 ve MMP-9 üzerindeki güçlü inhibitör etki göstererek, MMP'lerin aktivasyonu için gerekli olan kalsiyum ve çinko iyonlarına bağlanır, ardından birkaç dakika içinde MMP'leri etkisiz hale getirir. Bu sayede, dentin mikrosertliğini artıracak olan interfibriller mineralizasyon için dentin kolajenleri stabil hala gelmiş olur (May L Mei ve ark., 2018). Ag_3PO_4 , GDF'nin hidroksiapatit ile girdiği reaksiyondan açığa çıkan ürünlerden biridir. Oluşan gümüş fosfat iyonları, globüler katman içerisinde florapatit oluşumunda yer alır. Yapılan EDX analizlerinde, gümüş iyonlarının ortamda yüksek oranda bulunduğu gösterilmiştir (Lou ve ark., 2011; Manuschai ve ark., 2021; Mei ve ark., 2017). Bu verilerle uyumlu olarak, çalışmamamıza ait EDX analizinde gümüş iyonları ortamda yüksek oranda bulunmaktadır. Kalsiyum, florür ve fosfat iyonlarının, çürük lezyonlarında derin doku remineralizasyonuna katkıda bulunduğu bilinmektedir (Punyanirun ve ark., 2018). Fosfat iyonları, alkali koşullar altında stabilize olmuş kolajen molekülleri ile kovalent çapraz bağlar oluşturur. Daha sonra kalsiyum iyonları bu kovalent bağların çevresinde çökerek interfibriller mineralizasyonu başlatan kristalitlerin oluşmasına izin verir. Bu mekanizma sayesinde GDF, dentinin mekanik özelliklerini geri kazandırmaktadır (M. L. Mei ve ark., 2014).

Ag_3PO_4 , demineralizasyon veya yapay tükürük solüsyonlarında bulunan alkanen haldeki klorür ile reaksiyona girerek $AgCl$ 'ü oluşturmaktadır. Oluşan gümüş içerikli bu bileşik, düşük çözünürlüğü sayesinde uzun dönemde GDF'nin antimikrobiyal etkinliğine katkıda bulunmaktadır. Aynı zamanda ortamda bulunan $AgCl$ miktarının artması, dentin yüzey sertliğinin artmasıyla da ilişkilendirilmiştir (Mei ve ark., 2017). Çalışmamızda, GDF grubuna ait EDX analizi sonucunda ortamda klorür iyonun bulunduğu gözlemlenmiştir.

ÜÇE uygulanan grupta dentin mikrosertlik değeri, GDF grubundan düşük ($p<0,001$), kombine ve demineralize grubundan yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). GDF ve ÜÇE'nin demineralize dentin üzerinde etkisini kıyaslayan araştırmalarda, ÜÇE dentin mekanik özelliklerini arttırsa da, GDF'nin ÜÇE'ye göre daha fazla oranda geri kazanım sağladığı gösterilmiştir (Cai Jing ve ark., 2019; Firouzmendi ve ark., 2019; M. Firouzmendi ve ark., 2020; Hussein ve ark., 2021). Çalışmamızda ÜÇE ve GDF grubuna ait sonuçlar, bu araştırmalar ile uyumludur. ÜÇE'nin demineralize dentinin mekanik özellikleri iyileştirdiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Bedran-Russo ve ark., 2008; Elsayf ve ark., 2018; Silva ve ark., 2015; C. F. Tang ve ark., 2013). ÜÇE içerisinde bulunan PA, spesifik olmayan bir MMP inhibitörü ve bir kolajen çapraz bağlayıcıdır. Çapraz bağ kuran ajanlar, kolajen moleküllerini sertleştirmekte ve böylece mekanik kuvvetler altında kolajen moleküllerinin direncini arttırmaktadır (Isenburg ve ark., 2004). PA, içerdiği fonksiyonel gruplar sayesinde metalik iyonları bağlayarak, kalsiyum ve fosfat gibi iyonlar ile dentin yüzeyinde globüler bir yapı veya kristal benzeri bir kümelenme oluşturur (Mirkarimi ve ark., 2013; C.-f. Tang ve ark., 2013). Bu yapı, asit ataklarında kalsiyum ve fosfat iyonlarının çözünürlüğünü azaltmaktadır (Tsao, 2010). ÜÇE grubunda yaptığımız SEM incelemesinde, dentin yüzeyinde bahsedilen bu kristal benzeri kümelenmelerin olduğu görülmüştür.

PA, remineralizasyon solüsyonundan kalsiyum iyonlarına bağlanabilir ve çürük dentinin kalsifikasyonunu teşvik edebilir. PA-kollajen etkileşimi sayesinde, ÜÇE, organik dentin matriksi ile etkileşime girer ve açığa çıkmış olan kolajen matriksi kovalent çapraz bağlar oluşturarak stabil hale getirir. Stabil hale gelen kolajen üzerinde PA, ortamda bulunan kalsiyum iyonlarının bu kovalent bağlar üzerine çökmesini sağlar. Ayrıca, oluşturduğu çapraz bağlar sayesinde proteinazların bağlandığı enzimatik yolları değiştirerek fonksiyonlarını etkisiz kılar (Bedran-Russo ve ark., 2008). Çapraz bağların PA tarafından nasıl oluşturulduğu tam olarak anlaşılmasa da, oluşan bu çapraz bağlar üzerinde gerçekleşen mineralizasyon mekanizması ile dentinin mekanik özelliklerinde iyileşme gerçekleştiği bilinmektedir (Balalaie ve ark., 2018). Çalışmamızda yapılan EDX analizinde, ÜÇE uygulanan gruba ait kalsiyum oranların fazla olması PA'nın kalsiyuma olan afinitesini destekler niteliktedir.

GDF'nin içerdği florür sayesinde, gümüş iyonlarının oluşturduğu bileşiklere ihtiyaç duyulmadan, dentin içerisinde yüksek oranda mineralizasyon sağlayabilmektedir. PA, oluşturduğu çapraz bağlar üzerinden mineralizasyonu sağlamak için ortamda bulunan iyonlara ihtiyaç duyarken, GDF hidroksiapatit ile reaksiyona girebilme kabiliyeti sayesinde üstün bir mineralizasyon mekanizmasına sahiptir (Hussein ve ark., 2021).

Çalışmamızın bulgularına göre, literatürdeki diğer araştırmalarında gösterdiği şekilde GDF ve ÜÇE tek olarak kullanımlarında demineralize olmuş dentinin mikrosertlik değeri artmıştır. Ancak GDF ve ÜÇE'nin kombine kullanıldığı durumda, dentin mikrosertliği arttırmasına rağmen, tek kullanımlarında olduğu kadar etkili bulunmamıştır. Bulgularımız yapılan çalışmalar ile benzer niteliktedir (Firouzmandi ve ark., 2019; M. Firouzmandi ve ark., 2020). Ancak bazı araştırmacılar, GDF ve ÜÇE'nin kombine kullanımında yüzey mikrosertliğini tek kullanımlarına göre daha çok arttırdığını bulmuştur (Cai Jing ve ark., 2019; Hussein ve ark., 2021)

GDF ve ÜÇE'nin kombine kullanımının tek olarak kullanılan gruplara göre düşük mikrosertlik değerleri vermesinin nedeninin ÜÇE'nin GDF içerisinde bulunan florür ile etkileşime girmesinden olduğu düşünülmüştür (Pavan ve ark., 2011). ÜÇE numune yüzeyinde, GDF uygulanması sonrası ortamda bulunan florür iyonlarını bağlar ve GDF'nin florür üzerinden hidroksiapatit ile etkileşimini önler. Bir diğer açıklama ise, ÜÇE'nin kollajen üzerinde kurduğu çapraz bağların lezyonun daha derin katmanlarına iyon geçişine izin vermemesinden olduğu düşünülmektedir (Pavan ve ark., 2011). Çapraz bağlara sahip kolajen, intrafibriler mineral oluşumunu inhibe ederek, mineral bağlanması için sınırlı bölgelere sahip olabilir veya hiç olamayabilir (Firouzmandi ve ark., 2019). Mei ve ark. (2013), GDF'nin açığa çıkan kolajen ile etkileşime girebileceği hipotezini öne sürmüşlerdir. ÜÇE'nin kolajen ile etkileşimi sonucu ÜÇE kolajen üzerindeki afinitesini kaybederek yeterli seviyede çapraz bağ kuramayacaktır (Firouzmandi ve ark., 2019). Ancak, GDF preparatına potasyum iyodür (KI) eklendiği zaman, GDF ve ÜÇE sinerjistik olarak demineralize dentinin mikrosertliğini arttırmaktadır (Cai Jing ve ark., 2019; Hussein ve ark., 2021). Potasyum iyodür GDF uygulaması sonrası ortamdaki fazla gümüş iyonlarını bağlamaktadır (Nguyen ve ark., 2017). Gümüş bitkisel kaynaklı polifenol bileşiklerinin yapısına katılabilme potansiyeline sahiptir. Polifenol bileşikleri gümüş

iyonlarına karşı yüksek afiniteye sahiptir. Literatürde, üzüm çekirdeği ekstresinin gümüş iyonlarıyla yeşil sentez denilen bir reaksiyon ile etkileşime girebildiği gösterilmiştir (Omid ve ark., 2018). Bazı araştırmalarda kombine kullanımın daha etkili bulunmasının nedeni, bu çalışmalarda potasyum iyodür eklenmiş GDF kullanılmasıdır. Çalışmamıza ait EDX analizinde ortamda bulunan gümüş iyonlarının azaldığı ve kalsiyum iyonlarının arttığı gözlemlenmesi, ÜÇE'nin gümüşü bağlanmasından dolayı, kalsiyum florür ve gümüş fosfat oluşmasını engellediğini destekler niteliktedir.

Literatürde demineralize süt dentini üzerinde yapılan çekme bağlantı testlerinde, cam iyonomer simanların bağlanma kuvveti 8.33 MPa (Palma-Dibb ve ark., 2003), GDF uygulandıktan sonra 22.3 MPa (Jiang ve ark., 2020b), ÜÇE uygulandıktan sonra ise bu değer 20.08 MPa olarak verilmiştir. Çalışmamızda bağlantı dayanımı değerleri demineralize grupta 8.61 MPa, GDF grubunda 23.06, ÜÇE grubunda 20.62 MPa ve GDF + ÜÇE grubunda 17.36 MPa olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz değerler literatürdeki sonuçlar ile benzerdir.

GDF grubuna ait çekme (tensile) test değerleri diğer bütün gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Dentin yüzeyinin mikromekanik özelliklerinin iyileştirilmesiyle doğru orantılı olarak restorasyonların yüzeye daha iyi bağlandığı daha önce gösterilmiştir (Koç-Vural ve ark., 2018). Demineralize dentine GDF uygulandığında, dentin kolajen yapısının stabil hale gelmesi ve gümüş iyonlarının globüler bir katman oluşturması ile restorasyonların bağlantısı için stabil bir yüzey oluşmaktadır (Jiang ve ark., 2020a). Özellikle cam iyonomer simanlar diş organik dokularına mikromekanik ve kimyasal olmak üzere iki mekanizma ile bağlanmaktadır (Sidhu ve Nicholson, 2016). GDF'nin kalsiyum florür ve gümüş ile beraber oluşturduğu globüler yapının cam iyonomer simanların mikromekanik bağlantısını arttırdığı düşünülmektedir (François ve ark., 2020). Kimyasal bağlanma mekanizmasında cam iyonomer simanlar karboksil grupları ile dentinde bulunan kalsiyum iyonlarına bağlanmaktadır. GDF dentine üzerinde bulunan kalsiyum iyonlarını, içerisindeki florür ile bağlayarak kalsiyum florürü oluşturmaktadır. Cam iyonomer simanlar dentin yüzeyinde oluşan bu kalsiyum florüre bağlanabilmektedir. Bundan dolayı cam iyonomer simanların şelasyon mekanizması GDF uygulaması sonrası etkilenmemektedir (François ve ark., 2020; Jiang ve ark., 2020a). Ancak, GDF uygulamasından kısa süre sonra restoratif

materyallerin yerleştirilmesinde dentine penetre olmamış gümüş iyonları, cam iyonomer üzerindeki karboksil uçlara bağlanır ve bunun sonucunda bağlantı kuvveti azalmaktadır. GDF uygulaması sonrası restoratif materyalin ne zaman uygulanması gerektiği, klinik başarı için göz ardı edilmemesi gerek önemli bir faktördür (Ng ve ark., 2020). Cam iyonomer içerikli restoratif materyallerin, GDF uygulamasından 1 hafta kadar bir süre geçtikten sonra yerleştirilmesinin ideal olduğu belirtilmiştir (Ng ve ark., 2020; Young ve ark., 2021).

Yapılan bazı çalışmalar GDF uygulamasının, rezin içerikli restoratif materyeller üzerinde bağlantı dayanımını olumsuz etkilediğini gösterirken (Jiang ve ark., 2020a; Koizumi ve ark., 2016), bazı araştırmalar ise bağlantı dayanımını arttırdığını bildirmektedir (Alshahrani, 2020; Koizumi ve ark., 2016). GDF dentin tübüllerini tıkayarak rezin içerikli ajanların bu tübüller içerisine penetre olmasını önlemekte ve aynı zamanda diş – restorasyon arayüzüne yeni bir katman ekleyerek rezin içerikli ajanların bağlantısını azalmaktadır (R. L. Quock ve ark., 2012). Ancak rezinle modifiye cam iyonomer simanlar, cam iyonomerin sahip olduğu bağlanma mekanizmasının etkisiyle, içeriğindeki rezinden bağımsız olarak, GDF uygulaması sonrası dentine başarılı olarak bağlanabilmektedir (Aldosari ve Al-Sehaibany, 2022). Çalışmamızda, GDF uygulaması sonrası YVCİS simanın bağlantı dayanımının artması bu konuda yapılan benzer araştırmalar ile uyumludur.

ÜÇE grubuna ait çekme (tensile) değerleri, GDF uygulanan grup haricinde diğer bütün gruplardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Üzüm çekirdeğinde bulunan PA gibi çapraz bağlayıcı ajanların dentin üzerinde bağlantı dayanımı arttırdığı bilinmektedir (Macedo ve ark., 2009). PA demineralize dentin üzerinde kurduğu çapraz köprüler ile kolajenlerin stabilizasyonunu sağlamaktadır. Restoratif materyallerin dentine üzerindeki bağlantısında bu kolajen bağının stabil olması çok önemlidir. Yeterli stabilite sağlanamadığı durumlarda kolajen seviyesinde köprülerin ayrılması sonucu, bağlantıda başarısızlıklar meydana gelebilmektedir (P. D. Gousalyav ve ark., 2021). PA rezin ve cam iyonomer içerikli restorasyonlarda, dentine olan bağlanma dayanımını arttırmaktadır (Atabek ve ark., 2019; P. D. Gousalyav ve ark., 2021). PA hem sağlam dentinde hemde demineralize dentinde hibrit tabakanın en alt katmanlarını destekleyerek bu seviyeye kadar rezin infiltrasyonuna izin verir (Macedo ve ark., 2009). Literatürde yapılan çalışmalarda, ÜÇE'nin %6.5 hazırlanan preparatının dentin yüzeyinin

mekanik özellikleri iyileştirerek bağlantı dayanımını arttırdığı gösterilmiştir (Epasinghe ve ark., 2015; Gajjela ve ark., 2017; Macedo ve ark., 2009). Çalışmamızda ÜÇE uygulanmış dentin yüzeylerinde, literatürdeki bulgular ile uyumlu bir şekilde YVCİS'in dentine olan bağlantısını artmıştır.

ÜÇE+GDF uygulanmış örneklerde, YVCİS'in dentine bağlanma kuvveti demineralize gruba göre artmış olsa da, bu artış tek kullanımlarına göre düşük bulunmuştur ($p<0,001$). Literatürde, ÜÇE ve GDF'nin kombine kullanımında restorasyonların bağlantı dayanımı üzerine olan etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, ÜÇE ve GDF'nin moleküler boyutta reaksiyona girdiği ve dentinin mikromekanik özelliklerini tek kullanımları kadar arttırmadığı gösterilmiştir (M. Firouzmandi ve ark., 2020). Üzüm çekirdeği ekstresi ve gümüş iyonlarının etkileşimiyle gümüş nano partükülleri (AgNP) oluşmaktadır (Ping ve ark., 2018) ve bu oluşan gümüş nano partüküllerinin rezin içerikli adeziv bağlantıların başarısını azalttığı gösterilmiştir (Torres-Méndez ve ark., 2017). Ancak, cam iyonomer simanların bağlantısı üzerinde herhangi bir olumsuz etki raporlanmamıştır (Abed ve ark., 2022). GDF+ÜÇE'nin beraber kullanıldığı durumlarda bağlantının tek kullanımlarının göre düşük bulunmasının nedeni oluşan AgNP'lerin bağlantıyı olumsuz etkilemesi veya dentinin mikromekanik özelliklerinin daha az oranda geri kazanımıyla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Kombine kullanımın bağlantı üzerine olan etkisini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kendi çalışmamızın sınırları içerisinde, gümüş diamin florür ve üzüm çekirdeği ekstresi dentin mikrosertliğini ve bağlanma kuvvetini arttırmıştır. ÜÇE ve GDF'nin kombine kullanımı dentin mikrosertliğini ve bağlanma kuvvetini arttırsa da, bu artış tek kullanımlarına göre düşük oranda kalmıştır. GDF ve ÜÇE kombine kullanımı avantaj sağlayan sinerjistik bir etki yaratamamıştır. Ancak bu konudaki çalışmalar sınırlı sayıda olduğundan daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde çalışmamızda;

H₀ : Demineralize süt dişi dentine GDF + ÜÇE kombine uygulamasının dentinin mikro sertliği ve restorasyon materyalinin dentine bağlanma kuvvetini GDF ve ÜÇE tek uygulanmasına göre fark olmayacağı, hipotezi reddedilmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gümüş diamin florür ve üzüm çekirdeği ekstresinin kombine kullanımlarının süt dişi dentin çürük lezyonlarındaki remineralize edici ve restorasyonun bağlanma kuvvetine etkisinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanan in vitro çalışmamızda şu sonuçlara ulaşılmıştır:

- Demineralize dentine, remineralizasyon amacıyla GDF, ÜÇE ve GDF+ÜÇE kombinasyon uygulamalarını takiben dentin mikrosertliğinde en fazla artış GDF uygulanan grupta saptanmıştır ($p<0,001$).
- ÜÇE uygulaması sonrası dentin mikrosertliğinde anlamlı bir artış elde edilmiş ($p<0,001$) ancak GDF kadar başarılı bulunmamıştır ($p<0,001$).
- GDF+ÜÇE kombine uygulaması demineralize dentinin mikrosertliğini anlamlı oranda arttırmış ($p<0,001$), ancak tek uygulanması kadar başarılı bulunmamıştır ($p<0,001$).
- SEM incelemelerinde demineralize grupta dentin tübüllerinin açık olduğu, GDF grubunda dentin tübüllerinin granüler bir yapı ile örtülerek tıkandığı, ÜÇE grubunda kristal benzeri bir yapıyla dentin ve yüzeyin tamamen kaplandığı ve GDF+ÜÇE grubunda dentin yüzeyinin bir tabakayla örtüldüğü ve yer yer çatlaklar oluştuğu gözlemlenmiştir.
- EDX analizinde Ca ve P değerleri ÜÇE ve GDF+ÜÇE grubunda artmış, GDF kullanılan grupta ise diğerlerine göre azalmıştır. GDF ve GDF+ÜÇE gruplarında ortamda Ag iyonlarının bulunduğu saptanmıştır.

- Restorasyonun dentine bağlanma kuvvetinin GDF, ÜÇE ve kombine uygulamalarından sonra yapılan değerlendirilmesinde, tüm ajanlar bağlanma kuvvetini arttırmış ($p<0,001$), en fazla artış GDF grubunda, en az artış ise kombine grupta elde edilmiştir ($p<0,001$).

Bu bulgulara göre, GDF ve ÜÇE'nin kombine uygulaması demineralize dentinin mikrosertlik ve bağlanma kuvvetini arttırsa da, tek kullanımları kadar başarılı olmadığı bulunmuştur. GDF'nin remineralize edici etkisinin üstünlüğüne rağmen, dişlerde renklenme yapması dezavantajı düşünüldüğünde, ÜÇE'nin de remineralizasyon amacıyla kullanılmak üzere bir seçenek oluşturabileceği düşüncesindeyiz. GDF ve ÜÇE'nin dentin biyomodifikasyonunda sinerjistik etkinliğini sağlamak ve in vivo çalışmalar için temel hazırlamak için, aralarındaki etkileşimi daha detaylı yöntem ve protokeller ile inceleyen çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanımının Süt Dişi Dentin Çürük Lezyonlarında Remineralizasyon ve Restorasyonun Bağlanma Kuvvetine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Diş hastalıklarının nedeni ve oluşumu anlaşıldıktan sonra, diş hekimliğindeki gelişmelerle birlikte, tedavi yöntemleri değişmiş ve minimal girişimsel diş hekimliği felsefesi tüm dünyada önem kazanmıştır. Minimal girişimsel diş hekimliğinin amacı dişlerin hayat boyunca sağlıklı ve fonksiyonel olarak ağızda tutulmasıdır. Bu gelişmelerin sonucunda invaziv yöntemlerden uzaklaşarak çürüğün erken teşhisi, demineralize mine ve dentinin remineralizasyonu, çürüğün önlenmesi gibi stratejileri içeren yaklaşımlar önem kazanmıştır. Bu amaçla kullanılan ajanlardan biri remineralize edici etkinliği klinik çalışmalar ile kanıtlanmış olan gümüş diamin florürdür. Gümüş diamin florürün başarısında ilaveten, son yıllarda flora karşı oluşan tepkiler ve doğal kaynaklı alternatiflerin arayışı, bitkisel kaynaklı remineralize edici ajanları ön plana getirmiştir. Yapısında kolajen çapraz bağlayıcısı olan proantosiyanidin olduğu üzüm çekirdeği ekstresi doğal kaynaklı remineralize edici ajanlardan biridir. Bu iki ajanın dentin mikrosertliği ve restorasyonun bağlantısı üzerinde etkinlikleri bilinmesine rağmen, sinerjistik ve karşılaştırmalı etkinliklerini inceleyen yeterli sayıda çalışma literatürde yoktur. Bu çalışmada, in vitro koşullar altında süt dişi dentin çürük lezyonlarında gümüş diamin florür ve üzüm çekirdeği ekstresinin tek ve kombine kullanımlarının dentin mikrosertliği ve restorasyonun bağlanma kuvveti üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda süt ikinci molar dişler ilk olarak sahip oldukları kusurları elimine edilmek adına ışık mikroskobu altında incelenmiş ve uygun olmayan dişler elimine edilerek örnek kümesi oluşturulmuştur. Uygunluğu kabul edilen süt dişleri (N=40) örnek standardizasyonunu sağlamak adına, 4 ayrı kesite ayrılmış (n=160) ve her kesitin oklüzal yüzeyleri dentin açığa çıkıncaya kadar aşındırılmıştır. Her kesit grup başına 40 diş düşecek şekilde kontrol, GDF, ÜÇE ve kombine olarak ayrılmıştır. Ardından, örnekler üzerinde sağlam dentin mikrosertliğini belirlemek için kontrol grubunda mikrosertlik ölçümleri yapılmıştır (n=20). Örnekler, yapay çürük lezyonu oluşturmak için demineralizasyon solüsyonu ve akabinde pH siklusuna tabi tutulmuştur (n=160). Demineralizasyonu tamamlandıktan sonra, örnek yüzeylerine GDF (n=40), ÜÇE (n=40) ve GDF + ÜÇE (n=40) kombine olarak remineralizasyon ajanları uygulanmıştır. Kontrol grubunda herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Örnekler daha sonra mikrosertlik (n=80) ve bağlanma (n=80) testleri için her biri için dört alt grup olacak şekilde iki ana gruba ayrılmıştır. Kontrol, GDF, ÜÇE ve GDF+ÜÇE gruplarından mikrosertlik ölçümleri yapılmış elde edilen veriler kaydedilmiştir. Mikrosertlik grubu içerisinde, her alt gruptan belirli sayıda örnek SEM ve EDX analizi için ayrılmıştır (n=9). Kontrol, GDF, ÜÇE ve GDF+ÜÇE gruplarından her grup başı 20'şer örnek YVCİS ile restore edilmiş ardından bağlantı kuvvetini belirlemek adına çekme testine tabi tutulmuşlardır. Elde edilen bulgular sonucunda, remineralizasyon amacıyla GDF, ÜÇE ve GDF+ÜÇE kombinasyon uygulamalarını takiben dentin mikrosertliğinde en fazla artış GDF uygulanan grupta saptanmıştır ($p<0,001$). ÜÇE uygulaması sonrası dentin mikrosertliğinde anlamlı bir artış elde edilmiş ($p<0,001$) ancak GDF kadar başarılı bulunmamıştır ($p<0,001$). GDF+ÜÇE kombine uygulaması demineralize dentinin mikrosertliğini anlamlı oranda arttırmış ($p<0,001$), ancak tek uygulanması kadar başarılı bulunmamıştır ($p<0,001$). SEM incelemelerinde kontrol grubunda dentin tübüllerinin açık olduğu, GDF grubunda dentin tübüllerinin granüler bir yapı ile örtülerek tıkandığı, ÜÇE grubunda kristal benzeri bir yapıyla dentin ve yüzeyin tamamen kaplandığı ve GDF+ÜÇE grubunda dentin yüzeyinin bir tabakayla örtüldüğü ve yer yer çatlaklar olduğu gözlemlenmiştir. EDX analizinde Ca ve P değerleri ÜÇE ve GDF+ÜÇE grubunda artmış, GDF kullanılan grupta ise diğerlerine göre azalmıştır. GDF ve GDF+ÜÇE gruplarında ortamda Ag iyonlarının bulunduğu saptanmıştır. Restorasyonun dentine bağlanma kuvvetinin GDF, ÜÇE ve kombine uygulamalarından sonra yapılan değerlendirilmesinde, tüm ajanlar

bağlanma kuvvetini arttırmış ($p<0,001$), en fazla artış GDF grubunda, en az artış ise kombine grupta elde edilmiştir ($p<0,001$). Çalışmamız sonucunda, GDF ve ÜÇE'nin kombine uygulaması demineralize dentinin mikrosertlik ve bağlanma kuvvetini arttırsa da, tek kullanımları kadar başarılı olmadığı bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Süt dişi, Dentin çürüğü, Remineralizasyon, Gümüş diamin florür, Üzüm çekirdeği ekstresi



SUMMARY

Evaluation of the Effects of Combined Use of Silver Diamine Fluoride and Grape Seed Extract on The Remineralization of Primary Teeth Dentin Carious Lesions and the Bond Strength of Restoration

With the understanding of cause and formation on dental diseases, treatment methods have changed, and the philosophy of minimal intervention dentistry has gained importance all over the world accordance with developments in dentistry. The aim of minimal interventional dentistry is to keep the teeth healthy and functional throughout lifetime. As a result of these developments, approaches that are away from invasive methods such as early diagnosis of caries, remineralization of demineralized enamel and dentin, and prevention of caries have gained importance. One of the agents used for this purpose is silver diamine fluoride, which's remineralizing activity has been proven by clinical studies. In addition to the success of silver diamine fluoride, the movement against fluoride and the search for natural alternatives have brought plant-based remineralizing agents to the fore front in recent years. Grape seed extract, which contains is a collagen crosslinker named proanthocyanidin, is one of the natural originated remineralizing agents. Although the effectiveness of these two agents on dentin microhardness and the bonding strength of restoration is known, there are not enough studies in the literature examining their synergistic and comparative effects. In this study, it was aimed to evaluate the effects of single and combined use of silver diamine fluoride and grape seed extract on dentin microhardness and bond strength of restoration in primary teeth dentin caries lesions under in vitro conditions. In our study, primary second molar teeth were first examined under a light microscope in order to eliminate their defects, and a sample set was created by eliminating teeth that are unsuitable. Primary teeth (N=40) were then divided into four sections (n=160) to ensure sample standardization, and the occlusal surfaces of each section were abraded until the underlying dentin was exposed. Each section is divided into Control, SDF (silver diamine fluoride), GSE (grape seed extract) and Combined (SDF+GSE) groups, with 40 teeth per each group. Then, microhardness measurements were made in the Control group samples to determine the microhardness of intact dentin (n=20). Samples were subjected to demineralization solution followed by pH cycle to create artificial caries lesion (n=160). After the demineralization was completed, remineralization agents were then applied to the sample surfaces of SDF (n=40), GSE (n=40) and SDF+GSE (n=40) groups. No application was made in the Control group. The samples were then divided into two main groups for microhardness (n=80) and bonding tests (n=80), with four subgroups each. Microhardness measurements were made from the Control, SDF, GSE and SDF+GSE groups and the data obtained were recorded. Within the microhardness test group, a certain number of samples from each subgroup were reserved for the SEM and EDX analysis (n=9). 20 samples per group from Control, SDF, GSE and SDF+GSE were restored with high viscosity glass ionomer cement and then subjected to a tensile test in order to determine the bond strength. As a result of the findings, the highest increase in dentin microhardness was detected in the SDF group, by comparison to GSE and SDF+GSE applications. A significant increase in dentin microhardness was also obtained after GSE application ($p<0.001$), but this increase was not successful as SDF alone ($p<0.001$). The combined application of SDF+GSE significantly increased the microhardness of demineralized

dentin ($p<0.001$), but it was not as successful as a single application of these agents ($p<0.001$). In the SEM examinations, it was observed that the dentinal tubules were open in the Control group, the dentinal tubules were blocked by the covering granular structure in the SDF group, the dentin and the surface were completely covered with a crystal-like structure in the GSE group, and the dentin surface was covered with a thin layer in the SDF+GSE group which are followed by the cracks. In EDX analysis, Ca and P values increased in the GSE and SDF+GSE groups and decreased in the SDF group compared to the other groups. In the evaluation of the bond strength of the restoration to dentin after SDF, GSE and SDF+GSE applications, all of these remineralizing agents have increased the bond strength ($p<0.001$). The highest increase was observed in the SDF group, and the least increase was obtained in the SDF+GSE group ($p<0.001$). As a result of our study, it was found that although the combined application of SDF and GSE increased the microhardness and bond strength of demineralized dentin, it was not successful as their single use.

Key words: Primary teeth, dentine caries, remineralization, silver diamine fluoride, grape seed extract

KAYNAKLAR

- AAPD (2018). Chairside Guide: Silver Diamine Fluoride in the Management of Dental Caries Lesions. *Pediatr Dent*, **40**: 492-517.
- ABED FM, KOTHA SB, ALMOTAWAH FN, ABDULALY RA, MALLINENI SK (2022). Effect of different concentrations of silver nanoparticles on the quality of the chemical bond of glass ionomer cement to primary dentin. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **222**.
- ABOU NEEL EA, ALJABO A, STRANGE A, IBRAHIM S, COATHUP M, YOUNG AM, BOZEC L, MUDERA V (2016). Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone. *Int J Nanomedicine*, **11**: 4743-4763.
- ACS G, LODOLINI G, KAMINSKY S, CISNEROS GJ (1992). Effect of nursing caries on body weight in a pediatric population. *Pediatr Dent*, **14**: 302-305.
- ACS G, SHULMAN R, NG MW, CHUSSID S (1999). The effect of dental rehabilitation on the body weight of children with early childhood caries. *Pediatr Dent*, **21**: 109-113.
- AFFAIRS ADACOS (2006). Professionally applied topical fluoride: Evidence-based clinical recommendations. *The Journal of the American Dental Association*, **137**: 1151-1159.
- AGEMATSU H, WATANABE H, YAMAMOTO H, FUKAYAMA M, KANAZAWA T, MIAKE K (1990). Scanning electron microscopic observations of microcanals and continuous zones of interglobular dentin in human deciduous incisal dentin. *Bull Tokyo Dent Coll*, **31**: 163-173.
- AINOOSAH SE, LEVON J, ECKERT GJ, HARA AT, LIPPERT F (2020). Effect of silver diamine fluoride on the prevention of erosive tooth wear in vitro. *Journal of Dentistry*, **103**: 100015.
- AL-AMMAR A, DRUMMOND JL, BEDRAN-RUSSO AK (2009). The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, **91**: 419-424.
- AL-MADI EM, AL-JAMIE MA, AL-OWAID NM, ALMOHAIMEDE AA, AL-OWID AM (2019). Antibacterial efficacy of silver diamine fluoride as a root canal irrigant. *Clinical and Experimental Dental Research*, **5**: 551-556.
- AL-QAHTANI YM (2021). Impact of graphene oxide and silver diamine fluoride in comparison to photodynamic therapy on bond integrity and microleakage scores of resin modified glass ionomer cement to demineralized dentin. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **33**: 102163.
- ALDOSARI MM, AL-SEHAIBANY FS (2022). Evaluation of the Effect of the Loading Time on the Microtensile Bond Strength of Various Restorative Materials Bonded to Silver Diamine Fluoride-Treated Demineralized Dentin. *Materials (Basel)*, **15**:
- ALIUDDIN S. (2021). Difference between primary and permanent teeth, Sequence of eruption, mixed dentition, causes of tooth loss. In. **14**: 22
- ALSHAHRANI A (2020). Influence of silver diamine fluoride compared to photodynamic therapy on the bond integrity of resin modified glass ionomer cement to demineralized dentin. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, **32**: 102007.
- ALSHEHRI W. (2020). Effect of Silver diamine fluoride on the treatment of gingivitis in geriatric patients **1**: (Doctoral Thesis)
- ALVEAR FA B, JEW J, WONG A, YOUNG D (2016). Silver modified atraumatic restorative technique (SMART): an alternative caries prevention tool. *Stoma Edu J*, **3**: 18-24.
- AMAECHI B, HIGHAM S, PODOLEANU AG, ROGERS JA, JACKSON DA (2001). Use of optical coherence tomography for assessment of dental caries: quantitative procedure. *Journal of oral rehabilitation*, **28**: 1092-1093.
- AMAECHI BT, PORTEOUS N, RAMALINGAM K, MENSINKAI PK, CCAHUANA VASQUEZ RA, SADEGHPOUR A, NAKAMOTO T (2013). Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Res*, **47**: 399-405.
- ANKER L, NIJHOF N, SWAIN MV, KILPATRICK NM (2004). Influence of hydration and mechanical characterization of carious primary dentine using an ultra-micro indentation system (UMIS). *Eur J Oral Sci*, **112**: 231-236.
- ANUSAVICE P. (2003). Mechanical properties of dental materials. In W.S. ANUSAVICE K. J., ST LOUIS. (Ed.), *Phillips' Science of Dental Materials* (11 ed., pp. 69-143).

- AQUILINO S, WILLIAMS V (1987). The effect of storage solutions and mounting media on the bond strenghts of a dentinal adhesive to dentin. *Dental Materials*, **3**: 131-134.
- ARANA-CHAVEZ VE, CASTRO-FILICE LS (2019). Transmission Electron Microscopy (TEM) and Scanning Electron Microscopy (SEM) for the Examination of Dental Hard Tissues. *Methods Mol Biol*, **1922**: 325-332.
- AREF NS, ABDALLAH RM (2021). Could Different Formulations of Grape Seed (Vitis vinifera) Influence the Physical Properties of Conventional Glass Ionomer Cement? *Contemporary clinical dentistry*, **12**: 383-388.
- ARENDS J, TEN BOSCH JJ (1992). Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res*, **71 Spec No**: 924-928.
- ARIFA M, EPHRAIM R, RAJAMANI T (2019). Recent Advances in Dental Hard Tissue Remineralization: A Review of Literature. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, **12**: 139-144.
- ARMSTRONG S, GERALDELI S, MAIA R, RAPOSO LH, SOARES CJ, YAMAGAWA J (2010). Adhesion to tooth structure: a critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater*, **26**: e50-62.
- ASTEKAR M, KAUR P, DHAKAR N, SINGH J (2014). Comparison of hard tissue interrelationships at the cervical region of teeth based on tooth type and gender difference. *Journal of forensic dental sciences*, **6**: 86-91.
- ATABEK Ş, ÖZDEN AN (2019). Comparison of the Effect of Proanthocyanidin Surface Treatments on Shear Bond Strength of Different Cements. *Materials (Basel, Switzerland)*, **12**: 2676.
- ATYIEH BS, COSTAGLIOLA M, HAYEK SN, DIBO SA (2007). Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *Burns*, **33**: 139-148.
- AUTIERI G, MUSSANO F, PETRUZZI M, CAROSSA M, GENOVA T, CORSALINI M, CAROSSA S (2018). Proanthocyanidin may improve the shear bond strength at the composites/dentine interface. *J Biol Regul Homeost Agents*, **32**: 1021-1025.
- AYAZ DF, TAĞTEKİN D, YANIKOĞLU F (2011). Dentine bağlanma ve değerlendirme metodları. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **2011**: 49-56.
- BÄCHLI K, SCHMIDLIN PR, WEGEHAUPT F, PAQUÉ F, RAMENZONI L, BOTTER S (2019). Remineralization of Artificial Dentin Caries Using Dentin and Enamel Matrix Proteins. *Materials (Basel)*, **12**:
- BAGCHI D, BAGCHI M, STOHS SJ, DAS DK, RAY SD, KUSZYNSKI CA, JOSHI SS, PRUESS HG (2000). Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, **148**: 187-197.
- BALALAIE A, REZVANI MB, BASIR MM, REZADOOST H, BALALAIE S (2019). A New Approach for Determining the Minimum Concentration of Proanthocyanidin for Preservation of Collagen in H Dentin. *Eur J Prosthodont Restor Dent*, **27**: 154-163.
- BALALAIE A, REZVANI MB, MOHAMMADI BASIR M (2018). Dual function of proanthocyanidins as both MMP inhibitor and crosslinker in dentin biomodification: A literature review. *Dent Mater J*, **37**: 173-182.
- BALLIKAYA E, GUCİZ DOĞAN B, ONAY O, UZAMIS TEKCİCEK M (2018). Oral health status of children with mouth breathing due to adenotonsillar hypertrophy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, **113**: 11-15.
- BALLIKAYA E, ÜNVERDİ GE, CEHRELİ ZC (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. *Clin Oral Investig*, **26**: 2197-2205.
- BANIHANI A, DEERY C, TOUMBA J, MUNYOMBWE T, DUGGAL M (2018). The impact of dental caries and its treatment by conventional or biological approaches on the oral health-related quality of life of children and carers. *Int J Paediatr Dent*, **28**: 266-276.
- BEDRAN-RUSSO, ANA KARINA B., PASHLEY DH, AGEE K, DRUMMOND JL, MIESCKE KJ (2008). Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **86B**: 330-334.
- BENJAMIN S, SHARMA R, THOMAS SS, NAINAN MT (2012). Grape seed extract as a potential remineralizing agent: a comparative in vitro study. *J Contemp Dent Pract*, **13**: 425-430.
- BERTASSONI, STANKOSKA, SWAIN MV (2012). Insights into the structure and composition of the peritubular dentin organic matrix and the lamina limitans. *Micron*, **43**: 229-236.

- BERTASSONI LE, HABELITZ S, MARSHALL SJ, MARSHALL GW (2011). Mechanical recovery of dentin following remineralization in vitro--an indentation study. *J Biomech*, **44**: 176-181.
- BERTASSONI LE, ORGEL JPR, ANTIPOVA O, SWAIN MV (2012). The dentin organic matrix - limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta biomaterialia*, **8**: 2419-2433.
- BERTASSONI LE, SWAIN MV (2014). The contribution of proteoglycans to the mechanical behavior of mineralized tissues. *J Mech Behav Biomed Mater*, **38**: 91-104.
- BOTEON AP, PRAKKI A, RABELO BUZALAF MA, RIOS D, HONORIO HM (2017). Effect of different concentrations and application times of proanthocyanidin gels on dentin erosion. *Am J Dent*, **30**: 96-100.
- BRAGA MM, MORAIS CC, NAKAMA RCS, LEAMARI VM, SIQUEIRA WL, MENDES FM (2009). In vitro performance of methods of approximal caries detection in primary molars. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, **108**: e35-e41.
- BROITMAN E (2016). Indentation Hardness Measurements at Macro-, Micro-, and Nanoscale: A Critical Overview. *Tribology Letters*, **65**: 23.
- BUONOCORE MG (1955). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*, **34**: 849-853.
- BURR DB (2004). Anatomy and physiology of the mineralized tissues: role in the pathogenesis of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, **12 Suppl A**: S20-30.
- BUSENLEHNER L, ARMSTRONG R (2005). Busenlehner, L. S. & Armstrong, R. N. Insights into enzyme structure and dynamics elucidated by amide H/D exchange mass spectrometry. *Arch. Biochem. Biophys.* 433, 34-46. *Archives of biochemistry and biophysics*, **433**: 34-46.
- CAI JING, BURROW MF, MANTON DJ, TSUDA Y, SOBH EG, PALAMARA JEA (2019). Effects of silver diamine fluoride/potassium iodide on artificial root caries lesions with adjunctive application of proanthocyanidin. *Acta Biomaterialia*, **88**: 491-502.
- CAO CY, MEI ML, LI Q-L, LO ECM, CHU CH (2015). Methods for biomimetic remineralization of human dentine: a systematic review. *International journal of molecular sciences*, **16**: 4615-4627.
- CAREY CM (2014). Focus on fluorides: update on the use of fluoride for the prevention of dental caries. *J Evid Based Dent Pract*, **14 Suppl**: 95-102.
- CASTELLAN CS, BEDRAN-RUSSO AK, KAROL S, PEREIRA PN (2011). Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. *J Mech Behav Biomed Mater*, **4**: 1343-1350.
- CASTILLO JL, RIVERA S, APARICIO T, LAZO R, AW T-C, MANCL LL, MILGROM P (2011). The Short-term Effects of Diammine Silver Fluoride on Tooth Sensitivity:a Randomized Controlled Trial. *Journal of Dental Research*, **90**: 203-208.
- CHANDNA P, SRIVASTAVA N, ALI S (2016). Remineralizing Agents: The Next Frontier. *Curr Clin Pharmacol*, **11**: 211-220.
- CHAUSSAIN-MILLER C, FIORETTI F, GOLDBERG M, MENASHI S (2006). The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res*, **85**: 22-32.
- CHEN KJ, GAO SS, DUANGTHIP D, LO ECM, CHU CH. (2018). Managing early childhood caries for young children in China. *Healthcare*,
- CHOWDHARY N, REDDY V (2010). Dentin comparison in primary and permanent molars under transmitted and polarised light microscopy: An in vitro study. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, **28**: 167-172.
- CHOWDHARY N, SUBBA REDDY VV (2010). Dentin comparison in primary and permanent molars under transmitted and polarised light microscopy: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, **28**: 167-172.
- CHU CH, LAM A, LO EC (2011). Dentin hypersensitivity and its management. *Gen Dent*, **59**: 115-122; quiz 123-114.
- CHU CH, LEE AH, ZHENG L, MEI ML, CHAN GC (2014). Arresting rampant dental caries with silver diamine fluoride in a young teenager suffering from chronic oral graft versus host disease post-bone marrow transplantation: a case report. *BMC Res Notes*, **7**: 3.
- CHU CH, LO EC (2008a). Microhardness of dentine in primary teeth after topical fluoride applications. *J Dent*, **36**: 387-391.

- CHU CH, LO EC (2008b). Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: a review. *Oral Health Prev Dent*, **6**: 315-321.
- CHU CH, LO EC, LIN HC (2002). Effectiveness of silver diamine fluoride and sodium fluoride varnish in arresting dentin caries in Chinese pre-school children. *J Dent Res*, **81**: 767-770.
- CHU CH, LO ECM (2008c). Microhardness of dentine in primary teeth after topical fluoride applications. *Journal of Dentistry*, **36**: 387-391.
- CHU CH, MEI L, SENEVIRATNE CJ, LO ECM (2012). Effects of silver diamine fluoride on dentine carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *International Journal of Paediatric Dentistry*, **22**: 2-10.
- COFFEY JP, GOODKIND RJ, DELONG R, DOUGLAS WH (1985). In vitro study of the wear characteristics of natural and artificial teeth. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, **54**: 273-280.
- CONTRERAS V, TORO MJ, ELÍAS-BONETA AR, ENCARNACIÓN-BURGOS A (2017). Effectiveness of silver diamine fluoride in caries prevention and arrest: a systematic literature review. *Gen Dent*, **65**: 22-29.
- COSTA SM, MARTINS CC, BONFIM MDE L, ZINA LG, PAIVA SM, PORDEUS IA, ABREU MH (2012). A systematic review of socioeconomic indicators and dental caries in adults. *Int J Environ Res Public Health*, **9**: 3540-3574.
- COUNCIL Of Policy on the Use of Silver Diamine Fluoride for Pediatric Dental Patients **2**: part 2 Consensus Report
- CRAIG G, KNIGHT G, MCINTYRE J (2012). Clinical evaluation of diamine silver fluoride/potassium iodide as a dentine desensitizing agent. A pilot study. *Australian Dental Journal*, **57**: 308-311.
- CRAIG RG. (2012). Chapter 5 - Testing of Dental Materials and Biomechanics. In R.L. SAKAGUCHI & J.M. POWERS (Eds.), *Craig's Restorative Dental Materials (Thirteenth Edition)* (pp. 83-107). Mosby. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-08108-5.10005-2>
- CRYSTAL YO, MARGHALANI AA, URELES SD, WRIGHT JT, SULYANTO R, DIVARIS K, FONTANA M, GRAHAM L (2017). Use of Silver Diamine Fluoride for Dental Caries Management in Children and Adolescents, Including Those with Special Health Care Needs. *Pediatr Dent*, **39**: 135-145.
- CRYSTAL YO, NIEDERMAN R (2019). Evidence-Based Dentistry Update on Silver Diamine Fluoride. *Dent Clin North Am*, **63**: 45-68.
- DA COSTA-SILVA CM, AMBROSANO GM, JEREMIAS F, DE SOUZA JF, MIALHE FL (2011). Increase in severity of molar-incisor hypomineralization and its relationship with the colour of enamel opacity: a prospective cohort study. *Int J Paediatr Dent*, **21**: 333-341.
- DA CUNHA WA, PALMA LF, SHITSUKA C, CORRÊA FNP, DUARTE DA, CORRÊA MSNP (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**: 387-392.
- DALPIAN DM, CASAGRANDE L, FRANZON R, DUTRA GMC, ARAUJO F (2012). Dentin microhardness of primary teeth undergoing partial carious removal. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, **36**:
- DE JOSSELIN DE JONG E, SUNDSTRÖM F, WESTERLING H, TRANAEUS S, TEN BOSCH JJ, ANGMAR-MÅNSSON B (1995). A new method for in vivo quantification of changes in initial enamel caries with laser fluorescence. *Caries Res*, **29**: 2-7.
- DENTISTRY AAOP (2021). Policy on the use of silver diamine fluoride for pediatric dental patients. *The Reference Manual of Pediatric Dentistry*, **2**: 68-71.
- DESAI H, STEWART CA, FINER Y (2021). Minimally Invasive Therapies for the Management of Dental Caries-A Literature Review. *Dentistry journal*, **9**: 147.
- DIETSCHI D, MARRET N, KREJCI I (2003). Comparative efficiency of plasma and halogen light sources on composite micro-hardness in different curing conditions. *Dent Mater*, **19**: 493-500.
- DUANGTHIP D, CHU CH, LO EC (2016). A randomized clinical trial on arresting dentine caries in preschool children by topical fluorides--18 month results. *J Dent*, **44**: 57-63.
- EAPD (2009). Guidelines on the use of fluoride in children: an EAPD policy document. *Eur Arch Paediatr Dent*, **10**: 129-135.

- EDWARDS-JONES V (2009). The benefits of silver in hygiene, personal care and healthcare. *Letters in Applied Microbiology*, **49**: 147-152.
- EHRlich H, KOUTSOUKOS PG, DEMADIS KD, POKROVSKY OS (2009). Principles of demineralization: Modern strategies for the isolation of organic frameworks: Part II. Decalcification. *Micron*, **40**: 169-193.
- ELSAFY R, YASSEN A (2018). Grape seed extract and dentin remineralization. *Egyptian dental journal*, **64**: 12
- EPASINGHE, YIU CKY, BURROW MF (2015). Effect of proanthocyanidin incorporation into dental adhesive on durability of resin–dentin bond. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, **63**: 145-151.
- EPASINGHE DJ, YIU C, BURROW MF (2015). Synergistic effect of proanthocyanidin and CPP-ACFP on remineralization of artificial root caries. *Aust Dent J*, **60**: 463-470.
- EPASINGHE DJ, YIU CK, BURROW MF, HIRAISHI N, TAY FR (2013). The inhibitory effect of proanthocyanidin on soluble and collagen-bound proteases. *J Dent*, **41**: 832-839.
- EPASINGHE J, YIU C, BURROW M (2015). Effect of proanthocyanidin incorporation into dental adhesive on durability of resin-dentin bond. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, **63**: 145-151.
- EYRE D (1987). Collagen cross-linking amino acids. *Methods Enzymol*, **144**: 115-139.
- FANCHER ME, FOURNIER S, TOWNSEND J, LALLIER TE (2019). Cytotoxic effects of silver diamine fluoride. *Am J Dent*, **32**: 152-156.
- FARHAT S, REKABY M, AWAD R (2019). Vickers microhardness and indentation creep studies for erbium-doped ZnO nanoparticles. *SN Applied Sciences*, **1**: 546.
- FEATHERSTONE JD (1996). Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater*, **12**: 194-197.
- FEATHERSTONE JD (2000). The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc*, **131**: 887-899.
- FEATHERSTONE JD, TEN CATE JM, SHARIATI M, ARENDS J (1983). Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res*, **17**: 385-391.
- FEATHERSTONE JDB, LUSSI A (2006). Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci*, **20**: 66-76.
- FEGHALI K, FELDMAN M, LA VD, SANTOS J, GRENIER D (2012). Cranberry proanthocyanidins: natural weapons against periodontal diseases. *J Agric Food Chem*, **60**: 5728-5735.
- FIRESTONE A, FEAGIN FF, HEAVEN T, SHEETZ J, DENYS F (1993). In vitro Demineralization by Strains of *Actinomyces viscosus* and *Streptococcus sobrinus* of Sound and Demineralized Root Surfaces. *Journal of dental research*, **72**: 1180-1183.
- FIROUZMANDI M, MOHAGHEGH M, JAFARPISHEH M (2020). Effect of silver diamine fluoride on the bond durability of normal and carious dentin. *Journal of clinical and experimental dentistry*, **12**: e468-e473.
- FIROUZMANDI M, SHAFIEI F, JOWKAR Z, NAZEMI F (2019). Effect of Silver Diamine Fluoride and Proanthocyanidin on Mechanical Properties of Caries-Affected Dentin. *Eur J Dent*, **13**: 255-260.
- FRANÇOIS P, GREENWALL-COHEN J, LE GOFF S, RUSCASSIER N, ATTAL JP, DURSUN E (2020). Shear bond strength and interfacial analysis of high-viscosity glass ionomer cement bonded to dentin with protocols including silver diamine fluoride. *J Oral Sci*, **62**: 444-448.
- FRANK RM (1959). Electron microscopy of undecalcified sections of human adult dentine. *Arch Oral Biol*, **1**: 29-32.
- FRENCKEN JE, PILOT T, SONGPAISAN Y, PHANTUMVANIT P (1996). Atraumatic restorative treatment (ART): rationale, technique, and development. *J Public Health Dent*, **56**: 135-140; discussion 161-133.
- FUNG M, DUANGTHIP D, WONG M, LO E, CHU C (2016). Arresting dentine caries with different concentration and periodicity of silver diamine fluoride. *JDR Clinical & Translational Research*, **1**: 143-152.
- FUNG MHT, DUANGTHIP D, WONG MCM, LO ECM, CHU CH (2016). Arresting Dentine Caries with Different Concentration and Periodicity of Silver Diamine Fluoride. *JDR Clin Trans Res*, **1**: 143-152.
- GAJJELA RS, SATISH RK, SAJJAN GS, VARMA KM, RAMBABU T, LAKSHMI BV (2017). Comparative evaluation of chlorhexidine, grape seed extract, riboflavin/chitosan modification on microtensile bond strength of composite resin to dentin after polymerase chain reaction thermocycling: An in vitro study. *Journal of conservative dentistry: JCD*, **20**: 120.

- GAJJERAMAN S, NARAYANAN K, HAO J, QIN C, GEORGE A (2007). Matrix macromolecules in hard tissues control the nucleation and hierarchical assembly of hydroxyapatite. *J Biol Chem*, **282**: 1193-1204.
- GANSS C, KLIMEK J, STARCK C (2004). Quantitative analysis of the impact of the organic matrix on the fluoride effect on erosion progression in human dentine using longitudinal microradiography. *Archives of Oral Biology*, **49**: 931-935.
- GAO SS, CHEN KJ, DUANGTHIP D, WONG MCM, LO ECM, CHU CH (2020). Arresting early childhood caries using silver and fluoride products - A randomised trial. *J Dent*, **103**: 103522.
- GAO SS, ZHAO IS, HIRAISHI N, DUANGTHIP D, MEI ML, LO ECM, CHU CH (2016). Clinical Trials of Silver Diamine Fluoride in Arresting Caries among Children: A Systematic Review. *JDR Clin Trans Res*, **1**: 201-210.
- GARG P, TYAGI S, SINHA D, SINGH U (2013). An update on remineralizing agents. *journal of interdisciplinary dentistry*, **3**: 151-158.
- GARRIDO-BAÑUELOS G, BUICA A, SCHÜCKEL J, ZIETSMAN AJJ, WILLATS WGT, MOORE JP, DU TOIT WJ (2019). Investigating the relationship between grape cell wall polysaccharide composition and the extractability of phenolic compounds into Shiraz wines. Part I: Vintage and ripeness effects. *Food Chem*, **278**: 36-46.
- GLENDIA R, SQUASSI A, MANDALUNIS P, 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 odontológica latinoamericana: AOL*, **5**: 5-12.
- GOLDBERG M, KULKARNI AB, YOUNG M, BOSKEY A (2011). Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*, **3**: 711-735.
- GOLDBERG M, KULKARNI AB, YOUNG M, BOSKEY A (2011). Dentin: structure, composition and mineralization. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, **3**: 711-735.
- GOLDBERG M, TAKAGI M (1993). Dentine proteoglycans: composition, ultrastructure and functions. *Histochem J*, **25**: 781-806.
- GOTLIV BA, ROBACH JS, VEIS A (2006). The composition and structure of bovine peritubular dentin: mapping by time of flight secondary ion mass spectroscopy. *J Struct Biol*, **156**: 320-333.
- GOUSALYAV, DHAMODHAR D, PRABU D (2021). Effect Of Proanthocyanidin Rich Grape Seed Extract On Dentinbond Strength: A Systematic Review. **1**: 4356-4363.
- GOUSALYAV P, RAJMOHAN M, BHARATHWAJ V, DINESH DHAMODHAR M, SINDHU R, SHREELAKSHMI S (2021). Effect Of Proanthocyanidin Rich Grape Seed Extract On Dentinbond Strength: A Systematic Review. *NVEO-NATURAL VOLATILES & ESSENTIAL OILS Journal| NVEO*, **1**: 4356-4363.
- GOVIND S, JENA A, MOHANTY N, KAMILLA SK (2021). Conceptualization of Bioactive Materials in Dental Caries Prevention. *Siriraj Medical Journal*, **73**: 614-632.
- GRAWISH ME, GRAWISH LM, GRAWISH HM, GRAWISH MM, HOLIEL AA, SULTAN N, EL-NEGOLY SA (2022). Demineralized Dentin Matrix for Dental and Alveolar Bone Tissues Regeneration: An Innovative Scope Review. *Tissue Eng Regen Med*, **19**: 687-701.
- HAN B, JAUREQUI J, TANG BW, NIMNI ME (2003). Proanthocyanidin: a natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. *J Biomed Mater Res A*, **65**: 118-124.
- HANNAS AR, PEREIRA JC, GRANJEIRO JM, TJÄDERHANE L (2007). The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand*, **65**: 1-13.
- HARDWICK K, BARMES D, WRITER S, RICHARDSON LM (2000). International Collaborative Research on Fluoride. *Journal of Dental Research*, **79**: 893-904.
- HE G, GEORGE A (2004). Dentin matrix protein 1 immobilized on type I collagen fibrils facilitates apatite deposition in vitro. *J Biol Chem*, **279**: 11649-11656.
- HELLWIG E, LENNON AM (2004). Systemic versus topical fluoride. *Caries Res*, **38**: 258-262.
- HERNANDEZ-JIMENEZ A, GOMEZ-PLAZA E, MARTINEZ-CUTILLAS A, KENNEDY JA (2009). Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell× Syrah grapes. *Journal of agricultural and food chemistry*, **57**: 10798-10803.
- HICKS J, GARCIA-GODOY F, FLAITSZ C (2004). Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent*, **28**: 119-124.

- HIRAISHI N, YIU CKY, KING NM, TAGAMI J, TAY FR (2010). Antimicrobial Efficacy of 3.8% Silver Diamine Fluoride and Its Effect on Root Dentin. *Journal of Endodontics*, **36**: 1026-1029.
- HIRAYAMA A, YAMADA M, MIAKE K (1986). An electron microscopy study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho*, **86**: 1021-1031.
- HO Y, GYURKO R, UZEL NG, STEFFENSEN B, XENOUDI P, LOO C, ZOUKHRI D (2022). An In Vitro Pilot Study on the Effects of Silver Diamine Fluoride on Periodontal Pathogens and Three-Dimensional Scaffolds of Human Fibroblasts and Epithelial Cells. *International Journal of Dentistry*, **2022**:
- HORST JA, ELLENKIOTIS H, MILGROM PL (2016). UCSF Protocol for Caries Arrest Using Silver Diamine Fluoride: Rationale, Indications and Consent. *J Calif Dent Assoc*, **44**: 16-28.
- HÖRSTED-BINDSLEV P (1994). Fluoride release from alternative restorative materials. *J Dent*, **22 Suppl 1**: S17-20.
- HOSOYA Y, MARSHALL GW (2005). The nano-hardness and elastic modulus of sound deciduous canine dentin and young premolar dentin--preliminary study. *J Mater Sci Mater Med*, **16**: 1-8.
- HU S, MEYER B, DUGGAL M (2018). A silver renaissance in dentistry. *Eur Arch Paediatr Dent*, **19**: 221-227.
- HUSSEIN F, HASHEM SN, ELSAYED SR (2021). The Synergetic Effect of Silver Diamine Fluoride with Potassium Iodide and Grape Seed Extract on Dentin Remineralization. *Al-Azhar Dental Journal for Girls*, **8**: 71-80.
- ISENBURG JC, SIMIONESCU DT, VYAVAHARE NR (2004). Elastin stabilization in cardiovascular implants: improved resistance to enzymatic degradation by treatment with tannic acid. *Biomaterials*, **25**: 3293-3302.
- ITO S, SAITO T, TAY FR, CARVALHO RM, YOSHIYAMA M, PASHLEY DH (2005). Water content and apparent stiffness of non-caries versus caries-affected human dentin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, **72**: 109-116.
- JAIN J, ARORA S, RAJWADE JM, OMRAY P, KHANDELWAL S, PAKNIKAR KM (2009). Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use. *Mol Pharm*, **6**: 1388-1401.
- JAIN MR (2015). Dentin Comparison in Primary and Permanent Molars under Compound Light Microscopy: A Study. *Research J. Pharm. and Tech*, **8(10): Oct**: Page 1369-1373.
- JAMES P, PARFITT G (1954). A clinical note on the use of silver nitrate in the prevention of fissure caries in newly erupted first permanent molars. *Br. Dent. J*, **96**: 35-36.
- JAWALE KD, KAMAT SB, PATIL JA, NANJANNAWAR GS, CHOPADE RV (2017). Grape seed extract: An innovation in remineralization. *J Conserv Dent*, **20**: 415-418.
- JIA R, LU Y, YANG CW, LUO X, HAN Y (2014). Effect of generation 4.0 polyamidoamine dendrimer on the mineralization of demineralized dentinal tubules in vitro. *Arch Oral Biol*, **59**: 1085-1093.
- JIANG M, MEI ML, WONG MCM, CHU CH, LO ECM (2020a). Effect of silver diamine fluoride solution application on the bond strength of dentine to adhesives and to glass ionomer cements: a systematic review. *BMC oral health*, **20**: 40-40.
- JIANG M, MEI ML, WONG MCM, CHU CH, LO ECM (2020b). Effect of silver diamine fluoride solution application on the bond strength of dentine to adhesives and to glass ionomer cements: a systematic review. *BMC oral health*, **20**: 1-10.
- JIMÉNEZ MJ. (2015). *Açık Küretaj ve Kemik Grefti: Olgu Sunumu* Özerk Meksia Devlet Üniversitesi]. Diş Hekimliği İleri Araştırma ve Çalışma Merkezi, **1**: 12
- JOHANSSON AK, SORVARI R, BIRKHED D, MEURMAN JH (2001). Dental erosion in deciduous teeth—an in vivo and in vitro study. *Journal of Dentistry*, **29**: 333-340.
- JOVES GJ, INOUE G, NAKASHIMA S, SADR A, NIKAIIDO T, TAGAMI J (2013). Mineral density, morphology and bond strength of natural versus artificial caries-affected dentin. *Dent Mater J*, **32**: 138-143.
- KAHLER B, SWAIN MV, MOULE A (2003). Fracture-toughening mechanisms responsible for differences in work to fracture of hydrated and dehydrated dentine. *J Biomech*, **36**: 229-237.
- KAWASAKI K, FEATHERSTONE JD (1997). Effects of collagenase on root demineralization. *J Dent Res*, **76**: 588-595.
- KIESOW A, MENZEL M, LIPPERT F, TANZER JM, MILGROM P (2022). Dentin tubule occlusion by a 38% silver diamine fluoride gel: an in vitro investigation. *BDJ Open*, **8**: 1.

- KILINC H, ASLAN T, KILIC K, ERSÖZ Ö, KURT G (2016). Effect of Delayed Bonding and Antioxidant Application on the Bond Strength to Enamel after Internal Bleaching. *J Prosthodont*, **25**: 386-391.
- KINNEY JH, SJ, MARSHALL GW (2003). The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Crit Rev Oral Biol Med*, **14**: 13-29.
- KINNEY JH, HABELITZ S, MARSHALL SJ, MARSHALL GW (2003). The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *J Dent Res*, **82**: 957-961.
- KLANLIANG K, ASAHY Y, MAEZONO H, SOTOZONO M, KURIKI N, MACHI H, EBISU S, HAYASHI M (2022). An extensive description of the microbiological effects of silver diamine fluoride on dental biofilms using an oral in situ model. *Scientific Reports*, **12**: 7435.
- KLASEN HJ (2000). Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. *Burns*, **26**: 117-130.
- KLEIN H, KNUTSON JW (1942). XIII. Effect of ammoniacal silver nitrate on caries in the first permanent molar. *The Journal of the American Dental Association*, **29**: 1420-1426.
- KLETER GA, DAMEN JJM, EVERTS V, NIEHOF J, TEN CATE J (1994). The Influence of the Organic Matrix on Demineralization of Bovine Root Dentin in vitro. *Journal of dental research*, **73**: 1523-1529.
- KNIGHT GM, MCINTYRE JM, CRAIG GG, MULYANI, ZILM PS, GULLY NJ (2007). Differences between normal and demineralized dentine pretreated with silver fluoride and potassium iodide after an in vitro challenge by *Streptococcus mutans*. *Aust Dent J*, **52**: 16-21.
- KOÇ-VURAL U, ERGIN E, GURGAN S (2018). Microhardness and shear bond-strength of carious dentin after fluorescence-aided or conventionally excavation: (An in-vitro comparison). *Journal of clinical and experimental dentistry*, **10**: e668-e672.
- KOIZUMI H, HAMAMA HH, BURROW MF (2016). Effect of a silver diamine fluoride and potassium iodide-based desensitizing and cavity cleaning agent on bond strength to dentine. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, **68**: 54-61.
- KSHITIZ P, SHIPRA Z, RANI S, JAYANTI S (2011). Anti-cariogenic effects of polyphenol plant products-a review. *Int J Res Ayurveda Pharm*, **2**: 736-742.
- KU S, M S, MUN SP (2007). Binding Affinity of Proanthocyanidin from Waste Pinus radiata Bark onto Proline-rich Bovine Achilles Tendon Collagen Type I. *Chemosphere*, **67**: 1618-1627.
- KUBOKI Y, OHGUSHI K, FUSAYAMA T (1977). Collagen biochemistry of the two layers of carious dentin. *J Dent Res*, **56**: 1233-1237.
- KUNTZE MM, MENDES SOUZA BD, SCHMIDT TF, DE ALMEIDA J, BORTOLUZZI EA, FELIPPE WT (2020). Scanning electron microscopy evaluation of dentin ultrastructure after surface demineralization. *Journal of conservative dentistry : JCD*, **23**: 512-517.
- LA VD, BERGERON C, GAFNER S, GRENIER D (2009). Grape seed extract suppresses lipopolysaccharide-induced matrix metalloproteinase (MMP) secretion by macrophages and inhibits human MMP-1 and -9 activities. *J Periodontol*, **80**: 1875-1882.
- LAKOMAA EL, RYTÖMAA I (1977). Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. *Scand J Dent Res*, **85**: 89-95.
- LATTA MA, BARKMEIER WW (1998). DENTAL ADHESIVES IN CONTEMPORARY RESTORATIVE DENTISTRY. *Dental Clinics of North America*, **42**: 567-577.
- LI Y, LIU Y, PSOTER WJ, NGUYEN OM, BROMAGE TG, WALTERS MA, HU B, RABIEH S, KUMARARAJA FC (2019). Assessment of the Silver Penetration and Distribution in Carious Lesions of Deciduous Teeth Treated with Silver Diamine Fluoride. *Caries Research*, **53**: 431-440.
- LINDE A, GOLDBERG M (1993). Dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, **4**: 679-728.
- LIU RR, FANG M, ZHANG L, TANG CF, DOU Q, CHEN JH (2014). Anti-proteolytic capacity and bonding durability of proanthocyanidin-biomodified demineralized dentin matrix. *Int J Oral Sci*, **6**: 168-174.
- LLODRA JC, RODRIGUEZ A, FERRER B, MENARDIA V, RAMOS T, MORATO M (2005). Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial. *J Dent Res*, **84**: 721-724.

- LO EC, CHU CH, LIN HC (2001). A community-based caries control program for pre-school children using topical fluorides: 18-month results. *J Dent Res*, **80**: 2071-2074.
- LOOMIS WD. (1974). [54] Overcoming problems of phenolics and quinones in the isolation of plant enzymes and organelles. In *Methods in Enzymology* (Vol. 31, pp. 528-544). Academic Press.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0076-6879\(74\)31057-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0076-6879(74)31057-9)
- LOPES FC, ROPERTO R, AKKUS A, SILVA SOUSA YTC, SOUSA-NETO MD (2018). Evaluation of chemical and morphological changes in radicular dentin after different final surface treatments. *Microsc Res Tech*, **81**: 973-979.
- LOPES GC, CARDOSO PC, VIEIRA LC, BARATIERI LN, RAMPINELLI K, COSTA G (2006). Shear bond strength of acetone-based one-bottle adhesive systems. *Braz Dent J*, **17**: 39-43.
- LOPEZ N, SIMPSEY-RAFALIN S, BERTHOLD P (2005). Atraumatic restorative treatment for prevention and treatment of caries in an underserved community. *American journal of public health*, **95**: 1338-1339.
- LOU Y, BOTELHO M, DARVELL B (2011). Reaction of silver diamine fluoride with hydroxyapatite and protein. *Journal of dentistry*, **39**: 612-618.
- LUSSI A, JAEGER T (2008). Erosion—diagnosis and risk factors. *Clinical Oral Investigations*, **12**: 5-13.
- LYNCH RJ, TEN CATE JM (2006). The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de- and remineralisation behaviour. *Caries Res*, **40**: 530-535.
- M. FIROUZMANDI, SHAFIEI F, JOWKAR Z, NAZEMI F (2019). Effect of Silver Diamine Fluoride and Proanthocyanidin on Mechanical Properties of Caries-Affected Dentin. *Eur J Dent*, **13**: 255-260.
- M. FIROUZMANDI, VASEI F, GITI R, SADEGHI H (2020). Effect of silver diamine fluoride and proanthocyanidin on resistance of carious dentin to acid challenges. *PLoS One*, **15**: 238.
- MA RL (1993). [Clinical observation of treatment of tooth hypersensitivity with silver ammonia fluoride solution]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, **28**: 30-31.
- MACEDO GV, YAMAUCHI M, BEDRAN-RUSSO AK (2009). Effects of chemical cross-linkers on caries-affected dentin bonding. *Journal of dental research*, **88**: 1096-1100.
- MACHIULSKIENE V, CAMPUS G, CARVALHO JC, DIGE I, EKSTRAND KR, JABLONSKI-MOMENI A, MALTZ M, MANTON DJ, MARTIGNON S, MARTINEZ-MIER EA, PITTS NB, SCHULTE AG, SPLIETH CH, TENUTA LMA, FERREIRA ZANDONA A, NYVAD B (2020). Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Research*, **54**: 7-14.
- MAEDA FA, GUEDES A, CATELAN A, PAVAN S, BRISO AL, SUNDFELD RH, DOS SANTOS PH (2009). Influence of desensitizing agents on the microshear bond strength of adhesive systems to dentin. *Acta Odontológica Latinoamericana*, **22**: 41-45.
- MAHALAXMI S, MADHUBALA MM, JAYARAMAN M, SATHYAKUMAR S (2016). Evaluation of matrix metalloproteinase and cysteine cathepsin activity in dentin hybrid layer by gelatin zymography. *Indian J Dent Res*, **27**: 652-656.
- MAHONEY E, HOLT A, SWAIN M, KILPATRICK N (2000). The hardness and modulus of elasticity of primary molar teeth: an ultra-micro-indentation study. *J Dent*, **28**: 589-594.
- MAI S, KIM YK, TOLEDANO M, BRESCHI L, LING JQ, PASHLEY DH, TAY FR (2009). Phosphoric acid esters cannot replace polyvinylphosphonic acid as phosphoprotein analogs in biomimetic remineralization of resin-bonded dentin. *Dent Mater*, **25**: 1230-1239.
- MAKRIS DP, BOSKOU G, ANDRIKOPOULOS NK, KEFALAS P (2008). Characterisation of certain major polyphenolic antioxidants in grape (*Vitis vinifera* cv. Roditis) stems by liquid chromatography-mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, **226**: 1075-1079.
- MANUJA N, PANDIT IK, SRIVASTAVA N, GUGNANI N, NAGPAL R (2011). Comparative evaluation of shear bond strength of various esthetic restorative materials to dentin: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, **29**: 7-13.
- MANUSCHAI J, TALUNGCHIT S, NAORUNGROJ S (2021). Penetration of Silver Diamine Fluoride in Deep Carious Lesions of Human Permanent Teeth: An In Vitro Study. *International journal of dentistry*, **2021**: 3059129-3059129.

- MARAVIC T, BRESCHI L, PAGANELLI F, BONETTI GA, MARTINA S, DI GIORGIO G, BOSSÙ M, POLIMENI A, CHECCHI V, GENERALI L, TAY FR, CADENARO M, MAZZONI A (2021). Endogenous Enzymatic Activity of Primary and Permanent Dentine. *Materials (Basel, Switzerland)*, **14**: 4043.
- MARQUEZAN M, CORRÊA FN, SANABE ME, RODRIGUES FILHO LE, HEBLING J, GUEDES-PINTO AC, MENDES FM (2009). Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Arch Oral Biol*, **54**: 1111-1117.
- MARSHALL GW, HABELITZ S, GALLAGHER R, BALOOCH M, BALOOCH G, MARSHALL SJ (2001). Nanomechanical properties of hydrated carious human dentin. *J Dent Res*, **80**: 1768-1771.
- MARSHALL GW, JR. (1993). Dentin: microstructure and characterization. *Quintessence Int*, **24**: 606-617.
- MARSHALL GW, JR., MARSHALL SJ, BAYNE SC (1988). Restorative dental materials: scanning electron microscopy and x-ray microanalysis. *Scanning Microsc*, **2**: 2007-2028.
- MARTINES DE SOUZA B, VERTUAN M, BUZALAF MAR, MAGALHÃES AC (2017). The Impact of the Demineralized Organic Matrix on the Effect of TiF4 Varnish on the Progression of Dentin Erosive Loss. *Caries Res*, **51**: 264-270.
- MCINTYRE JM, FEATHERSTONE JD, FU J (2000). Studies of dental root surface caries. 1: Comparison of natural and artificial root caries lesions. *Aust Dent J*, **45**: 24-30.
- MEHTA A (2018). Trends in dental caries in Indian children for the past 25 years. *Indian J Dent Res*, **29**: 323-328.
- MEI, L M, ITO L, CAO Y, LI Q, LO EC, CHU C (2013). Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. *Journal of dentistry*, **41**: 809-817.
- MEI ML, CHU CH, LOW KH, CHE CM, LO EC (2013). Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with *S. mutans* and *L. acidophilus* dual-species cariogenic biofilm. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, **18**: e824-831.
- MEI ML, ITO L, CAO Y, LI Q, CHU C, LO EC (2014). The inhibitory effects of silver diamine fluorides on cysteine cathepsins. *Journal of dentistry*, **42**: 329-335.
- MEI ML, ITO L, CAO Y, LI Q, LO EC, CHU C (2013). Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. *Journal of dentistry*, **41**: 809-817.
- MEI ML, ITO L, CAO Y, LO EC, LI QL, CHU CH (2014). An ex vivo study of arrested primary teeth caries with silver diamine fluoride therapy. *J Dent*, **42**: 395-402.
- MEI ML, LI Q, CHU C, YIU CK, LO EC (2012). The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. *Dental Materials*, **28**: 903-908.
- MEI ML, LI QL, CHU CH, LO EC, SAMARANAYAKE LP (2013). Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, **12**: 4.
- MEI ML, LI QL, CHU CH, YIU CKY, LO ECM (2012). The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. *Dental Materials*, **28**: 903-908.
- MEI ML, LO EC, CHU C (2018). Arresting dentine caries with silver diamine fluoride: what's behind it? *Journal of dental research*, **97**: 751-758.
- MEI ML, LO EC, CHU CH (2016). Clinical Use of Silver Diamine Fluoride in Dental Treatment. *Compend Contin Educ Dent*, **37**: 93-98; quiz100.
- MEI ML, LO ECM, CHU CH (2018). Arresting Dentine Caries with Silver Diamine Fluoride: What's Behind It? *J Dent Res*, **97**: 751-758.
- MEI ML, NUDELMAN F, MARZEC B, WALKER JM, LO ECM, WALLS AW, CHU CH (2017). Formation of Fluorohydroxyapatite with Silver Diamine Fluoride. *J Dent Res*, **96**: 1122-1128.
- MICKENAUTSCH S (2005). An introduction to minimum intervention dentistry. *Singapore Dent J*, **27**: 1-6.
- MILLER EJ, GAY S (1987). The collagens: an overview and update. *Methods Enzymol*, **144**: 3-41.
- MINIOTIS N, BENNETT P, JOHNSTON A (1993). Molar efficiency study of chlorinated NPG substitutes in dentin bonding. *Journal of dental research*, **72**: 1045-1049.

- MIRKARIMI M, ESKANDARION S, BARGRIZAN M, DELAZAR A, KHARAZIFARD MJ (2013). Remineralization of Artificial Caries in Primary Teeth by Grape Seed Extract: An In Vitro Study. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, **7**: 206 - 210.
- MITCHEM JC, GRONAS DG (1986). Effects of time after extraction and depth of dentin on resin dentin adhesives. *Journal of the American Dental Association (1939)*, **113**: 285-287.
- MODASIA R, MODASIA D (2021). Application of silver diamine fluoride as part of the Atraumatic Restorative Technique. *BDJ Student*, **28**: 42-43.
- MORON BM, COMAR LP, WIEGAND A, BUCHALLA W, YU H, BUZALAF MA, MAGALHÃES AC (2013). Different protocols to produce artificial dentine carious lesions in vitro and in situ: hardness and mineral content correlation. *Caries Res*, **47**: 162-170.
- MURDOCH-KINCH CA, MCLEAN ME (2003). Minimally invasive dentistry. *J Am Dent Assoc*, **134**: 87-95.
- NAGI SM, HASSAN SN, ABD EL-ALIM SH, ELMISSIRY MM (2019). Remineralization potential of grape seed extract hydrogels on bleached enamel compared to fluoride gel: An in vitro study. *J Clin Exp Dent*, **11**: e401-e407.
- NAKAJIMA M, KUNAWAROTE S, PRASANSUTTIPORN T, TAGAMI J (2011). Bonding to caries-affected dentin. *Japanese Dental Science Review*, **47**: 102-114.
- NG E, SAINI S, SCHULZE KA, HORST J, LE T, HABELITZ S (2020). Shear Bond Strength of Glass Ionomer Cement to Silver Diamine Fluoride-Treated Artificial Dentinal Caries. *Pediatric dentistry*, **42**: 221-225.
- NGUYEN V, NEILL C, FELSENFELD J, PRIMUS C (2017). Potassium iodide. The solution to silver diamine fluoride discoloration. *Health*, **5**: 555655.
- NICHOLSON JW (2016). Adhesion of glass-ionomer cements to teeth: a review. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, **69**: 33-38.
- NING TY, XU XH, ZHU LF, ZHU XP, CHU CH, LIU LK, LI QL (2012). Biomimetic mineralization of dentin induced by agarose gel loaded with calcium phosphate. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, **100**: 138-144.
- NISHINO M, YOSHIDA S, SOBUE S, KATO J, NISHIDA M (1969). Effect of topically applied ammoniacal silver fluoride on dental caries in children. *J Osaka Univ Dent Sch*, **9**: 149-155.
- NIU LN, ZHANG W, PASHLEY DH, BRESCHI L, MAO J, CHEN JH, TAY FR (2014). Biomimetic remineralization of dentin. *Dent Mater*, **30**: 77-96.
- NIX WD, GAO H (1998). Indentation size effects in crystalline materials: A law for strain gradient plasticity. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, **46**: 411-425.
- NÚÑEZ V, GÓMEZ-CORDOVÉS C, BARTOLOMÉ B, HONG Y-J, MITCHELL AE (2006). Non-galloylated and galloylated proanthocyanidin oligomers in grape seeds from *Vitis vinifera* L. cv. Graciano, Tempranillo and Cabernet Sauvignon. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86**: 915-921.
- O'MULLANE DM, BAEZ RJ, JONES S, LENNON MA, PETERSEN PE, RUGG-GUNN AJ, WHELTON H, WHITFORD GM (2016). Fluoride and Oral Health. *Community Dent Health*, **33**: 69-99.
- ODTHON P, KHONGKHUNTHIAN P, SIRIKULRAT K, BOONRUANGA C, SIRIKULRAT N (2015). In vitro shear bond strength test and failure mechanism of zinc phosphate dental cement. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, **59**: 98-104.
- OILO G (1993). Bond strength testing--what does it mean? *Int Dent J*, **43**: 492-498.
- OLIVEIRA HM, CHINELATTI M, TORRES C, GOMES-SILVA JM, MENEZES FCH, PALMA-DIBB R, BORSATTO MC. (2009). *Microstructure and mineral concentration of primary and permanent teeth*. **2**:72-122
- OMIDI S, SEDAGHAT S, TAHVILDARI K, DERAKHSHI P, MOTIEE F (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles with adiantum capillus-veneris L leaf extract in the batch process and assessment of antibacterial activity. *Green Chemistry Letters and Reviews*, **11**: 544-551.
- OPPERMANN RV, JOHANSEN JR (1980). Effect of fluoride and non-fluoride salts of copper, silver and tin on the acidogenicity of dental plaque in vivo. *European Journal of Oral Sciences*, **88**: 476-480.
- OZNURHAN. (2020). Remineralization Activities of Bioactive Materials and Nanotechnological Products Used in Pediatric Dentistry. *Journal of Dentistry and Oral Care Medicine*, **5**(2):201

- OZNURHAN F, KESKUS B (2019). Remineralization Activities of Bioactive Materials and Nanotechnological Products Used in Pediatric Dentistry. *J Dent Oral Care Med*, **5**: 201.
- ÖZYEŞİL A, GÜNAL Ş, BELLI S, ESKITAŞÇIOĞLU G (2009). İki farklı bağlanma dayanımı testinin karşılaştırılması (Mikroshear ve Mikrotensile). *SÜ Dişhek Fak Derg*, **18**: 118-121.
- PALMA-DIBB RG, DE CASTRO CG, RAMOS RP, CHIMELLO DT, CHINELATTI MA (2003). Bond strength of glass-ionomer cements to caries-affected dentin. *J Adhes Dent*, **5**: 57-62.
- PANDE P, RANA V, SRIVASTAVA N, KAUSHIK N (2020). A compendium on remineralizing agents in dentistry. **6**: 247-250.
- PASHLEY DH, TAY FR, YIU C, HASHIMOTO M, BRESCHI L, CARVALHO RM, ITO S (2004). Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*, **83**: 216-221.
- PATEL J, ANTHONAPPA RP, KING NM (2018). Evaluation of the staining potential of silver diamine fluoride: in vitro. *International Journal of Paediatric Dentistry*, **28**: 514-522.
- PAVAN S, XIE Q, HARA A, BEDRAN-RUSSO A (2011). Biomimetic approach for root caries prevention using a proanthocyanidin-rich agent. *Caries research*, **45**: 443-447.
- PENG JJ, BOTELHO MG, MATINLINNA JP (2012). Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. *J Dent*, **40**: 531-541.
- PENG JY, BOTELHO MG, MATINLINNA JP, PAN HB, KUKK E, LOW KJ (2021). Interaction of storage medium and silver diamine fluoride on demineralized dentin. *J Int Med Res*, **49**: 300060520985336.
- PHANTUMVANIT P, MAKINO Y, OGAWA H, RUGG-GUNN A, MOYNIHAN P, PETERSEN PE, EVANS W, FELDENS CA, LO E, KHOSHNEVISAN MH (2018). WHO global consultation on public health intervention against early childhood caries. *Community dentistry and oral epidemiology*, **46**: 280-287.
- PING Y, ZHANG J, XING T, CHEN G, TAO R, CHOO K-H (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using grape seed extract and their application for reductive catalysis of Direct Orange 26. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **58**: 74-79.
- POOLTHONG S. (1998). *Determination Of The Mechanical Properties Of Enamel Dentine And Cementum By An Ultra Micro-Indentation System* Sydney eScholarship. <http://hdl.handle.net/2123/4963>
- PRATI C, ZAMPARINI F, BOTTICELLI D, FERRI M, YONEZAWA D, PIATTELLI A, GANDOLFI MG (2020). The Use of ESEM-EDX as an Innovative Tool to Analyze the Mineral Structure of Peri-Implant Human Bone. *Materials (Basel, Switzerland)*, **13**: 1671.
- PRIMUS C (2017). Potassium iodide. The solution to silver diamine fluoride discoloration? *Adv. Dent. Oral Health*, **5**: 555655.
- PRIYA D, KARALE R, PRASHANTH BR, RAJ A, VATHSALA HEGGADE KN (2022). Effect of silver diamine fluoride, potassium iodide, and glutathione on micro-shear bond strength of glass ionomer cement to caries affected dentine. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, **40**: 62-66.
- PUGACH MK, STROTHER J, DARLING CL, FRIED D, GANSKY SA, MARSHALL SJ, MARSHALL GW (2009). Dentin caries zones: mineral, structure, and properties. *J Dent Res*, **88**: 71-76.
- PUNYANIRUN K, YOSPIBOONWONG T, KUNAPINUN T, THANYASRISUNG P, TRAIRATVORAKUL C (2018). Silver diamine fluoride remineralized artificial incipient caries in permanent teeth after bacterial pH-cycling in-vitro. *Journal of dentistry*, **69**: 55-59.
- PUWANAWIROJ A, TRAIRATVORAKUL C, DASANAYAKE AP, AUYYCHAI P (2018). Microtensile Bond Strength Between Glass Ionomer Cement and Silver Diamine Fluoride-Treated Carious Primary Dentin. *Pediatr Dent*, **40**: 291-295.
- QUOCK R, BARROS J, YANG S, PATEL S (2012). Effect of Silver Diamine Fluoride on Microtensile Bond Strength to Dentin. *Operative Dentistry*, **37**: 610-616.
- RAMS TE, SAUTTER JD, RAMÍREZ-MARTÍNEZ GJ, WHITAKER EJ (2020). Antimicrobial activity of silver diamine fluoride on human periodontitis microbiota. *Gen Dent*, **68**: 24-28.
- RICHARDS D (2017). The effectiveness of silver diamine fluoride in arresting caries. *Evid Based Dent*, **18**: 70.

- RIGAUD J, ESCRIBANO-BAILON MT, PRIEUR C, SOUQUET JM, CHEYNIER V (1993). Normal-phase high-performance liquid chromatographic separation of procyanidins from cacao beans and grape seeds. *Journal of Chromatography A*, **654**: 255-260.
- RONALD SAKAGUCHI, JACK FERRACANE, POWERS J. (2019). Chapter 1 - Role and Significance of Restorative Dental Materials. In R. SAKAGUCHI, J. FERRACANE, & J. POWERS (Eds.), *Craig's Restorative Dental Materials (Fourteenth Edition)* (pp. 1-3). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47821-2.00001-9>
- ROSENBLATT A, STAMFORD TC, NIEDERMAN R (2009). Silver diamine fluoride: a caries "silver-fluoride bullet". *J Dent Res*, **88**: 116-125.
- RUSSELL AD, HUGO WB (1994). Antimicrobial activity and action of silver. *Prog Med Chem*, **31**: 351-370.
- RYTÖMAA I, JÄRVINEN V, KANERVA R, HEINONEN OP (1998). Bulimia and tooth erosion. *Acta Odontol Scand*, **56**: 36-40.
- SAITO T, TOYOOKA H, ITO S, CRENSHAW MA (2003). In vitro study of remineralization of dentin: effects of ions on mineral induction by decalcified dentin matrix. *Caries Res*, **37**: 445-449.
- SAJJANHAR I, CHANDRA A, TIKKU A (2017). MATRIX METALLOPROTEINASES: ITS EFFECT ON DENTIN BONDING. *Journal of Biology and Nature*, **7**: 118-122.
- SANTANA FR, PEREIRA JC, PEREIRA CA, FERNANDES NETO AJ, SOARES CJ (2008). Influence of method and period of storage on the microtensile bond strength of indirect composite resin restorations to dentine. *Braz Oral Res*, **22**: 352-357.
- SANTIAGO BM, VENTIN DA, PRIMO LG, BARCELOS R (2005). Microhardness of dentine underlying ART restorations in primary molars: an in vivo pilot study. *Br Dent J*, **199**: 103-106.
- SARAGIH D, HERDA E, TRIAMININGSIH S (2017). The influence of topical application of grapeseed extract gel on enamel surface hardness after demineralization. *Journal of Physics: Conference Series*, **884**: 012017.
- SCHEFFEL DLS, CURY JA, TENUTA LMA, SCHEFFEL RH, PEREZ C, SOARES DG, BASSO FG, COSTA CAS, PASHLEY DH, HEBLING J (2020). Proteolytic activity, degradation, and dissolution of primary and permanent teeth. *Int J Paediatr Dent*, **30**: 650-659.
- SCHULEIN T (1994). Infection control for extracted teeth in the teaching laboratory. *Journal of dental education*, **58**: 411-413.
- SCHULTZ-HAUDT S, TAYLOR R, BRUDEVOLD F (1956). Silver nitrate treatment of proximal caries in primary molars. *J. Dent. Child*, **23**: 184-186.
- SELA-PASSWELL N, ROSENBLUM G, SHOHAM T, SAGI I (2010). Structural and functional bases for allosteric control of MMP activities: can it pave the path for selective inhibition? *Biochim Biophys Acta*, **1803**: 29-38.
- SELWITZ RH, ISMAIL AI, PITTS NB (2007). Dental caries. *The Lancet*, **369**: 51-59.
- SESEOGULLARI-DIRIHAN R, APOLLONIO F, MAZZONI A, TJADERHANE L, PASHLEY D, BRESCHI L, TEZVERGIL-MUTLUAY A (2016). Use of crosslinkers to inactivate dentin MMPs. *Dent Mater*, **32**: 423-432.
- SHAHMORADI M, BERTASSONI L, ELFALLAH H, SWAIN M. (2014). Fundamental Structure and Properties of Enamel, Dentin and Cementum. In (pp. 511-547). https://doi.org/10.1007/978-3-642-53980-0_17
- SHEIHAM A (2006). Dental caries affects body weight, growth and quality of life in pre-school children. *Br Dent J*, **201**: 625-626.
- SHI Y, SHEN D, ZHENG H, WU Z, SHAO C, ZHANG L, PAN H, TANG R, FU B (2019). Therapeutic Management of Demineralized Dentin Surfaces Using a Mineralizing Adhesive To Seal and Mineralize Dentin, Dentinal Tubules, and Odontoblast Processes. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **5**: 5481-5488.
- SHRIKHANDE AJ (2000). Wine by-products with health benefits. *Food Research International*, **33**: 469-474.
- SIDHU SK, NICHOLSON JW (2016). A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry. *J Funct Biomater*, **7**: 11
- SILVA AP, GONÇALVES RS, BORGES AF, BEDRAN-RUSSO AK, SHINOHARA MS (2015). Effectiveness of plant-derived proanthocyanidins on demineralization on enamel and dentin under artificial cariogenic challenge. *J Appl Oral Sci*, **23**: 302-309.

- SIRIPAMITDUL P, SIVAVONG P, OSATHANON T, PIANMEE C, SANGSAWATPONG W, BUNSONG C, NANTANAPIBOON D (2022). The Effects of Radiotherapy on Microhardness and Mineral Composition of Tooth Structures. *Eur J Dent*, **1**:10-22
- SOĞUR E, AKDENİZ, GÜNİZ B (2005). Dişhekimliğinde yeni bir görüntüleme teknolojisi: Optik koherens tomografisi (OCT). *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, **22**: 195-200.
- SØNJU CLASEN AB, OGAARD B, DUSCHNER H, RUBEN J, ARENDS J, SØNJU T (1997). Caries development in fluoridated and non-fluoridated deciduous and permanent enamel in situ examined by microradiography and confocal laser scanning microscopy. *Adv Dent Res*, **11**: 442-447.
- SOUZA-GABRIEL AE, SOUSA-NETO MD, SCATOLIN RS, CORONA SAM (2020). Durability of resin on bleached dentin treated with antioxidant solutions or lasers. *J Mech Behav Biomed Mater*, **104**: 103647.
- SPACCIAPOLI P, BUXTON D, ROTHSTEIN D, FRIDEN P (2001). Antimicrobial activity of silver nitrate against periodontal pathogens. *J Periodontal Res*, **36**: 108-113.
- SRIVASTAVA M, YELURI R (2021). The effect of 10% alpha-tocopherol solution and 5% grape seed extract on the microhardness and shear bond strength to bleached dentin. *Dent Res J (Isfahan)*, **18**: 54.
- STRIJP G, LOVEREN C (2018). No Removal and Inactivation of Carious Tissue: Non-Restorative Cavity Control. *Monogr Oral Sci*, **27**: 124-136.
- SUMIKAWA DA, MARSHALL G, GEE L, MARSHALL S (1999). Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatric dentistry*, **21**: 439-444.
- SURESH K, NAGARATHNA J (2011). Evaluation of shear bond strengths of fuji II and fuji IX with and without salivary contamination on deciduous molars-an In vitro study. *AOSR*, **1**: 139-145.
- TAJI S, SEOW WK (2010). A literature review of dental erosion in children. *Aust Dent J*, **55**: 358-367; quiz 475.
- TAKUMA S (1960). Electron microscopy of the structure around the dentinal tubule. *J Dent Res*, **39**: 973-981.
- TANAKA JL, MEDICI FILHO E, SALGADO JA, SALGADO MA, MORAES LC, MORAES ME, CASTILHO JC (2008). Comparative analysis of human and bovine teeth: radiographic density. *Braz Oral Res*, **22**: 346-351.
- TANG C-F, FANG M, LIU R-R, DOU Q, CHAI Z-G, XIAO Y-H, CHEN J-H (2013). The role of grape seed extract in the remineralization of demineralized dentine: Micromorphological and physical analyses. *Archives of Oral Biology*, **58**: 1769-1776.
- TANG CF, FANG M, LIU RR, DOU Q, CHAI ZG, XIAO YH, CHEN JH (2013). The role of grape seed extract in the remineralization of demineralized dentine: micromorphological and physical analyses. *Arch Oral Biol*, **58**: 1769-1776.
- TEDESCO M, CHAIN MC, BORTOLUZZI EA, DA FONSECA ROBERTI GARCIA L, ALVES AMH, TEIXEIRA CS (2018). Comparison of two observational methods, scanning electron and confocal laser scanning microscopies, in the adhesive interface analysis of endodontic sealers to root dentine. *Clin Oral Investig*, **22**: 2353-2361.
- TEN CATE ARNA. (2008). *Ten Cate's oral histology : development, structure, and function*. Mosby Elsevier. Issue 1
- TEN CATE JM (1994). In situ models, physico-chemical aspects. *Adv Dent Res*, **8**: 125-133.
- TEN CATE JM, DUIJSTERS PP (1982). Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res*, **16**: 201-210.
- TEN CATE JM, MUNDORFF-SHRESTHA SA (1995). Working Group Report 1: Laboratory Models for Caries (in Vitro and Animal Models). *Advances in Dental Research*, **9**: 332-334.
- THEOCHARIS AD, SKANDALIS SS, GIALELI C, KARAMANOS NK (2016). Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev*, **97**: 4-27.
- THOMPSON V, CRAIG RG, CURRO FA, GREEN WS, SHIP JA (2008). Treatment of deep carious lesions by complete excavation or partial removal: a critical review. *J Am Dent Assoc*, **139**: 705-712.
- TIMMS L, DEERY C, STEVENS C, RODD H (2020). COVID-2019–Time to Use Silver Diamine Fluoride for Caries Arrest in General Dental Practice? *Dental Update*, **47**: 662-668.
- TJÄDERHANE L, BUZALAF MAR, CARRILHO M, CHAUSSAIN C (2015). Matrix Metalloproteinases and Other Matrix Proteinases in Relation to Cariology: The Era of 'Dentin Degradomics'. *Caries Research*, **49**: 193-208.

- TJÄDERHANE L, CARRILHO MR, BRESCHI L, TAY FR, PASHLEY DH (2009). Dentin basic structure and composition—an overview. *Endodontic Topics*, **20**: 3-29.
- TORRES-MÉNDEZ F, MARTINEZ-CASTAÑON GA, TORRES-GALLEGOS I, ZAVALA-ALONSO NV, PATIÑO-MARIN N, NIÑO-MARTÍNEZ N, RUIZ F (2017). Effects of silver nanoparticles on the bonding of three adhesive systems to fluorotic enamel. *Dent Mater J*, **36**: 266-274.
- TSAO R (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, **2**: 1231-1246.
- TYMCZYNA-BOROWICZ B, NOWAK J, JARZĘBSKI M, KUCZUMOW A (2019). Elemental and chemical compounds study of enamel and dentine of porcine primary molar teeth. *X-Ray Spectrometry*, **48**: 169-177.
- UCHIL SR, SUPRABHA BS, SUMAN E, SHENOY R, NATARAJAN S, RAO A (2020). Effect of three silver diamine fluoride application protocols on the microtensile bond strength of resin-modified glass ionomer cement to carious dentin in primary teeth. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, **38**: 138.
- VALIZADEH S, KAMANGAR SSH, NEKOOFAR MH, BEHROOZIBAKHSH M, SHAHIDI Z (2022). Comparison of Dentin Caries Remineralization with Four Bioactive Cements. *Eur J Prosthodont Restor Dent*, **30**: 223-229.
- VAN DUKER M, HAYASHI J, CHAN DC, TAGAMI J, SADR A (2019). Effect of silver diamine fluoride and potassium iodide on bonding to demineralized dentin. *American Journal of Dentistry*, **32**: 143-146.
- VARONI E, IRITI M, RIMONDINI L (2012). Plant Products for Innovative Biomaterials in Dentistry. *Coatings*, **2**: 179-194.
- WADA M, KIDO H, OHYAMA K, ICHIBANGASE T, KISHIKAWA N, OHBA Y, NAKASHIMA M, KURODA N, NAKASHIMA K (2007). Chemiluminescent screening of quenching effects of natural colorants against reactive oxygen species: Evaluation of grape seed, monascus, gardenia and red radish extracts as multi-functional food additives. *Food Chemistry*, **101**: 980-986.
- WAGNER MH, DA ROSA RA, DE FIGUEIREDO JAP, DUARTE MAH, PEREIRA JR, SÓ MVR (2017). Final irrigation protocols may affect intraradicular dentin ultrastructure. *Clin Oral Investig*, **21**: 2173-2182.
- WALTER R, MIGUEZ PA, ARNOLD RR, PEREIRA PN, DUARTE WR, YAMAUCHI M (2008). Effects of natural cross-linkers on the stability of dentin collagen and the inhibition of root caries in vitro. *Caries Res*, **42**: 263-268.
- WANG Q-Q, ZHANG C-F, CHU C-H, ZHU X-F (2012). Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. *International Journal of Oral Science*, **4**: 19-23.
- WANG R, WEINER S (1998). Human root dentin: structural anisotropy and Vickers microhardness isotropy. *Connect Tissue Res*, **39**: 269-279.
- WATSON TF (1997). Fact and artefact in confocal microscopy. *Adv Dent Res*, **11**: 433-441.
- WEERHEIJM KL (2003). Molar incisor hypomineralisation (MIH). *Eur J Paediatr Dent*, **4**: 114-120.
- WHITE DJ, FALLER RV, BOWMAN WD (1992). Demineralization and remineralization evaluation techniques--added considerations. *J Dent Res*, **71 Spec No**: 929-933.
- WHITE SN, MIKLUS VG, CHANG PP, CAPUTO AA, FONG H, SARIKAYA M, LUO W, PAINE ML, SNEAD ML (2005). Controlled failure mechanisms toughen the dentino-enamel junction zone. *J Prosthet Dent*, **94**: 330-335.
- WIEGAND A, ATTIN T (2007). Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. *Occup Med (Lond)*, **57**: 169-176.
- WIESMANN HP, MEYER U, PLATE U, HÖHLING HJ (2005). Aspects of collagen mineralization in hard tissue formation. *Int Rev Cytol*, **242**: 121-156.
- WILLERSHAUSEN I, SCHULTE D, AZARIPOUR A, WEYER V, BRISEÑO B, WILLERSHAUSEN B (2015). Penetration potential of a silver diamine fluoride solution on dentin surfaces. An ex vivo study. *Clin Lab*, **61**: 1695-1701.
- WU DI, VELAMAKANNI S, DENISSON J, YAMAN P, BOYNTON JR, PAPAGERAKIS P (2016). Effect of silver diamine fluoride (SDF) application on microtensile bonding strength of dentin in primary teeth. *Pediatric Dentistry*, **38**: 148-153.
- WU DI, VELAMAKANNI S, DENISSON J, YAMAN P, BOYNTON JR, PAPAGERAKIS P (2016). Effect of Silver Diamine Fluoride (SDF) Application on Microtensile Bonding Strength of Dentin in Primary Teeth. *Pediatr Dent*, **38**: 148-153.

- XIE Q, BEDRAN-RUSSO AK, WU CD (2008). In vitro remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries. *J Dent*, **36**: 900-906.
- YAMAGA R (1969). Arrestment of caries of deciduous teeth with diamine silver fluoride. *Dent Outlook*, **33**: 1007-1013.
- YAMAGA R, NISHINO M, YOSHIDA S, YOKOMIZO I (1972). Diammine silver fluoride and its clinical application. *J Osaka Univ Dent Sch*, **12**: 1-20.
- YEE R, HOLMGREN C, MULDER J, LAMA D, WALKER D, VAN PALENSTEIN HELDERMAN W (2009). Efficacy of silver diamine fluoride for Arresting Caries Treatment. *J Dent Res*, **88**: 644-647.
- YI Q, FENG X, ZHANG C, WANG X, WU X, WANG J, CUI F, WANG S (2021). Comparison of dynamic mechanical properties of dentin between deciduous and permanent teeth. *Connect Tissue Res*, **62**: 402-410.
- YOKOYAMA K, KIMURA Y, MATSUMOTO K, FUJISHIMA A, MIYAZAKI T (2001). Preventive effect of tooth fracture by pulsed Nd:YAG laser irradiation with diamine silver fluoride solution. *J Clin Laser Med Surg*, **19**: 315-318.
- YOKOYAMA K, MATSUMOTO K, 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. *J Clin Laser Med Surg*, **18**: 9-14.
- YOUNG DA, QUOCK RL, HORST J, KAUR R, MACLEAN JK, FRACHELLA JC, DUFFIN S, SEMPRUM-CLAVIER A, FERREIRA ZANDONA AG (2021). Clinical Instructions for Using Silver Diamine Fluoride (SDF) in Dental Caries Management. *Compend Contin Educ Dent*, **42**: e5-e9.
- YU OY, MEI ML, ZHAO IS, LI Q-L, LO EC-M, CHU C-H (2018). Remineralisation of enamel with silver diamine fluoride and sodium fluoride. *Dental Materials*, **34**: e344-e352.
- ZEICHNER-DAVID M (2001). Is there more to enamel matrix proteins than biomineralization? *Matrix Biol*, **20**: 307-316.
- ZERO DT (1999). DENTAL CARIES PROCESS. *Dental Clinics of North America*, **43**: 635-664.
- ZHANG P, LI SX, ZHANG ZF (2011). General relationship between strength and hardness. *Materials Science and Engineering: A*, **529**: 62-73.
- ZHAO IS, CHU S, YU OY, MEI ML, CHU CH, LO ECM (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**: 341-347.
- ZHAO IS, GAO SS, HIRAISHI N, BURROW MF, DUANGTHIP D, MEI ML, LO EC-M, CHU C-H (2018). Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. *International Dental Journal*, **68**: 67-76.
- ZHAO IS, MEI ML, BURROW MF, LO EC-M, 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**: 340.
- ZHAO S, HUA F, YAN J, YANG H, HUANG C (2022). Effects of Plant Extracts on Dentin Bonding Strength: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Bioeng Biotechnol*, **10**: 836042.
- ZHENG FM, YAN IG, DUANGTHIP D, GAO SS, LO ECM, CHU CH (2022). Silver diamine fluoride therapy for dental care. *Japanese Dental Science Review*, **58**: 249-257.
- ZHENG L, HILTON JF, HABELITZ S, MARSHALL SJ, MARSHALL GW (2003). Dentin caries activity status related to hardness and elasticity. *Eur J Oral Sci*, **111**: 243-252.
- ZHI QH, LO EC, LIN HC (2012). Randomized clinical trial on effectiveness of silver diamine fluoride and glass ionomer in arresting dentine caries in preschool children. *J Dent*, **40**: 962-967.

EKLER

EK-1 Etik Kurul Onay Belgesi

 **T.C.**
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
Diş Hekimliği Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 

Konu : Etik Kurul Hk.
Sayı : [REDACTED] 03.02.2021

Sayın [REDACTED]
Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

[REDACTED] tarafından gönderilen "Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanımının Süt Dişi Dentin Çürük Lezyonlarında Remineralizasyon ve Restorasyonun Bağlanma Kuvvetine Etkilerinin Değerlendirilmesi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
Ankara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurul
Başkanı

Eki: 3 sayfa



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU



Sayfa Sayısı: 1/1

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI

Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin
Kombine Kullanımının Süt Dişi Dentin Çürük
Lezyonlarında Remineralizasyon ve Restorasyonun
Bağlanma Kuvvetine Etkilerinin Değerlendirilmesi

ETİK
KURUL
BİLGİLERİ

ETİK KURULUN ADI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AÇIK ADRESİ

A.Ü. DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ BEŞEVLER / ANKARA

TELEFON

2965737

FAKS

E-POSTA

BASVURU BİLGİLERİ

KOORDİNATÖR/SORUMLU
ARAŞTIRMACI
UNVANI/ADI/SOYADI

KOORDİNATÖR/SORUMLU
ARAŞTIRMACININ UZMANLIK
ALANI

KOORDİNATÖR/SORUMLU
ARAŞTIRMACININ
BULUNDUĞU MERKEZ
VARSA İDARİ SORUMLU
UNVANI/ADI/SOYADI

DESTEKLEYİCİ

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ
UNVANI/ADI/SOYADI
(TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan
dışarı çıkarmak için)

DESTEKLEYİCİNİN YASAL
TEMİLCİSİ

ARAŞTIRMANIN FAZİ VE
TÜRÜ

FAZ 1

☐

FAZ 2

☐

FAZ 3

☐

FAZ 4

☐

Gözlemsel ilaç çalışması

☐

Tıbbi cihaz klinik araştırması

In vitro tıbbi tanı cihazları ile

yapılan performans

değerlendirme çalışmaları

☐

İlaç dışı klinik araştırma

☒

İlaç Dışı Girişimsel Olmayan Çalışma

ARAŞTIRMAYA KATILAN
MERKEZLER

TEK MERKEZ
☒

ÇOK MERKEZLİ
☐

ULUSAL
☐

ULUSLARARASI
☐

Etik Kurul Başkanı

Unvanı/Adı/Soyadı

İmza:



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU



Sayfa Sayısı: 1/2

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI

Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanımının Süt Dişi Dentin Çürük Lezyonlarında Remineralizasyon ve Restorasyonun Bağlanma Kuvvetine Etkilerinin Değerlendirilmesi

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	03.02.2021	1	Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU				Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
OLGU RAPOR FORMU				Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ				Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama
	SİGORTA	☐
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐	
BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU	☐	
İLAN	☐	
YILLIK BİLDİRİM	☐	
SONUÇ RAPORU	☐	
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
DİĞER:		

KARAR BİLGİLERİ	Karar No	1
	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 toplanmaya 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:	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Murat AKKAYA	Periodontoloji	Ankara Üniv. Diş Hek. Fakültesi	E ☐	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Fatmagül ZIRAMAN	Endodonti	Ankara Üniv. Diş Hek. Fakültesi	E ☐	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Serpil ALTUNDOĞAN	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Ankara Üniv. Diş Hek. Fakültesi	E ☐	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Sadullah ÜÇTAŞLI	Protetik Diş Tedavisi	Ankara Üniv. Diş Hek. Fakültesi	E ☐	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Ufuk TOYGAR MEMİKOĞLU	Ortodonti	Ankara Üniv. Diş Hek. Fakültesi	E ☐	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Şaziye SARI	Pedodonti	Ankara Üniv. Diş Hek. Fakültesi	E ☐	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	

Etik Kurul Başkanı'nın

U

İmza:

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



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU



Sayfa Sayısı: 1/3

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanımının Süt Dişi Dentin Çürük Lezyonlarında Remineralizasyon ve Restorasyonun Bağlanma Kuvvetine Etkilerinin Değerlendirilmesi
-----------------------	---

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişki	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Adil NALÇACI	Diş Hastalıkları ve Tedavisi	Ankara Üniv. Diş Hek. Fakültesi	E ☐ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Mehmet Hakan KURT	Ağız Diş ve Çene Radyolojisi	Ankara Üniv. Diş Hek. Fakültesi	E ☐ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Bilge PEHLİVANOĞLU	Fizyoloji	Hacettepe Üniv. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Sevil ÖZGER İLHAN	Farmakoloji	Gazi Üniv. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Sevilay KARAHAN	Bioistatistik	Hacettepe Üniv. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Şafak PARLAK BÖRÜ	Hukuk	Ankara Üniv. Hukuk Fakültesi	E ☐ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Kimya Müh. Orhan YILMAZ	Bilgisayar	Ankara Üniv. Diş Hek. Fakültesi	E ☐ K ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	

*
:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı
İmza:

EK-2 Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formları

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda yürütülmekte olan "Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanımının Süt Dişi Dentin Çürük Lezyonlarında Remineralizasyon ve Restorasyonun Bağlanma Kuvvetine Etkilerinin Değerlendirilmesi" konulu araştırmaya çocuğunuzun katılmanız istenmektedir. Bu araştırma çekim kararı verilerek çekilmiş olan süt azı dişleri üzerinde yürütülecektir. Yapılan klinik ve radyolojik muayeneler sonucunda çocuğunuzun dişinin çekilmesine karar verildiği görülmektedir. Çocuğunuza ait bilgiler bu çalışma dışında başka hiçbir yerde herhangi bir amaçla kullanılmayacaktır. Bu çalışmada çocuğunuzun çekilen dişinin kullanılıp kullanılmaması kararı size ait olup, kabul etmemeniz durumunda çocuğunuzun çekilen dişi bu çalışmada kullanılmak üzere alınmayacaktır.

Bu çalışmada yer almayı kabul ediyorum. Çalışmanın amacı ve sonuçları Dt. Olgu Demirci tarafından bana aktarılmıştır.

Hasta

Ad-Soyad :

Tarih :

İmza :

EK-2 Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formları

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ÇOCUK ONAM FORMU

Sevgili,

Ben senin diş doktorun Olgu Demirci. Senin şu anda dişlerindeki çürükleri durdurmanı sağlayan ve dolgularının dişine daha iyi tutunmasını sağlayacak yöntemler üzerine araştırma yapıyorum. Araştırmamın adı 'Gümüş Diamin Florür ve Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Kombine Kullanımının Süt Dişi Dentin Çürük Lezyonlarında Remineralizasyon ve Restorasyonun Bağlanma Kuvvetine Etkilerinin Değerlendirilmesi''dir. Amacım çürüklerin tedavisinde en etkili ve kolay yollar konusunda bir rehber oluşturabilmek. Araştırma ile yeni bilgiler öğreneceğim. Bu araştırmaya katılmanı öneriyorum.

Eğer sen de bu araştırmaya katılmayı istersen şu anda çekilmesine karar verdiğimiz dişini çekeceğim ve onun üzerinde çalışmamı yapacağım. Dişini çekerken sana çok yardımcı olacağım ve sonrasında senden fikirlerini alacağım.

Bu araştırmanın sonuçları senin gibi dişlerinde çürük olan çocuklar için yararlı bilgiler sağlayacak ve bu sayede başka çocuklara ve ileride sana daha konforlu bir tedavi sağlayacağım. Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğim, sonuçları bildireceğim ama senin adını söylemeyeceğim.

Bu araştırmaya katılıp katılmamak için karar vermeden önce anne ve baban ile konuşup onlara danışmalısın. Onlara da bu araştırmadan bahsedip onaylarını/izinlerini alacağım. Anne ve baban tamam deseler bile sen kabul etmeyebilirsin. Bu araştırmaya katılmak senin isteğine

bağlı ve istemezsen katılmazsın. Bu nedenle hiç kimse sana kızmaz ya da k smez.  nce katılmayı kabul etsen bile sonradan vazgeçebilirsin, bu tamamen sana bağlı. Kabul etmediğin durumda da ben muayene ve diğer işlemlerde sana önceden olduğu gibi iyi davranacağım ve tedavini aynen s rd recekęim.

Aklına şimdi gelen veya daha sonra gelecek olan soruları istediğin zaman bana sorabilirsin. Telefon numaram ve adresim aşağıda yazıyor.

Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorsan aşağıya lütfen adını ve soyadını yaz ve imzanı at. İmzaladıktan sonra sana ve ailene bu formun bir kopyası verilecektir.

Çocuğun adı- soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı- soyadı:

Velisinin imzası:

Araştırıcının adı-soyadı, unvan: Dt. Olgu DEMİRCİ

Tarih:

Adres: Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı

Tel: 0312 296 5670

İmza: