

Farklı İçerikteki Çocuk Diş Macunlarının Yapay Çürük Oluşturulmuş Süt Dişi Minesinin Mikrosertliğine ve Yüzey Pürüzlülüğüne Etkisinin *In Vitro* Olarak Değerlendirilmesi

In Vitro Evaluation of the Effect of Children's Toothpastes with Different Ingredients on the Surface Microhardness and Surface Roughness of Artificial Caries of Primary Tooth Enamel

^{ID} Nazlıcan KAÇMAZ^a, ^{ID} Gizem YOĞURUCU DEĞERLİ^a, ^{ID} Ceyhan ALTUN^a

^aİstanbul Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Çocuk Diş Hekimliği AD, İstanbul, Türkiye

ÖZET Amaç: Bu çalışmanın amacı, florürlü çocuk diş macunlarına alternatif olarak üretilmiş farklı içerikli çocuk diş macunlarının remineralizasyon etkinliklerinin *in vitro* koşullarda karşılaştırılmasıdır. Bu çalışmanın literatüre katkısı, remineralizasyon etkinlikleri daha önce karşılaştırmalı olarak değerlendirilmemiş hidroksiapatit, propolis ve teobromin içeren çocuk diş macunlarının remineralizasyon etkinliğinin, kendi aralarında ve florürlü çocuk diş macunu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir. **Gereç ve Yöntemler:** Çürük, çatlak ve yapısal bozukluk bulunmayan 80 adet süt azı dişi %0,1 timol içeren distile su içerisinde bekletildi. Süt azı dişlerinden hazırlanan 80 adet mine örneği, 4 çalışma grubu (Zubio® Kids, Glimo® Alfa, B-Good Care®, Oral-B® Junior) ve 1 kontrol grubu (distile su) (n=8) olarak rastgele 5 gruba ayrıldı. Mine örnekleri 72 saat demineralizasyon solüsyonunda bekletilerek yapay çürük lezyonları oluşturuldu. Ardından 7 günlük pH siklusu boyunca örnekler, günde 6 saat pH 5,0 demineralizasyon solüsyonunda ve 18 saat pH 7,0 remineralizasyon solüsyonunda tutularak, günde 2 kez diş macunları ile fırçalandı. Diş macunlarının remineralizasyon etkinliği; yüzey mikrosertlik analizi, yüzey pürüzlülüğü analizi ve taramalı elektron mikroskobu analizi ile değerlendirildi. İstatistiksel analizde, varyans analizi, Tukey "post hoc" ve bağımlı örneklem t-testi kullanıldı. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. **Bulgular:** Fırçalama sonrası mikrosertlik değeri, distile su grubunda, diş macunu gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur (p<0,001). Florürlü diş macunu grubunda mikrosertlik değeri, diğer tüm diş macunu gruplarına göre anlamlı düzeyde daha yüksek saptanırken yüzey pürüzlülüğü değeri ise anlamlı düzeyde daha düşük saptanmıştır (p<0,001). **Sonuç:** Çalışmada, en yüksek remineralizasyon potansiyelini florürlü çocuk diş macunu sergilemiştir. Teobromin ve propolis içeren çocuk diş macunları benzer remineralizasyon etkisi göstermiştir.

ABSTRACT Objective: The aim of this study is to compare the remineralization efficacy of pediatric toothpastes with different compositions produced as alternatives to fluoridated pediatric toothpastes, under *in vitro* conditions. The contribution of this study to the literature is the comparative evaluation of the remineralization efficacy of pediatric toothpastes containing hydroxyapatite, propolis, and theobromine—whose remineralization effects have not previously been comparatively assessed—both among themselves and in comparison with a fluoridated pediatric toothpaste. **Material and Methods:** Eighty primary molar teeth without caries, cracks, or structural defects were stored in distilled water containing 0.1% thymol. Eighty enamel samples prepared from the primary molars were randomly divided into five groups: four study groups (Zubio® Kids, Glimo® Alfa, B-Good Care®, Oral-B® Junior) and one control group (distilled water) (n=8). Artificial carious lesions were created by immersing the enamel samples in a demineralization solution for 72 hours. Subsequently, during a 7-day pH cycling period, the samples were kept in a demineralization solution (pH 5.0) for 6 hours per day and in a remineralization solution (pH 7.0) for 18 hours per day, and were brushed twice daily with the toothpastes. The remineralization efficacy of the toothpastes was evaluated using surface microhardness analysis, surface roughness analysis, and scanning electron microscopy. Statistical analysis included analysis of variance (ANOVA), Tukey post hoc test, and paired sample t-test. A p-value of <0.05 was considered statistically significant. **Results:** After brushing, the microhardness value in the distilled water group was statistically significantly lower than in the toothpaste groups (p<0.001). The microhardness value in the fluoridated toothpaste group was found to be significantly higher than in all other toothpaste groups, while the surface roughness value was significantly lower (p<0.001). **Conclusion:** In this study, the fluoridated pediatric toothpaste exhibited the highest remineralization potential. Pediatric toothpastes containing theobromine and propolis demonstrated similar remineralization effects.

Anahtar Kelimeler: Demineralizasyon; remineralizasyon; diş macunu

Keywords: Demineralization; remineralization; toothpaste

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:

Kaçmaz N, Yoğurucu Değerli G, Altun C. Farklı içerikteki çocuk diş macunlarının yapay çürük oluşturulmuş süt dişi minesinin mikrosertliğine ve yüzey pürüzlülüğüne etkisinin *in vitro* olarak değerlendirilmesi. Türkiye Klinikleri J Dental Sci. 2026;32(2):351-60.

Correspondence: Nazlıcan KAÇMAZ

İstanbul Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Çocuk Diş Hekimliği AD, İstanbul, Türkiye

E-mail: nazkacmaz@gmail.com



Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Dental Sciences.

Received: 30 May 2025

Received in revised form: 27 Dec 2025

Accepted: 06 Feb 2026

Available online: 10 Apr 2026

2146-8966 / Copyright © 2026 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Diş çürüğü, her yaş grubunu etkileyebilen yaygın, multifaktöriyel ve enfeksiyöz bir hastalıktır.¹ Mikrobiyal dental plak içerisindeki mikroorganizmalar tarafından diyet karbonhidratlarının fermente edilmesiyle açığa çıkan asidik yan ürünler diş sert dokularında mineral kaybına, demineralizasyona yol açmaktadır. Demineralizasyonun ilk klinik bulgusu olan opak beyaz nokta lezyonları, çürüğün erken evresi olarak kabul edilmektedir. Başlangıç çürük lezyonları, mine tabakası ile sınırlı kalmaktadır. Bu aşamada müdahale edildiğinde, remineralizasyon ile geri döndürülebilir olmaktadır. Demineralizasyon süreci, sağlam mine dokusunun altında da devam edebilmektedir. Bu süreç ilerlediğinde, sert dokuların kaybı ile çeşitli düzeylerde kavitasyon oluşabilmektedir.² Süt dişleri daimî dişlere kıyasla daha az inorganik içeriğe, daha fazla organik içeriğe sahip olması, daimî dişlerin yarısı kadar mine kalınlığına sahip olması gibi özellikleri sebebiyle çürük oluşumuna daha yatkın olmaktadır.^{3,4} Bu sebeple çocuklarda, başlangıç çürük lezyonlarının kontrol altına alınması önem taşımaktadır.¹ Plak kontrolünde en etkili yöntemler arasında diş fırçalama ve diğer mekanik temizlik araçları yer almaktadır.⁵ Çürüğün önlenmesinde ise mekanik temizlik yöntemlerine ek olarak antikaryojenik ajanların birlikte kullanılması gerekli olmaktadır.⁶ Günümüzde florür; demineralizasyonu engellemesi, remineralizasyon sağlaması, mikrobiyal dental plak oluşumunu engellemesi, plak içindeki mikroorganizmaların asit oluşturmasını engellemesi, florapatit oluşturarak kalsiyum ve fosfat iyonlarının lezyon gövdesine çökmesini sağlaması gibi etkileri nedeniyle çürük önleyici ajan olarak altın standart kabul edilmektedir.⁷ Uygun koşullar altında ve ideal dozlarda uygulanmadığında toksik etki göstererek dental florozise, sindirim bozukluklarına ve benzer yan etkilere sebep olan ve ileri lezyonlarda sınırlı etki gösteren florüre alternatif remineralizasyon ajanları araştırılmaktadır.⁸ Teobromin ve propolis gibi doğal içerikli ajanlar ve hidroksiapatit, florürün remineralizasyon etkisine benzer ya da destekleyici etkiler gösterebilecek potansiyel ajanlar arasında yer almaktadır. Hidroksiapatit, mine dokusunun ana yapısını oluşturan kristallere benzer yapı göstererek yüzeyin yeniden mineralizasyonuna katkı sağlamaktadır.⁹ Teobromin, kakao bitkisinden elde

edilen metilksantin türevi bir ajan olup, hidroksiapatit kristallerinin büyüklüğünü ve yoğunluğunu artırarak dişin çözünürlüğünü azaltıp mine sertliğini artırabilmektedir.¹⁰ Propolis ise antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri sayesinde oral patojenlerin aktivitesini azaltarak çürük gelişimini yavaşlatabileceği gibi remineralizasyon sürecini de destekleyebilen toksisitesi düşük doğal bir ajandır.¹¹ Bu çalışmanın amacı, son yıllarda florürlü diş macunlarına alternatif olarak üretilen hidroksiapatit, propolis, teobromin içeren çocuk diş macunlarının ve florürlü çocuk diş macununun süt dişlerinde oluşturulan yapay başlangıç lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkinliğinin; yüzey mikrosertlik analizi ve yüzey pürüzlülüğü analizi ile kantitatif olarak ve taramalı elektron mikroskobu [scanning electron microscopy (SEM)] ile kalitatif olarak *in vitro* koşullarda karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir. Bu çalışma, daha önce yapılmış benzer remineralizasyon çalışmaları bulursa da yeni formüle edilmiş ve literatürde daha önce incelenmemiş markalardaki hidroksiapatit, propolis ve teobromin içerikli çocuk diş macunlarının süt dişi minesinin remineralizasyonu üzerindeki etkilerini karşılaştırarak literatüre özgün bir katkı sağlamaktadır.¹² Daha önce bu 4 içerikli çocuk diş macununun karşılaştırıldığı sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.¹³ Çalışmanın süt dişleri üzerinde yürütülmüş olması, çoğu araştırmanın daimî veya sığır dişleriyle yapılmış olmasına kıyasla klinik geçerliliği artırmakta; uzun süreli pH siklusu ile gerçekleştirilen *in vitro* model ise farklı macun içeriklerinin remineralizasyon potansiyelini gerçek ağız ortamına en yakın koşullarda değerlendirme olanağı sunmaktadır.¹⁴

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Helsinki Deklarasyonu prensiplerinin yönergelerine uygun olarak yürütülmüş olup, İstanbul Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulundan etik onay alınarak yapılmıştır (tarih: 19 Şubat 2025; no: 2025/04-01). Çalışmanın yürütülmesinde “Checklist for Reporting In-vitro Studies (CRIS)” kılavuzu dikkate alınmıştır.¹⁵ Çalışmanın yüzey mikrosertliği ve yüzey pürüzlülüğü analizleri Yeditepe Üniversitesi Diş

Hekimliği Fakültesi Sert Doku Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın taramalı elektron mikroskopu analizi Yıldız Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Örneklem büyüklüğü; 0,597 etki büyüklüğü, %5 hata payı ve %95 güç kullanılarak bir yazılım programı ile [G*Power 3.1.9.7 (Heinrich Heine Üniversitesi, Almanya)] toplamda en az 60 olarak hesaplandı. Dişler toplanmadan önce hasta velilerinden bilgilendirilmiş onam formu alındı. Çürük, çatlak, kırık ve yapısal bozukluk bulunmayan 80 adet süt azı dişi toplanıp deney başlayana kadar %0,1'lik timol eklenmiş distile su içerisinde bekletildi.¹⁶ Seksen adet süt azı dişi mikrosertlik ve yüzey pürüzlülüğü ölçümü için rastgele 2 gruba ayrıldı. Kırk mine örneğinden mikrosertlik ölçümü, 40 mine örneğinden yüzey pürüzlülüğü ölçümü yapılacağından n=8 olacak şekilde örnekler 5 gruba ayrıldı. Çalışmadaki tüm analizler başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası olmak üzere 3 aşamada yapıldı.

Grup 1: Zubio® Kids (Dar Kozmetik Tic. Ltd. Şti., Türkiye) çocuk diş macunu

Grup 2: Glimo® Alfa (Haltron İlaç, Türkiye) çocuk diş macunu

Grup 3: B-Good Care® (Honnes Sağlık ve Endüstriyel Ürünler A.Ş., Türkiye) çocuk diş macunu

Grup 4: Oral-B® Junior (Procter & Gamble, Ohio, ABD) çocuk diş macunu

Negatif Kontrol Grubu: Distile su

Toplanan süt dişlerinin kuronları, kök kısımlarından mikromotor ve piyasemene takılan bir separe yardımıyla ayrıldı. Dişlerin üzerindeki yumuşak doku artıkları, periodontal küret ve polisaj lastiği kullanılarak uzaklaştırıldı ve dişler akan su altında yıkandı. Dişlerin bukkal yüzeyleri üstte kalacak şekilde metal standart halkalara akrilik ile gömüldü.¹⁷ Mine örnekleri, akriliğe gömülüp hazırlandıktan sonra 600-800-1200 grit silikon karbit zımparalar 90°'lik açıyla 600 rpm hızda döndürülerek, zımpara cihazında parlatma işlemi yapıldı.¹⁸ Mine yüzeylerinde, 4x3 mm boyutlarda bir alan belirlenerek adeziv bant yapıştırılıp kurşun kalemle işaretlendi ve işaretlenen alan dışında kalan yüzey şeffaf oje ile 2 kat cilalandı.¹⁹

Çalışmamızda, mine örneklerinde yapay çürük oluşturmak için demineralizasyon solüsyonu kullanıldı. Her bir numune yapay başlangıç lezyonu oluşturma amacıyla 72 saat 37 °C'lik etüvde ayrı kaplarda 8 mL solüsyon içerisinde bekletildi.¹⁹ Çalışmada, yapay çürük oluşturma amacıyla kullanılan demineralizasyon solüsyonu; 2,2 mM CaCl₂, 2,2 mM NaH₂PO₄, 0,05 M asetik asit ve 1 M KOH ile pH'ı 4,4 olacak şekilde ayarlandı.²⁰

Çalışmamızın pH siklusu aşamasında kullanılan demineralizasyon solüsyonu; 1,5 mM CaCl₂, 0,9 mM KH₂PO₄, 50 mM asetik asit ile pH'ı 5,0 olacak şekilde ayarlandı. Çalışmamızın pH siklusu aşamasında kullanılan remineralizasyon solüsyonu; 1,5 mM CaCl₂, 0,9 mM KH₂PO₄, 130 mM KCl ve 100 mM tris ile pH'ı 7,0 olarak ayarlandı. Demineralizasyon sonrası analizleri gerçekleştirilmiş mine örnekleri, 7 gün pH siklusuna tabi tutuldu.²⁰ Günde 6 saat pH'ı 5,0 olan demineralizasyon solüsyonunda ve ardından 18 saat pH'ı 7,0 olan remineralizasyon solüsyonunda tutulan mine örnekleri, 7 gün boyunca fırçalama düzeninde Oral-B® Pro Battery Cars (Procter & Gamble, Ohio, ABD) pilli çocuk diş fırçasıyla günde 2 defa 2 dk çalışma gruplarındaki ajanlar ile fırçalanıp, distile su ile durulandıktan sonra tekrar solüsyona daldırıldı.²⁰ Güç kaybını önlemek amacıyla diş fırçasının pilleri her gün yenilendi ve her mine örneği için yeni bir fırça başlığı kullanıldı. Fırçalama işlemi başlamadan önce diş macunları her gün taze olarak 1:3 oranında distile su ile seyreltildi ve homojen bir karışım elde etmek amacıyla 3 dk süreyle tüp karıştırıcı ile karıştırıldı.²¹

Deneyin yüzey mikrosertliği ve yüzey pürüzlülüğü analizi için kırkar adet mine örneği kullanıldı. Kırk adet sağlam mine örneğinin başlangıç, demineralizasyon sonrası ve pH siklusu sonrası yüzey mikrosertliği analizi, Buehler Micromet 5114D (Buehler®, Illinois, ABD) vickers elmas uçlu mikrosertlik cihazında yapıldı. Örnekler, cihaz üzerindeki tablaya mine yüzeyleri yukarı bakacak şekilde yerleştirildi. On beş sn boyunca 50 gr kuvvet uygulanarak, elmas uç girintisinin oluşturduğu çentiğin diyagonal uzunluğu cihaza bağlı mikroskop ile ölçüldü.²² Her bir mine yüzeyinin 3 farklı noktasından ölçüm yapılarak ortalaması alınarak yüzey mikrosertlik değerleri elde edildi. Kırk adet

mine örneğinin başlangıç, demineralizasyon sonrası ve pH siklusu sonrası yüzey pürüzlülüğü analizi, Mahr Perthometer M1 (Mahr®, Almanya) kontakt profilometre cihazı ile mine örneğinin 3 ayrı noktasından ölçülerek gerçekleştirildi. Ölçümlerin ortalaması alınarak yüzey pürüzlülüğü değerleri elde edildi.

Her gruptan rastgele seçilen mine örnekleri, SEM’de analiz edildi. Her örnekten x500, x2.500, x5.000 ve x10.000 büyütmelemlerde SEM görüntüleri elde edildi. Örnekler, analiz öncesi iletken hâle getirilmesi için kaplama cihazında vakumlu ortamda platin ile kaplandı.²³

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 25.0 (IBM Corporation, New York, ABD) programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu, histogram grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Tanımlayıcı analizler sunulurken, ortalama, standart sapma değerleri kullanıldı. Ölçülen değerler gruplar arasında karşılaştırılırken, varyans analizi testi, “post hoc” analizde ise Tukey testi kullanıldı. Ölçülen değerlerin grup içindeki değişimlerinin analizinde, bağımlı örneklem t-testi kullanıldı. p değerinin 0,05’in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

BULGULAR

YÜZEY MİKROSERTLİĞİ VE YÜZEY PÜRÜZLÜLÜĞÜ BULGULARI

Grupların başlangıç mikrosertlik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (p: 0,531) (Tablo 1). Fırçalama sonrası mikrosertlik

değeri, distile su (276,85±2,73) grubunda diş macunu gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha düşüktür (p<0,001). Oral-B Junior grubunda fırçalama sonrası mikrosertlik değeri diğer diş macunlarına göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha yüksektir (p<0,001). Zubio Kids grubunda fırçalama sonrası mikrosertlik değeri Glimo Alfa, B-Good Care gruplarına göre anlamlı seviyede daha düşüktür (p<0,001). Glimo Alfa ve B-Good Care gruplarının fırçalama sonrası mikrosertlik değerleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Tablo 2).

Gruplar arasında başlangıç ve demineralizasyon sonrası yüzey pürüzlülüğü değerlerinde anlamlı fark bulunmamıştır (p: 0,382 p: 0,251) (Tablo 3). Fırçalama sonrası yüzey pürüzlülüğü değeri, diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha düşük bulunmuştur (p<0,001) (Tablo 4).

Demineralizasyon sonrası ve fırçalama sonrası mikrosertlik geri kazanımı ve yüzey pürüzlülüğü değerlerindeki değişim yüzdeleri gruplar arasında ikili olarak karşılaştırılmıştır.

Distile su ve Zubio Kids gruplarının fırçalama sonrası mikrosertlik değerinin demineralizasyon sonrası mikrosertlik değerine göre artış yüzdesi Oral-B Junior, Glimo Alfa ve B-Good Care gruplarına göre anlamlı seviyede daha düşüktür ve distile su ve Zubio Kids gruplarının mikrosertlik geri kazanım yüzdeleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Oral-B Junior grubunun mikrosertlik geri kazanım yüzdesi Glimo Alfa ve B-Good Care gruplarına göre anlamlı seviyede daha yüksektir. Glimo Alfa ve B-Good Care gruplarının mikrosertlik geri kazanım yüzdeleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Distile su grubunun fırçalama sonrası yüzey pürüzlülüğü değeri,

TABLO 1: Gruplara göre ortalama başlangıç, demineralizasyon sonrası ve fırçalama sonrası yüzey mikrosertlik değerleri

Mikrosertlik	Başlangıç	Demineralizasyon sonrası	Fırçalama sonrası	p değeri ¹
Distile su	347,58±3,95	266,77±2,41	276,85±2,73	<0,001
Oral-B Junior	347,88±2,33	266,46±4,27	321,84±2,28	<0,001
Glimo Alfa	348,41±3,87	270,00±3,23	302,65±4,98	<0,001
Zubio Kids	349,92±2,28	272,04±2,78	284,16±4,01	<0,001
B-Good Care	347,61±2,43	272,83±2,14	301,7±5,91	<0,001
p değeri ²	0,531	<0,001	<0,001	

¹Tekrarlayan ölçümler analizi; ²Varyans analizi

TABLO 2: Tüm grupların başlangıç, demineralizasyon sonrası ve fırçalama sonrası yüzey mikrosertlik değerlerinin ikili karşılaştırması

Mikrosertlik	Başlangıç	Demineralizasyon sonrası	Fırçalama sonrası
Distile su/Oral-B Junior	1,000	1,000	<0,001
Distile su/Glimo Alfa	0,982	0,238	<0,001
Distile su/Zubio Kids	0,555	0,012	0,011
Distile su/B-Good Care	1,000	0,003	<0,001
Oral-B Junior/Glimo Alfa	0,997	0,164	<0,001
Oral-B Junior/Zubio Kids	0,678	0,007	<0,001
Oral-B Junior/B-Good Care	1,000	0,002	<0,001
Glimo Alfa/Zubio Kids	0,862	0,671	<0,001
Glimo Alfa/B-Good Care	0,985	0,361	0,991
Zubio Kids/B-Good Care	0,569	0,985	<0,001

Tukey çoklu karşılaştırma testi

TABLO 3: Gruplara göre ortalama başlangıç, demineralizasyon sonrası ve fırçalama sonrası yüzey pürüzlülüğü değerleri

Yüzey pürüzlülüğü	Başlangıç	Demineralizasyon sonrası	Fırçalama sonrası	p değeri ¹
Distile su	0,061±0,007	0,219±0,012	0,226±0,013	<0,001
Oral-B Junior	0,062±0,009	0,230±0,013	0,178±0,006	<0,001
Glimo Alfa	0,063±0,008	0,225±0,009	0,210±0,017	<0,001
Zubio Kids	0,081±0,049	0,230±0,015	0,212±0,010	<0,001
B-Good Care	0,062±0,009	0,230±0,009	0,198±0,004	<0,001
p değeri ²	0,382	0,251	<0,001	

¹Tekrarlayan ölçümler analizi; ²Varyans analizi**TABLO 4:** Tüm grupların başlangıç, demineralizasyon sonrası ve fırçalama sonrası yüzey pürüzlülüğü değerlerinin ikili karşılaştırması

Yüzey pürüzlülüğü	Başlangıç	Demineralizasyon sonrası	Fırçalama sonrası
Distile su/Oral-B Junior	1,000	0,326	<0,001
Distile su/Glimo Alfa	1,000	0,773	0,052
Distile su/Zubio Kids	0,449	0,330	0,085
Distile su/B-Good Care	1,000	0,326	<0,001
Oral-B Junior/Glimo Alfa	1,000	0,940	<0,001
Oral-B Junior/Zubio Kids	0,466	1,000	<0,001
Oral-B Junior/B-Good Care	1,000	1,000	0,008
Glimo Alfa/Zubio Kids	0,562	0,942	0,999
Glimo Alfa/B-Good Care	1,000	0,940	0,212
Zubio Kids/B-Good Care	0,473	1,000	0,139

Tukey çoklu karşılaştırma testi

rinde, demineralizasyon sonrası yüzey pürüzlülüğü değerine göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış görülürken, diğer gruplarda anlamlı seviyede azalma görülmüştür. Oral-B Junior grubunun yüzey pürüzlülüğündeki azalma yüzdesi Glimo Alfa, Zubio Kids ve B-Good Care gruplarına göre anlamlı seviyede daha fazladır. Glimo Alfa, Zubio Kids ve B-

Good Care gruplarının yüzey pürüzlülüğü azalma yüzdeleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Tablo 5).

TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU BULGULARI
SEM analizinde, standardizasyonun sağlanabilmesi amacıyla her gruptan rastgele bir örnek seçilmiştir.

TABLO 5: Yüzey pürüzlülüğü değişim ve mikrosertlik geri kazanım yüzdelilerinin gruplar arası karşılaştırılması

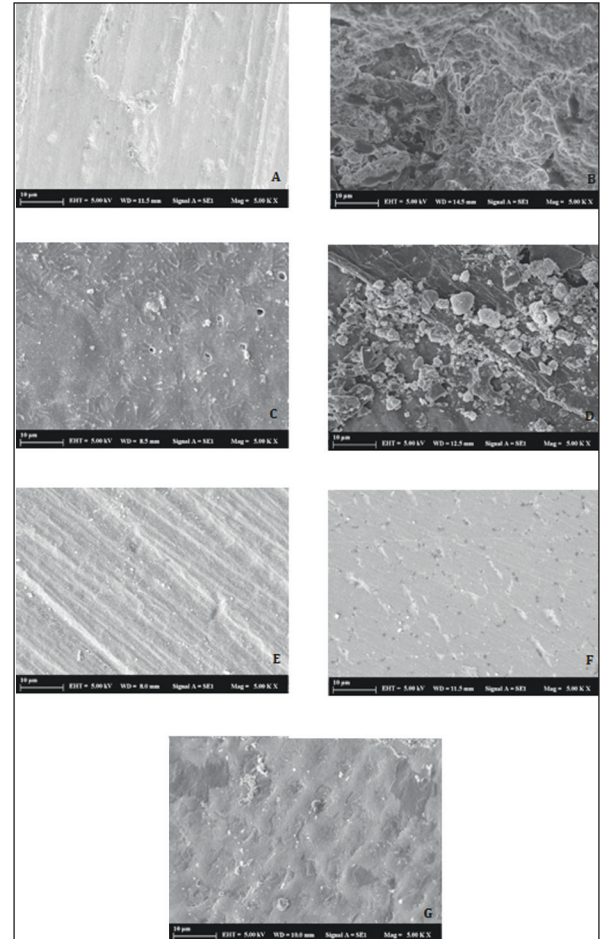
	Yüzey pürüzlülüğü	Mikrosertlik
Distile su/Oral-B Junior	<0,001	<0,001
Distile su/Glimo Alfa	0,002	<0,001
Distile su/Zubio Kids	0,001	0,925
Distile su/B-Good Care	<0,001	<0,001
Oral-B Junior/Glimo Alfa	<0,001	<0,001
Oral-B Junior/Zubio Kids	<0,001	<0,001
Oral-B Junior/B-Good C.	0,016	<0,001
Glimo Alfa/Zubio Kids	0,996	<0,001
Glimo Alfa/B-Good Care	0,090	0,389
Zubio Kids/B-Good Care	0,188	<0,001

Varyans analizi/Tukey çoklu karşılaştırma testi

Şekil 1A'da sunulan ilk SEM görüntüsü, herhangi bir demineralizasyon veya remineralizasyon işlemi uygulanmamış, deney öncesinde rastgele seçilmiş sağlam mine yüzeyine aittir. Bu görüntü, diğer gruplarla karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla referans (baseline) olarak kullanılmıştır. Tüm SEM görüntüleri, aynı büyütme oranı ve aynı cihaz ayarları kullanılarak elde edilmiştir.

Çalışmanın SEM analizi görüntüleri **Şekil 1**'de verilmiştir. **Şekil 1A**'da herhangi bir işlem uygulanmamış, deney öncesinde rastgele seçilmiş sağlam mine yüzeyi görüntüsü yer almakta olup, bu görüntü diğer gruplar için referans olarak kullanılmıştır. Sağlam mine görüntülerinde, pürüzsüz ve bütünlüğü korunmuş bir mine yüzeyi izlenmiştir. Demineralizasyon sonrası mine örneğinin SEM analizinde, lezyonlu mine belirgin şekilde düzensiz ve pürüzlü bir yüzey görünümündedir (**Şekil 1B**). Mine prizmalarındaki bozulmalar tüm yüzeyde homojen olmayıp, bazı bölgelerde daha geniş çukurcuklar bulunmaktadır. Zubio Kids hidroksiapatitli çocuk diş macunu ile fırçalanmış mine yüzeyinde demineralizasyon sonrası oluşan porözitelerin kapanmadığı ve homojen olmayan çökeltiler görülmüştür (**Şekil 1C**). Glimo Alfa propolisli çocuk diş macunu ile fırçalanmış örnekte, yüzeyin farklı bölgelerinde homojen olmayan birikintiler olduğu gözlenmiştir. Tüm mine yüzeyi örtülenmemiştir (**Şekil 1D**). B-Good Care teobrominli çocuk diş macunu ile fırçalanmış örnekte, florürlü diş macunu grubuna benzer şekilde

yüzeyin iyi örtüldüğü görülmüştür. Yine yüzeydeki kalsifiye çöküntüler florür grubu mine örneğinin yüzeyine benzer şekildedir. Bu grupta yüzeyde görülmelenen tortuların, remineralizasyon solüsyonunun etkisiyle kalsiyum ve fosfat iyonlarının yeniden çökmesi ile oluştuğu düşünülmektedir (**Şekil 1E**). Oral-B Junior 1450 ppm florürlü çocuk diş macunu ile fırçalanmış örnekte, porözitelerin tıkanıdığı düz bir mine yüzeyi izlenmiştir. Mine yüzeyinde izlenen farklı boyutlardaki tortu şeklinde küresel oluşumların kalsiyum florürden oluştuğu düşünülmektedir (**Şekil 1F**). Negatif kontrol grubu olan distile su ile fırçalanmış mine örneği, homojen olmayan bulutumsu bir yüzey görüntüsüne sahiptir (**Şekil 1G**).



ŞEKİL 1: A) Sağlam mine yüzeyi; B) Demineralize mine yüzeyi; C) Zubio® Kids ile fırçalanmış mine yüzeyi; D) Glimo® Alfa ile fırçalanmış mine yüzeyi; E) B-Good Care® ile fırçalanmış mine yüzeyi; F) Oral-B® Junior ile fırçalanmış mine yüzeyi; G) Distile su ile fırçalanmış mine yüzeyi x5.000 büyütmedeki SEM görüntüsü

TARTIŞMA

Çalışma, kullanılan ajanların saf etkisini gösterebilmesi için tüm gruplarda şartların standardize edilebilmesi ve remineralizasyonu etkileyen faktörlerin kontrol altına alınabilmesi amacıyla *in vitro* yürütülmüştür.²⁴ Süt dişleri, çocukluk çağı çürüklerinin araştırıldığı çalışmalar için güvenilir bir substrat olduğundan süt dişi tercih edilmiştir.²⁵ *In vitro* çalışmalarda, prizmatik tabakayı korumak doğal mineyi daha iyi yansıtırsa da düzensiz oluşu ve florür içeriğinin bölgesel su florürlenmesine göre farklılık göstermesi sebebiyle araştırma sonuçlarında tutarsızlığa sebep olabileğinden, çalışmamızda kullanılan mine örnekleri sırasıyla 600-800-1200 grit silikon karbitle 600 rpm hızda döndürülerek 5 sn boyunca zımparalanmıştır.¹⁶ ten Cate ve Duijsters'in tanımladığı bir pH siklusu modeline göre 1,5 mM Ca (CaCl₂), 0,9 mM PO₄³⁻ (KH₂PO₄), 0,05 M asetik asit içererek pH'ı 5,0'de tutulan demineralizasyon solüsyonunda örnekler 6 saat tutulup, 1,5 mM Ca ve 0,9 mM PO₄³⁻ 130-150 mM KCl ve 100 mM tris veya 20 mM kaskodilat tamponu içererek pH'ı 7,0'de tutulan remineralizasyon solüsyonunda ise örnekler günün geri kalanında tutulmuştur. Çalışma grubundaki ajan ile fırçalama işlemleri düşünülürse bu süre yaklaşık 18 saat olmaktadır.²⁰ Çalışmamızda kullanılan solüsyonların içeriği, pH'ı ve maruz bırakılma süreleri için bu model baz alınmıştır.²⁰ Yapılan çalışmalar, 7 günden uzun süren pH siklusunda süt dişlerinde meydana gelen çürük lezyonunun dişin analizi yapılamayacak kadar geniş ve yıkıcı olduğunu bildirmiştir. Süt dişlerinde yıkıcı bir lezyon oluşturmamak için pH siklusu 7 gün ile sınırlı tutulmuştur.²⁶ Klinik olarak diş macunları, ağızdaki tükürük ile beraber seyrelmektedir. Çalışmamızda kullanılan diş macunları, fırçalamaya başlamadan önce her gün taze olarak Mehta ve ark. önerdiği gibi 1:3 oranında distile su ile seyreltilmiştir.²¹ Fırçalama için *in vivo* şartları taklit edebilmek, standardizasyon sağlamak, mine yüzeylerine gelen kuvveti kontrol edebilmek ve aşınmaya sebep olmamak için fırçalama düzeneği kurulmuş ve elektrikli diş fırçası tercih edilmiştir.²⁷ Çalışmamızda, 1450 ppm florür içeren diş macunu, hidroksiapatit içeren diş macununa kıyasla daha yüksek remineralizasyon etkisi göstermiştir. Bu bulgu, Chandru ve

ark.nın çalışmasıyla paralellik göstermektedir.²⁸ Ancak Tschoppe ve ark., Grewal ve ark. ile Bossù ve ark.nın çalışması ile örtüşmemektedir.²⁹⁻³¹ Bu çalışmalarda yapılan SEM ve mikrosertlik analizlerine göre nanohidroksiapatit içeren diş macunlarının, florür içeren diş macunlarına göre daha üstün remineralizasyon etkisi gösterdiği bildirilmiştir. Huang ve ark.nın sığır dişlerindeki başlangıç çürük lezyonlarında %10'luk nanohidroksiapatit ve mikro hidroksiapatitin remineralizasyon potansiyelini karşılaştırdığı çalışmada; nano boyuttaki hidroksiapatitin remineralizasyon etkisinin mikro boyuttaki hidroksiapatite göre daha fazla olduğu bildirilmiştir.¹⁹ Çalışmamızda kullanılan hidroksiapatitli diş macununun mikro boyutta hidroksiapatit içermesi, remineralizasyon etkisinin diğer diş macunlarına göre düşük bulunmasının nedenlerinden olabileceği düşünülmektedir. Vyavhare ve ark., Kazein Fosfopeptit - Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP), %10 nanohidroksiapatit ve 1000 ppm florür içeren remineralizasyon ajanlarının ve negatif kontrol grubu olarak distile suyun başlangıç çürük lezyonu üzerindeki remineralizasyon etkinliğini Vickers mikrosertlik ve SEM analizi ile değerlendirdikleri çalışmada remineralizasyon sonrası mikrosertlik geri kazanımının; nanohidroksiapatit ve florür grubunda, CPP-ACP grubundan anlamlı seviyede daha fazla olduğunu, ancak 2 grup arasında anlamlı bir fark bulunmadığı belirtilmiştir. Her gruptan seçtikleri 1 örneğe yaptıkları SEM analizinde, başlangıç ölçümünde pürüzsüz olan mine yüzeyinin demineralizasyon sonrasında belirgin şekilde artmış porözitelere sahip olduğunu, CPP-ACP grubunda yüzeyde düzelme görülmediğini remineralizasyonun sağlanmadığını ya da az meydana geldiğini bildirmişlerdir. Vyavhare ve ark.nın çalışmasında, Karlinsey ve ark. çalışmasında olduğu gibi 1000 ppm florür uygulamasından sonra demineralize yüzey üzerinde kalsiyum florürden oluşan küresel çökelti görülmediği bildirilmiştir.^{32,33} Bununla paralel olarak çalışmamızda da 1450 ppm florürlü diş macunu ile fırçalanan mine örnekleri üzerinde kalsiyum florürden oluşan küresel kalsifiye çöküntüler izlenmiştir. Vyavhare ve ark.nın çalışmasında, %10 nanohidroksiapatitin 1000 ppm florürle benzer remineralizasyon etkinliğine sahip olduğu, günlük olarak remineralizasyonu teşvik etmek için 1000 ppm flo-

rüre alternatif olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.³² Çalışmamızda, mikrosertlik, yüzey pürüzlülüğü ve SEM analizi bulgularına bakıldığında; florür içeren diş macunu, hidroksiapatit içeren diş macunundan anlamlı seviyede daha yüksek remineralizasyon etkisi göstermiştir. Bu bulguyu elde etmemizde, kullandığımız hidroksiapatitli diş macununun %1 hidroksiapatit içermesi, florürlü diş macununun ise 1450 ppm florür içermesinin de etkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda, teobrominli diş macunu, florürlü diş macunundan daha az remineralizasyon etkisi gösterirken, propolisli diş macunu ile remineralizasyon etkileri aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Farhad ve ark.nın yapay çürük oluşturulmuş insan premolar dişi üzerinde 200 mg/L teobromin ve %0,05 sodyum florür solüsyonunun remineralizasyon etkisini karşılaştırdıkları çalışmada, 7 günlük pH siklusu sonunda yaptıkları Vickers mikrosertlik analizine göre en yüksek mikrosertlik geri kazanımını teobromin solüsyonunun sağladığını bildirmiştir.²³ Qasthari ve ark.nın teobromin (Theodent®) ve sodyum monoflorofosfat (SMFP) içeren diş macunlarının (Pepsodent® Sensitive Expert) ve kontrol grubu olan distile suyun (Aquabidest) başlangıç, demineralizasyon sonrası ve fırçalama sonrası insan premolar dişi minesini yüzey pürüzlülüğüne ve mikrosertliğine etkisini inceledikleri *in vitro* çalışmada, teobromin içeren diş macununun, SMFP içeren diş macununa göre mine yüzey pürüzlülüğünü daha fazla azalttığını bildirmişlerdir. Çalışmanın, fırçalama sonrası mikrosertlik değerlerinde çalışmamıza benzer şekilde deney grupları ile kontrol grubu olan distile su arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğu, ancak deney gruplarının mikrosertlik değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir.³⁴ Çalışmamızda ise florür içeren diş macunu, mine yüzey pürüzlülüğünü teobromin içeren diş macunundan anlamlı seviyede daha fazla azaltmış, fırçalama sonrası mikrosertlik geri kazanım yüzdesi de florürlü diş macunu grubunda anlamlı seviyede daha yüksek bulunmuştur. Literatürde, teobromin ajanının herhangi bir remineralizasyon etkisi bulunmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur. Thorn ve ark.nın, farklı konsantrasyonlarda florür ve teobromin içeren solüsyonların yapay başlangıç mine lezyonu oluşturulmuş 272 sığır dişi üzerinde remineralizasyon etki-

sini değerlendirdikleri çalışmada, 0,2 ppm ve 1 ppm florür solüsyonu ile 0 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm teobromin solüsyonunu 5,5 ve 7,0 pH değerlerinde karşılaştırmış, Knoop mikrosertlik analizine göre florür solüsyonu grubunda artan florür konsantrasyonu ve artan pH değeri ile mikrosertlik değerinin de arttığını; ancak teobromin solüsyonunda teobrominin artan konsantrasyonlarına rağmen hiçbir pH seviyesinde mikrosertlik değerinde artış sağlamadığı ve remineralizasyona herhangi bir etkisinin bulunmadığını bildirmiştir.³⁵ Florür içeren diş macunlarının, florür içeriklerinin remineralize edici etkileri nedeniyle florürsüz diş macunlarına göre yapay çürük lezyonlu dişlerde daha az fırçalama aşınmasına neden olabileceğinin düşünüldüğü bu çalışmada, kullanılan 500 ppm florür içeren diş macununun demineralize süt dişi minesinde oluşturduğu aşınmanın florür miktarının az olması nedeniyle diğer diş macunlarının oluşturduğu aşınma ile benzer seviyede olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızın yüzey pürüzlülüğü ölçümlerinde, 1450 ppm florür içeren diş macunu, pürüzlülüğü azaltma açısından en yüksek etkiyi sağlamıştır. Bunu sırasıyla propolis, teobromin ve hidroksiapatit içeren diş macunları izlemiş; bu 3 grup arasında yüzey pürüzlülüğü değerleri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Altınsoy ve ark.nın, hidroksiapatit [Splat® Kids Wild Strawberry-Cherry (Splat Global, Rusya)], deniz tuzu [Logodent® Happy Kids-Strawberry (Logocos Naturkosmetik, Almanya)], teobromin [Eyüp Sabri Tuncer® (Eyüp Sabri Tuncer Kozmetik Sanayi A.Ş., Türkiye)], propolis [Naturalive® Natural Kids' Toothpaste (Naturalive Beauty, Türkiye)] ve 500 ppm florür içerikli [Buccootherm® My First Toothpaste (Laboratoire Odost, Fransa)] 5 farklı diş macununun 74 adet yapay çürük oluşturulmuş süt azı dişinin yüzey pürüzlülüğüne ve mikrosertliğine etkisini inceledikleri çalışmada, mikrosertlik, SEM ve AFM (atomik kuvvet mikroskobu) analizi yapılmıştır. Diş macunları yüzey pürüzlülüğünü azaltmış ancak bu azalma yüzdelерinin diş macunları arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Tüm diş macunları, yapay başlangıç çürüklü süt dişlerinde mikrosertlik artışı sağlamış ancak bu artış yalnızca propolis ve 500 ppm florür içeren diş macunu gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. SEM

analizinde, yapay çürüklü mine yüzeyinin bal peteği görünümünde olduğu bildirilmiştir. Fırçalanan örneklerde ise mine yüzeyinde düzensiz çökelti ve birikimler görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmamıza paralel şekilde Altınsoy ve ark.nın çalışmasında, florürlü diş macunu grubunun SEM görüntülerinde mine yüzeyinin daha düzenli olduğu bildirilmiştir.¹³

Literatürdeki benzer çalışmaların sonuçlarındaki farklılıklar, *in vitro* çalışma düzeneğinde bulguları etkileyen çok sayıda deneysel değişkenin bulunması; tedavi rejiminin, analiz araçlarının ve değerlendirme tekniklerinin farklı olmasıyla açıklanmaktadır.

Bu çalışmanın önemli yanlarından biri, yeni geliştirilen teobrominli, hidroksiapatitli ve propolisli 3 diş macunu ile çalışılmasıdır. Farklı değerlendirme yöntemlerinin kullanılması çalışma bulgularının desteklenmesini sağlamaktadır.

Bu çalışma kapsamında yürütülmüş olan *in vitro* deneyin, kontrollü laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiş olması; tükürük, mikrobiyal çeşitlilik, diyet ve diş fırçalama alışkanlıkları, ağız içi ısı ve pH değişiklikleri gibi hasta bazlı değişkenlerin simüle edilememesine sebep olup, gerçek ağız içi koşulların karmaşıklığını yansıtamamıştır. Bu durum, çalışma bulgularının doğrudan klinik ortama aktarılabilirliğini kısıtlamaktadır. Çalışmada, tükürük unsuru bulunmaması, kullanılan diş macununun yalnızca remineralizasyona katkı sağlamak gibi doğrudan bir etkiyle kalmayıp, tükürüğün fonksiyonları ve bileşimi üzerine de etki ederek tükürüğün remineralizasyondaki rolünü artırdığından önemli bir limitasyon olmaktadır. Bir başka limitasyon ise kullanılan çekilmiş süt dişlerinin sınırlı sayıda olması ve yapay çürük lezyonlarının doğal lezyonların değişkenliğini yansıtmayan tekdüzeliği olmaktadır. Kullanılan solüsyonların tazeliğini koruması amaçlı pH siklusunun 7 gün ile sınırlı tutulmuş olması diğer bir kısıtlayıcı faktördür. Uygulanan ajanların diş yüzeyine ne derecede etki ettiği ve bu etkinin ne kadar süre devam ettiği gibi detayların net anlaşılabilmesi için daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç duyulmakta ve çalışma bulgula-

rının daha fazla *in vivo* çalışma ile doğrulanması gerektiği düşünülmektedir.

SONUÇ

Çalışmada, en yüksek remineralizasyon etkinliğini 1450 ppm florürlü çocuk diş macunu göstermiştir. Teobrominli ve propolisli çocuk diş macunu, benzer remineralizasyon etkisi göstermiştir. Hidroksiapatitli diş macunu grubunda, diğer diş macunu gruplarından anlamlı seviyede daha düşük mikrosertlik geri kazanımı görülmüştür. SEM görüntüleri, elde edilen bulguları desteklemektedir. Sonuç olarak çocuklarda diş çürüğünü önlemede, en iyi seçeneğin florürlü çocuk diş macunu olduğu; hidroksiapatit, propolis ve teobrominli çocuk diş macunlarının ise florürlü diş macunlarına alternatif olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda yer alan diş macunları ile daha uzun süreli çalışmalar yapıldığında remineralizasyon etkilerinde değişiklik gözlenebileceği, bu çalışma *in vitro* şartlarda gerçekleştiğinden *in vivo* şartlarda daha farklı sonuçlar elde edilebileceği unutulmamalıdır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Nazlıcan Kaçmaz, Ceyhan Altun; **Tasarım:** Nazlıcan Kaçmaz; **Denetleme/Danışmanlık:** Ceyhan Altun, Gizem Yoğurucu Değerli; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Nazlıcan Kaçmaz; **Analiz ve/veya Yorum:** Nazlıcan Kaçmaz, Gizem Yoğurucu Değerli; **Kaynak Taraması:** Nazlıcan Kaçmaz; **Makalenin Yazımı:** Nazlıcan Kaçmaz, Gizem Yoğurucu Değerli, Ceyhan Altun; **Eleştirel İnceleme:** Ceyhan Altun.

KAYNAKLAR

1. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc.* 2000;131(7):887-99. [PubMed]
2. Harris NO, García-Godoy F, Nathe CN. Carious lesions. *Primary Preventive Dentistry.* 7th ed. New Jersey: Pearson; 2009. p.51-69.
3. Brown LJ, Wall TP, Lazar V. Trends in total caries experience: permanent and primary teeth. *J Am Dent Assoc.* 2000;131(2):223-31. [Crossref] [PubMed]
4. Mortimer KV. The relationship of deciduous enamel structure to dental disease. *Caries Res.* 1970;4(3):206-23. [Crossref] [PubMed]
5. Lõe H. Oral hygiene in the prevention of caries and periodontal disease. *Int Dent J.* 2000;50(3):129-39. [Crossref] [PubMed]
6. Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J.* 2000;45(4):235-45. [Crossref] [PubMed]
7. Groeneveld A, Van Eck AA, Backer Dirks O. Fluoride in caries prevention: is the effect pre- or post-eruptive? *J Dent Res.* 1990;69 Spec No:751-5; discussion 820-3. [Crossref] [PubMed]
8. Narayana SS, Deepa VK, Ahamed S, Sathish ES, Meyappan R, Sathesh Kumar KS. Remineralization efficiency of bioactive glass on artificially induced carious lesion an in-vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2014;32(1):19-25. [Crossref] [PubMed]
9. Anil A, Ibraheem WI, Meshni AA, Preethanath RS, Anil S. Nano-hydroxyapatite (nHAP) in the remineralization of early dental caries: a scoping review. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(9):5629. [Crossref] [PubMed] [PMC]
10. Kargul B, Özcan M, Peker S, Nakamoto T, Simmons WB, Falster AU. Evaluation of human enamel surfaces treated with theobromine: a pilot study. *Oral Health Prev Dent.* 2012;10(3):275-82. [PubMed]
11. Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park YK, Bowen WH. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(5):1302-9. [Crossref] [PubMed] [PMC]
12. Uysal S, Tulga Öz F. Süt dişi başlangıç mine lezyonlarının remineralizasyonunda kullanılan farklı yapıdaki diş macunlarının mikrosertlik üzerine etkisinin in vitro koşullarda değerlendirilmesi [Evaluation of effectiveness of toothpastes in different structures at remineralization of early enamel lesions in primary teeth]. *Selcuk Dental Journal.* 2022;9(2):533-9. [Crossref]
13. Altınsoy GO, Ceyhan D. Effects of five different toothpastes on remineralization and surface roughness of primary tooth enamel with artificial initial caries. *Applied Sciences.* 2024;14(16):7232. [Crossref] [PubMed]
14. Fu Y, Ekambaram M, Li KC, Zhang Y, Cooper PR, Mei ML. In vitro models used in cariology mineralisation research-a review of the literature. *Dent J (Basel).* 2024;12(10):323. [Crossref] [PubMed] [PMC]
15. Krithikadatta J, Gopikrishna V, Datta M. CRIS Guidelines (Checklist for Reporting In-vitro Studies): a concept note on the need for standardized guidelines for improving quality and transparency in reporting in-vitro studies in experimental dental research. *J Conserv Dent.* 2014;17(4):301-4. [Crossref] [PubMed] [PMC]
16. Huang SB, Gao SS, Yu HY. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater.* 2009;4(3):034104. [Crossref] [PubMed]
17. Esteves-Oliveira M, Santos NM, Meyer-Lueckel H, Wierichs RJ, Rodrigues JA. Caries-preventive effect of anti-erosive and nano-hydroxyapatite-containing toothpastes in vitro. *Clin Oral Investig.* 2017;21(1):291-300. [Crossref] [PubMed]
18. Comar LP, Souza BM, Gracindo LF, Buzalaf MA, Magalhães AC. Impact of experimental nano-HAP pastes on bovine enamel and dentin submitted to a pH cycling model. *Braz Dent J.* 2013;24(3):273-8. [Crossref] [PubMed]
19. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res.* 2011;45(5):460-8. [Crossref] [PubMed]
20. ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial carious lesions. *Caries Res.* 1982;16(3):201-10. [Crossref] [PubMed]
21. Mehta AB, Kumari V, Jose R, Izadikhah V. Remineralization potential of bioactive glass and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on initial carious lesion: an in-vitro pH-cycling study. *J Conserv Dent.* 2014;17(1):3-7. [Crossref] [PubMed] [PMC]
22. Golfeshan F, Mosaddad SA, Ghaderi F. The effect of toothpastes containing natural ingredients such as theobromine and caffeine on enamel microhardness: an in vitro study. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021;2021:3304543. [Crossref] [PubMed] [PMC]
23. Farhad F, Kazemi S, Bijani A, Pasdar N. Efficacy of theobromine and sodium fluoride solutions for remineralization of initial enamel caries lesions. *Front Dent.* 2021;18:10. [Crossref] [PubMed] [PMC]
24. Ma X, Lin X, Zhong T, Xie F. Evaluation of the efficacy of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of white spot lesions in vitro and clinical research: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health.* 2019;19(1):295. [Crossref] [PubMed] [PMC]
25. Mahfouz Omer SM, El-Sherbiny RH, El-Desouky SS. Effect of N-Acetylcysteine on initial carious enamel lesions in primary teeth: an in-vitro study. *BMC Oral Health.* 2023;23(1):520. [Crossref] [PubMed] [PMC]
26. Thaveesangpanich P, Itthagaran A, King NM, Wefel JS. The effects of child formula toothpastes on enamel caries using two in vitro pH-cycling models. *Int Dent J.* 2005;55(4):217-23. [Crossref] [PubMed]
27. Phaneuf EA, Harrington JH, Dale PP, Shklar G. Automatic toothbrush: a new reciprocating action. *J Am Dent Assoc.* 1962;65:12-25. [Crossref] [PubMed]
28. Chandru TP, Yahya MB, Peedikayil FC, Dhanesh N, Srikant N, Kottayi S. Comparative evaluation of three different toothpastes on remineralization potential of initial enamel lesions: a scanning electron microscopic study. *Indian J Dent Res.* 2020;31(2):217-23. [Crossref] [PubMed]
29. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent.* 2011;39(6):430-7. [Crossref] [PubMed]
30. Grewal N, Sharma N, Kaur N. Surface remineralization potential of nano-hydroxyapatite, sodium monofluorophosphate, and amine fluoride containing dentifrices on primary and permanent enamel surfaces: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2018;36(2):158-66. [Crossref] [PubMed]
31. Bossù M, Saccucci M, Salucci A, Di Giorgio G, Bruni E, Uccelletti D, et al. Enamel remineralization and repair results of Biomimetic Hydroxyapatite toothpaste on deciduous teeth: an effective option to fluoride toothpaste. *J Nanobiotechnology.* 2019;17(1):17. [Crossref] [PubMed] [PMC]
32. Vyavhare S, Sharma DS, Kulkarni VK. Effect of three different pastes on remineralization of initial enamel lesion: an in vitro study. *J Clin Pediatr Dent.* 2015;39(2):149-60. [Crossref] [PubMed]
33. Karlinsky RL, Mackey AC, Stookey GK. In vitro remineralization efficacy of NaF systems containing unique forms of calcium. *Am J Dent.* 2009;22(3):185-8. [PubMed]
34. Qasthari Al, Irawan B, Herda E. The influence of brushing with theobromine and sodium monofluorophosphate toothpaste on enamel surface resistance to roughness after demineralization. *J Phys Conf Ser.* 2018;1073(3):032005. [Crossref]
35. Thom AK, Lin WS, Levon JA, Morton D, Eckert GJ, Lippert F. The effect of theobromine on the in vitro de- and remineralization of enamel carious lesions. *J Dent.* 2020;103S:100013. [Crossref] [PubMed]