



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

GÜLHANE DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

**SÜT DİŞİ DENTİNİNE BAĞLANMA ÖNCESİ PEPTİT
UYGULANMASININ ADEZYONA UZUN DÖNEM
ETKİLERİNİN VİTRO ORTAMDA İNCELENMESİ**

Dt. Ezgi AYDIN VAROL

DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Cenkhan BAL

DİŞ HEKİMLİĞİNDE DOKTORA TEZİ

ANKARA2023



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

GÜLHANE DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

**SÜT DİŞİ DENTİNİNE BAĞLANMA ÖNCESİ PEPTİT
UYGULANMASININ ADEZYONA UZUN DÖNEM
ETKİLERİNİN VİTRO ORTAMDA İNCELENMESİ**

Dt. Ezgi AYDIN VAROL

DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Cenkhan BAL

DİŞ HEKİMLİĞİNDE DOKTORA TEZİ

ANKARA2023

BEYAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışının olmadığını,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ezgi AYDIN VAROL

14/09/2023

ÖZET

SÜT DİŞİ DENTİNİNE BAĞLANMA ÖNCESİ PEPTİT UYGULANMASININ ADEZYONA UZUN DÖNEM ETKİLERİNİN İN VİTRO ORTAMDA İNCELENMESİ

Amaç: Bu tez çalışmasında yeni bir biyomimetik peptit olarak adlandırılan Mineralizasyonu destekleyen peptit 3 (MPP3)'ün süt dişi dentinine bağlanma öncesi uygulanarak adezyona uzun dönem etkilerinin in vitro ortamda incelenmesini amaçlamaktadır. Bu çalışma ile süt dişi dentinine 10 dk'lık MPP3 ve kalsiyum/fosfat muamelesi ile kısmi remineralizasyon oluşumu hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntem: FESEM ve EDS analizi için 48 adet süt dişi kuronunun sağlıklı dentin dokusuna 3mm x 3mm x 1,5mm boyutlarında sınıf 5 kavite açılmıştır. Kaviteler

%37,5'lik fosforik asit çözeltisi ile smear tabakası ortadan kaldırılmıştır. Rastgele olarak 4 gruba ayrılmıştır. Grup 1: SE, Grup 2: MPP3+SE, Grup 3: ER, Grup 4: MPP3+ER şeklindedir. Kavitelere adeziv uygulaması sonrası kompozit uygulanmıştır. SBS ve Raman spektroskopisi analizi için 72 adet süt molar dişlerin okluzal kısmından mine kaldırılıp okluzal dentin açığa çıkarılmıştır. Dentin yüzeyleri %37,5'lik fosforik asit çözeltisi ile smear tabakası ortadan kaldırılmıştır. Rastgele olarak 4 gruba ayrılmıştır. Grup 1: SE, Grup 2: MPP3+SE, Grup 3: ER, Grup 4: MPP3+ER şeklindedir. 2 ve 4 numaralı gruplarda adeziv uygulaması öncesinde 10 dk'lık MPP3 ve kalsiyum/fosfat muamelesi yapılmıştır. Adeziv uygulaması sonrasında okluzal dentine, kompozit yüksekliği 3 mm, yarıçapı 1,5 mm olan silindir şeklinde uygulanmıştır. Örnekler 6 ay boyunca 37°C'lik etüvde suda bekletilerek yaşlandırma yapılmıştır.

Bulgular: Bu tez çalışmasında süt dişi dentinine adezyon öncesi uygulanan MPP3 ve kalsiyum/fosfat'ın kısmi remineralizasyon sağladığı, bağlanma dayanımını olumlu yönde etkilediği saptanmıştır. FESEM, EDS ve Raman spektroskopisi analizleri sonucunda MPP3 eklenen gruplarda hibrit tabakadaki mineral yoğunluğunun arttığı gözlemlenmiştir. SBS analizi sonuçlarında MPP3 eklenen gruplarda daha yüksek bağlanma kuvveti gözlemlenmiştir. Raman spektroskopisi

analizine göre MPP3 eklenen gruplarda dentin-adeziv rezin ara yüzeyine kadar mineral yoğunluğunun devam ettiği ve hibrit tabakada varlığını sürdürdüğü tespit edilmiştir.

Sonuç: Süt dişi dentinine bağlanma öncesi MPP3 ve kalsiyum/fosfat muamelesinin dentinde kısmi remineralizasyon oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu kısmi remineralizasyonun 0, 3 ve 6. aya kadar bağlanma dayanımına olumlu etkileri olduğu ortaya koyulmuştur.

Anahtar Kelimeler: MPP3, remineralizasyon, adezyon.



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE LONG TERM EFFECTS OF PEPTIDE APPLICATION BEFORE PRIMARY TOOTH DENTIN BONDING ON ADHESION IN VITRO

Aim: It is aimed to examine the long-term effects of a new biomimetic peptide, Mineralization-supporting peptide 3 (MPP3), on the adhesion in vitro, by applying it to the primary tooth dentin before bonding. In this study, partial remineralization is aimed with 10 min treatment of primary tooth dentin with MPP3 and calcium/phosphate.

Materials and Methods: Class 5 cavities of 3mm x 3mm x 1.5mm were drilled into the healthy dentin tissue of 48 primary tooth crowns for FESEM and EDS analysis. They are randomly divided into 4 groups. Group 1: SE, Group 2: MPP3+SE, Group 3: ER, Group 4: MPP3+ER. The cavities finished by composite after adhesive application. For SBS and Raman spectroscopy analysis, enamel was removed from the occlusal part of 72 primary molars and occlusal dentin was exposed. They are randomly divided into 4 groups, the same as FESEM and EDS analysis groups. In groups 2 and 4, a 10-minute MPP3 and calcium/phosphate treatment was performed before the adhesive application. After the adhesive application, the composite was applied to the occlusal dentin in the form of a cylinder with a height of 3 mm and a radius of 1.5 mm. The samples were aged by keeping them in water in an oven at 37°C for 6 months.

Results: It was determined that MPP3 and calcium/phosphate applied to the primary tooth dentin before adhesion provided partial remineralization and positively affected the bond strength. As a result of FESEM, EDS and Raman spectroscopy analyzes, it was observed that the mineral density in the hybrid layer increased in the MPP3 added groups. In the results of SBS analysis, higher bond strength was observed in the MPP3 added groups.

Conclusion: MPP3 and calcium/phosphate treatment before bonding to primary tooth dentin caused partial remineralization and has positive effects on bond strength in dentin.

Keywords: MPP3, remineralization, adhesion.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince ve tez çalışmamın her aşamasında özveri ile bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, her daim sıcaklığını ve içtenliğini hissettiren değerli tez danışmanım **Dr. Öğr. Üyesi Cenkhan BAL**'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında fikirleri ve tecrübeleri ile bana yol gösteren ve desteğini esirgemeyen değerli hocam **Doç. Dr. Mustafa GÜNGÖRMÜŞ**'e,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan hiçbir zaman kaçınmayan, her daim sıcaklıklarını hissettiğim değerli hocalarım **Doç. Dr. Özlem Martı AKGÜN** ve **Dr. Öğr. Üyesi Merve AKSOY**'a,

Doktora eğitimim ve tez sürecim boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyip her daim yanımda olan, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, varlıkları ile bana destek olan ve aynı yolda yürüdüğüm **Dt. İrem ATAY** ve **Dt. Melis ARDA SÖZÜÖZ** başta olmak üzere **Arş. Gör. Gülşen KILIÇ**, **Arş. Gör. Erva GÜNGÖR**, **Arş. Gör. Zeyneb Ahsen ASLAN**, **Arş. Gör. Nupelda ÇAĞIRAN GÖRGİN** ve **Dt. Tuğçe AKÇORA**'ya,

Bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan hiçbir zaman kaçınmayan **Dr. Öğr. Üyesi Zeynep ÖZTÜRK**, **Dr. Dt. Merve YAŞAR**, **Uzm. Dt. Demet ATAĞ**, **Uzm. Dt. Başak Doğan UÇAR**, **Uzm. Dt. Ümit OFLAZ**'a ve huzurlu çalışma ortamında emeği geçen bütün asistan arkadaşlarıma,

Desteğiyle ve sevgisiyle hayat boyu yanımda olan canım ağabeyim **Eser AYDIN**'a

Hayatımın her anında olduğu gibi tüm eğitim sürecimde de desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, sabırla, sevgiyle ve büyük emeklerle beni yetiştirip bugünlere getiren, canım annem **Kamile AYDIN** ve canım babam **Fehmi AYDIN**'a

Doktora eğitimim süresince ve her daim varlığı ile bana güç veren, yol gösteren, sevgisini, desteğini ve sabrını hiçbir zaman eksik etmeyen canım eşim, yol arkadaşım **Mehmet Uğur VAROL**'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dt. Ezgi AYDIN VAROL

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLOLAR LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
RESİMLER LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. DENTİN.....	3
2.1.1. Dentinin Yapısı	5
2.1.2. Dentin Tipleri.....	6
2.1.2.1. Primer dentin	6
2.1.2.2. Sekonder dentin	7
2.1.2.3. Tersiyer dentin.....	7
2.1.2.4. Sklerotik Dentin.....	8
2.1.3. Smear Tabakası.....	8
2.2. ADEZYON.....	9
2.2.1. Mineye Adezyon.....	10
2.2.2. Dentine Adezyon	11
2.2.3. Dental Adeziv Sistemler	13
2.2.3.1. Adeziv sistemlerin nesillere göre sınıflandırılması	13
2.2.3.2. Adeziv sistemlerin klinik uygulamalara göre sınıflandırılması.....	17
2.3. DENTİNE BAĞLANMA İLE İLGİLİ LİTERATÜRDE BİLDİRİLEN SORUNLAR VE ÇÖZÜM ÖNERİLERİ	25
2.3.1. Bağlanma Öncesi Kolajen Çökmesi.....	25
2.3.1.1. Islak bağlanma tekniği (Wet bonding)	26
2.3.1.2. Kolajen çapraz bağlama tekniği.....	27

2.3.1.3. Kendiliğinden asitlenen (Self Etch, SE) adezivler	27
2.3.1.4. Self-adeziv simanlar	27
2.3.2. Bağlanma Sonrası Kolajen Yıkımı	28
2.3.2.1. Proteaz inhibitörü veya antimikrobiyal ajan içeren ürünler.....	28
2.3.2.2. Biyoaktif partikül içeren ürünler	28
2.3.3. Bağlanma öncesi remineralizasyon tekniği	30
2.4. BİYOMİMETİK PEPTİTLER İLE MİNERALİZASYON	30
2.4.1. Amelogenin	31
2.4.2. Poli Amido Amin Dendrimerler	32
2.4.3. Dentin Fosfoprotein Türevi 8DSS Peptitler (8 tekrarlı aspartat-serin-serin dizisi)	32
2.4.4. Kendiliğinden Birleşen Peptitler.....	33
2.4.5. Mineralizasyonu Destekleyen Peptit 3 (Mineralization Promoting Peptide- MPP3).....	34
2.5. YAŞLANDIRMA YÖNTEMLERİ	36
2.5.1. Suda Bekletme ile Yaşlandırma Yöntemi	36
2.5.2. Termal Siklus Uygulaması ile Yaşlandırma Yöntemi.....	37
2.5.3. NaOCL Solüsyonunda Bekletme ile Yaşlandırma Yöntemi.....	38
2.5.4. Mekanik Yükleme ile Yaşlandırma Yöntemi.....	38
2.5.5. pH Siklusa Bekletme ile Yaşlandırma Yöntemi.....	38
2.6. ANALİZLER	39
2.6.1. Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM) ve Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) Analizi	39
2.6.2. Raman Spektroskopisi.....	39
2.6.3. Makaslama Bağlanma Dayanımı (Shear Bond Strength, SBS) Analizi ve Kırılma Tiplerinin İncelenmesi	41
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	43
3.1. İNERALİZASYONU DESTEKLEYEN PEPTİT (MPP3).....	43
3.2. ÖRNEKLEM SAYISININ BELİRLENMESİ	43
3.3. ÇALIŞMADA KULLANILACAK DİŞLERİN TOPLANMASI VE SAKLAMA KOŞULLARI	43
3.4. DİŞ ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI	44

3.5. ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI	47
3.6. ÇALIŞMA GRUPLARINA MATERYALLERİN UYGULANMASI.....	48
3.7. ALAN EMİSYONLU TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (FESEM) VE ENERJİ DAĞILIM SPEKTROSKOPİSİ (EDS) ANALİZİ	55
3.8. RAMAN SPEKTROSKOPİSİ.....	57
3.9. MAKASLAMA BAĞLANMA DAYANIMI (SHEAR BOND STRENGTH (SBS)) ANALİZİ VE KIRILMA TİPLERİNİN İNCELENMESİ	57
4. BULGULAR.....	61
4.1. FESEM - EDS ANALİZİ SONUÇLARI	61
4.2. RAMAN SPEKTROSKOPİSİ ANALİZİ SONUÇLARI	65
4.3. MAKASLAMA BAĞLANMA DAYANIMI SONUÇLARI.....	72
4.4. KIRILMA TİPLERİNİN İNCELENMESİNE BAĞLI SONUÇLAR.....	76
5. TARTIŞMA	79
6. SONUÇLAR	101
7. KAYNAKLAR	103
8. EKLER.....	127
EK 1. ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU	127
EK 2. ETİK GÖNÜLLÜ ONAM FORMU	128
8. ÖZGEÇMİŞ	131

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. MPP3'ün aminoasit dizilimi ve fizikokimyasal özellikleri.	35
Tablo 3.1. Çalışma gruplarının gösterimi.	47
Tablo 3.2. Çalışmanın grup ve örneklem sayılarının detaylı gösterimi.....	48
Tablo 4.1. Gruplara göre makaslama bağlanma dayanımı değerlerinin farklı zamanlardaki ortalama ve standart sapma tanımlayıcı istatistikleri.	72



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Adeziv sistemlerin nesillere göre sınıflandırılması	14
Şekil 2.2. İki aşamalı ER adeziv sistemlerin dentine uygulanması	20
Şekil 2.3. İki aşamalı SE adeziv sistemlerin uygulanması.....	21
Şekil 2.4. Tek aşamalı SE adeziv sistemlerin dentine uygulanması	23
Şekil 2.5. Kolajen çökmesinin şematik gösterimi.....	26
Şekil 2.6. Biyoaktif parçacık içeren ürünlerde parçacık çözünmesi ile oluşan kütle kaybının şematik gösterimi.....	29
Şekil 3.1. Çalışma aşamalarının şematik gösterimi.	54
Şekil 4.1. FESEM analizi görüntüsü.....	61
Şekil 4.2. SE ve MPP3+SE grubunun 0. ay, 3. ay, 6.ay FESEM analizi görüntüleri.	62
Şekil 4.3. ER ve MPP3+ER grubunun 0. ay, 3. ay, 6.ay FESEM analizi görüntüleri. ...	62
Şekil 4.4. SE, MPP3+SE, ER, MPP3+ER gruplarının 0, 3 ve 6. aylardaki EDS analizinde saptanan Ca elementi dağılımı.	64
Şekil 4.5. Dentin, hibrit tabaka ve kompozitten elde edilen raman spektrumları.	65
Şekil 4.6. 0. ayda SE ve MPP3+SE grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.	66
Şekil 4.7. 3. ayda SE ve MPP3+SE grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.	67
Şekil 4.8. 6. ayda SE ve MPP3+SE grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü. ...	68
Şekil 4.9. 0. ayda ER ve MPP3+ER grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.....	69
Şekil 4.10. 3. ayda ER ve MPP3+ER grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.	70
Şekil 4.11. 6. ayda ER ve MPP3+ER grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.	71
Şekil 4.12. Gruplara ve aylara göre makaslama bağlanma değerlerinin dağılımı.	73
Şekil 4.13. Tüm grupların 0. ay makaslama bağlanma değerlerinin MPa cinsinden dağılımı. *:p<0.05, işaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır.	74
Şekil 4.14. Tüm grupların 3. ay makaslama bağlanma değerlerinin MPa cinsinden dağılımı.	75
Şekil 4.15. Tüm grupların 6. ay makaslama bağlanma değerlerinin MPa cinsinden dağılımı.	75
Şekil 4.16. Gruplara ve aylara göre kırık tiplerinin dağılımı.	76

Şekil 4.17. SE ve MPP3+SE gruplarında kırık tiplerinin aylara göre dağılımı. 78

Şekil 4.18. ER ve MPP3+ER gruplarında kırık tiplerinin aylara göre dağılımı. 78



RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Dentin dokusunun büyütülerek gösterilmiş hali	5
Resim 2.2. Dentin tübüllerinin içerisine doğru girmiş smear tıkaçı	9
Resim 2.3. 3 aşamalı adeziv sisteminin diş yüzeyine uygulanması ve etkisi	19
Resim 3.1. Sınıf 5 kavite açılan örnek süt dişi.....	45
Resim 3.2. Okluzal aşındırması yapılmış ve alçı kalıba gömülmüş örnek süt dişi.....	46
Resim 3.3. Forcipol 2V Grinder & Polisher (Metkon, Maidstone, İngiltere) aşındırma cihazı.....	46
Resim 3.4. Açılan Sınıf 5 kaviteye kompozit dolgu uygulanmış süt dişi.....	49
Resim 3.5. Çalışmada kullanılan SE adeziv Bond Force 2	51
Resim 3.6. Çalışmada kullanılan kompozit materyal Clearfil Majesty Posterior A2 kompozit.....	51
Resim 3.7. Silindir blok ile kompozit uygulanan dişin görünümü.	52
Resim 3.8. Çalışmada kullanılan ER adeziv Prime&Bond NT dental adeziv.....	53
Resim 3.9. Alüminyum numune tutucuya karbon bant yardımıyla yapıştırılan diş örnekleri..	55
Resim 3.10. Leica EM ACE200 kaplama cihazı	56
Resim 3.11. Hitachi SU5000 alan emisyonlu FE-SEM cihazı	56
Resim 3.12. Jasco NRS-4500 Laser Raman Spectrometer (Tokyo, Japonya) Raman spektroskopi cihazı.	57
Resim 3.13. Makaslama bağlanma dayanımı (SBS) testi için kullanılan universal test cihazı (Lloyd-LRX, Lloyd Instruments, Fareham, İngiltere).....	58
Resim 3.14. Makaslama bağlanma dayanımı için universal test cihazına yerleştirilen numune.....	59
Resim 3.15. Kırılma tiplerinin incelenmesi için çalışmada kullanılan stereomikroskop (Novel, Industrial Estate, Ambala, Haryana, Hindistan) ve örneklerin incelenmesi.	59
Resim 3.16. Çalışmamızdan elde edilen kırık tipleri. A: Adeziv kırık, B: Koheziv kırık, C: Miks kırık.	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
µm	: Mikrometre
10-MDP	: 10-Metakriloiloksidetil Dihidrojen Fosfat
4-META	: 4-metakriloksietil trimellitat anhidrit
8DSS	: 8 tekrarlı aspartat-serin-serin dizisi
Å	: Angstron
ADP5	: Amelogenin türevi peptit-5
Ark	: Arkadaşları
Au	: Altın
BİS-GMA	: Bisfenol-A-glisidil dimetakrilat
BMP-7	: Kemik morfogenetik protein 7, Bone morphogenetic protein-7
BMRP	: Biyomineralizasyon ile ilgili birçok protein
C ₇ H ₇ ClNO ₂ SNa	: Kloramin T
Ca	: kalsiyum
Ca/P	: Kalsiyum/fosfat
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	: Hidroksiapatit
CaCl ₂	: Kalsiyum klorür
CEnHAp	: Yumurta kabuğu kökenli nanohidroksiapatit
C-faktör	: Konfigürasyon faktör
cm	: santimetre
CPP-ACPF	: Kalsiyum fosfopeptit-amorf kalsiyum florofosfat
D3MA	: Dekandiol dimetakrilat
dk	: Dakika
DPP	: Dentin fosfoprotein
ECM	: Hücre dışı matriks, Ekstraselüler matriks
EDS, EDAX	: Enerji Dağılım Spektroskopisi
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ER	: Etch&rinse, Asitleme ve yıkama
FESEM	: Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopu

FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GA	: Gluteraldehit
H ₃ PO ₄	: Ortofosforik asit
HEMA	: Hidroksietil metakrilat
HOCl	: Hipoklorik asit
IR	: İnfrared ışınları
Mg	: Magnezyum
mm	: Milimetre
MMP	: Matris metaloproteinaz
MPa	: Megapaskal
MPP3	: Mineralizasyonu destekleyen peptit 3, Mineralization promotingpeptide 3
MTA	: Mineral trioksit agregat
N	: Newton
N ₂	: Azot
Na	: Sodyum
NACP	: Amorf kalsiyum fosfat nanopartikülleri
NaF	: Sodyum florür
NaH ₂ PO ₄	: Mono sodyum fosfat
NaN ₃	: Sodyum azit
NaOCL	: Sodyum Hipoklorit
NPG-GMA	: N-fenilglisin Glisidil Metakrilat Poliüretan
O ₂	: Oksijen
P	: Fosfor
p11-4	: 11 aminoasitli kendiliğinden birleşen oligopeptit
PAA	: Poliakrilik asit
PAMAM	: Poli amido amin
PBNT	: Prime&Bond NT
PCF	: Portland simanı/fosfat içeren sıvı
Pd	: Palladyum
PENTA	: Dipentaerythritol pentaacrylatemonophospate
pH	: Power of hydrogen

PHS	: Fitosfingozin
pI	: izoelektrik nokta
PO ₄ ⁻³	: Fosfat
PVPA	: Polivinilfosfonik asit
rP172	: Rekombinant domuz amelogeni
SBS	: Makaslama Bağlanma Dayanımı, Shear Bond Strength
SE	: Self-etch, Kendiliğinden asitlenen
SMMP+	: Scotchbond Multipurpose Plussn Saniye
TEGDMA	: Trietilen glikoldimetakrilat
TMP	: Sodyum trimetafosfat
SB	: Single bond
UDMA	: Üretan dimetakrilattır
w/v	: Hacimde ağırlıkça yüzde
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diş çürüğü, demineralizasyon ve diş dokularının yıkımı sonucu oluşan bakteriyel bir enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır. Çocuklar arasında en çok rastlanılan kronik hastalıklardan biri olduğu belirtilmiştir (1). Süt dişlerinin fonskiyonda olduğu en yoğun dönem büyüme ve gelişim dönemidir. Süt dişleri sindirim sisteminin ilk basamağını oluştururlar ve beslenmeyi sağlayarak büyüme gelişime yardımcı olurlar. Aynı zamanda doğru fonasyon ve estetik açıdan da büyük öneme sahiptirler. Çürük veya süt dişlerinin erken kaybı çocuklarda estetik problemlere ve bununla birlikte psikolojik kaygılara yol açabilmektedir (2).

Günümüzdeki estetik kaygıların artması sonucunda adezyon ile diş dokusuna bağlanabilen restoratif materyallerde hızlı bir gelişme meydana gelmiştir. İdeal estetik restoratif bir materyal; diş minesi ve dentinine adezyonla bağlanabilmeli ve düzgün bir yüzeye sahip olmanın yanı sıra renk değişikliğine, pulpada toksik reaksiyonlara ve mikrosızıntıya yol açmamalıdır (3). Bunun yanı sıra adeziv sistemlerin diş dokularıyla yaptıkları bağlanmanın dayanıklılığı ve bütünlüğü de önemlidir. Adeziv sistemler ile ilgili uzun süredir devam eden araştırmaların hedefi güçlü bir bağlanma sağlayabilen, yalnızca mekanik olarak değil biyolojik ve estetik açıdan da esas olan bir adezyonu mümkün kılmaktır (4). Günümüzde kullanılan dentin bonding ajanlar asitleme ve yıkama (etch&rinse, ER) ve kendiliğinden asitlenen (self-etch, SE) olmak üzere 2 ana grupta değerlendirilmektedir.

Dentin adezyonu, hibrit adeziv-dentin dokusunun oluşturduğu doku mühendisliğinin özel bir biçimi olarak kabul edilir. Adezivin dentin dokusundaki kolajen liflerin arasından yayılabilmesi ve kolajen lifleri sarabilmesi için gereken fiziksel ve kimyasal adezyonu içeren karmaşık bir işlemdir. Bununla birlikte, adeziv uygulanmadan önce diş kurutulduğunda, açığa çıkan kolajen lifler, su kaybı ve inter-veya intra-fibriller mineralin mekanik desteğinin olmaması nedeniyle çöker. Kolajen lif ağının çökmesi, adezivin dentine infiltrasyonunu sınırlar ve bağlanma gücünü azaltır (5).

Diş sert dokularının oluşumunda her dokunun gelişimi sırasında o dokuya özgü hücre dışı matriks (ekstraselüler matriks, ECM) proteinlerinin etkili olduğu gösterilmiştir (6). Bu noktada sentetik olarak hedefe yönelik üretilen peptitler öne

çıkmaktadır (7). Peptitlerden 14 aminoasit zincir uzunluğundaki ve mineralizasyonu aktive eden Mineralizasyonu destekleyen peptit 3 (Mineralization promoting peptide 3, MPP3) bu çalışmada kullanılmıştır. MPP3'ün başlangıç çürüklerinin remineralizasyonunda, dentin hassasiyetinin giderilmesinde kullanılabileceği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (8). MPP3'ün dentine bağlanmada kısa vadede (24 saatte) kolajen yıkımını azalttığı gösterilmiştir (5).

Bu tez çalışmasında süt dişi dentinine bağlanma öncesi uygulanan farklı dentin bonding ajanlar ile MPP3'ün adezyona uzun vadede (0 ay, 3 ay, 6 ay) etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

Günümüzde asitlenmiş mineye rezin esaslı materyallerin bağlanması rutin ve güvenilir bir yöntem olmasına rağmen dentinin içeriğinin doğal yapısının farklı olması nedeniyle dentine bağlanma daha karmaşık bir prosedür içermektedir. Bu sebeple genel bilgiler kısmına dentin dokusunun incelenmesi ile başlanmıştır.

2.1. DENTİN

Dentin, diş kütlesinin en büyük kısmını oluşturan diş sert dokusudur. Kök kısmında sement, krun kısmında mine dokusu ile örtülüdür. Dişin iç kısmında ise pulpa odası ve kök kanallarının duvarlarını oluşturmaktadır.

Dentin bir çeşit bağ doku olarak düşünülebilir. Genellikle bağ dokularında hücre dışı alanın bileşenleri dokunun fonksiyonunu belirler. Dentin dokusunda ise ECM dokunun fonksiyonel olarak ihtiyaçlarının karşılanabilmesini mümkün kılan mineral faz içerecek şekilde farklılıklara ayrılmıştır. Dentin dokusu makromoleküler komponentler içermektedir ve yapısı sement ve kemik gibi diğer mineralize bağ dokularına benzerlik göstermektedir (9). Kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklerinden dolayı dentin, kompakt kemiğe çok benzerdir ancak mine kadar sert değildir. Çünkü minenin inorganik içeriği dentine göre daha fazladır (10).

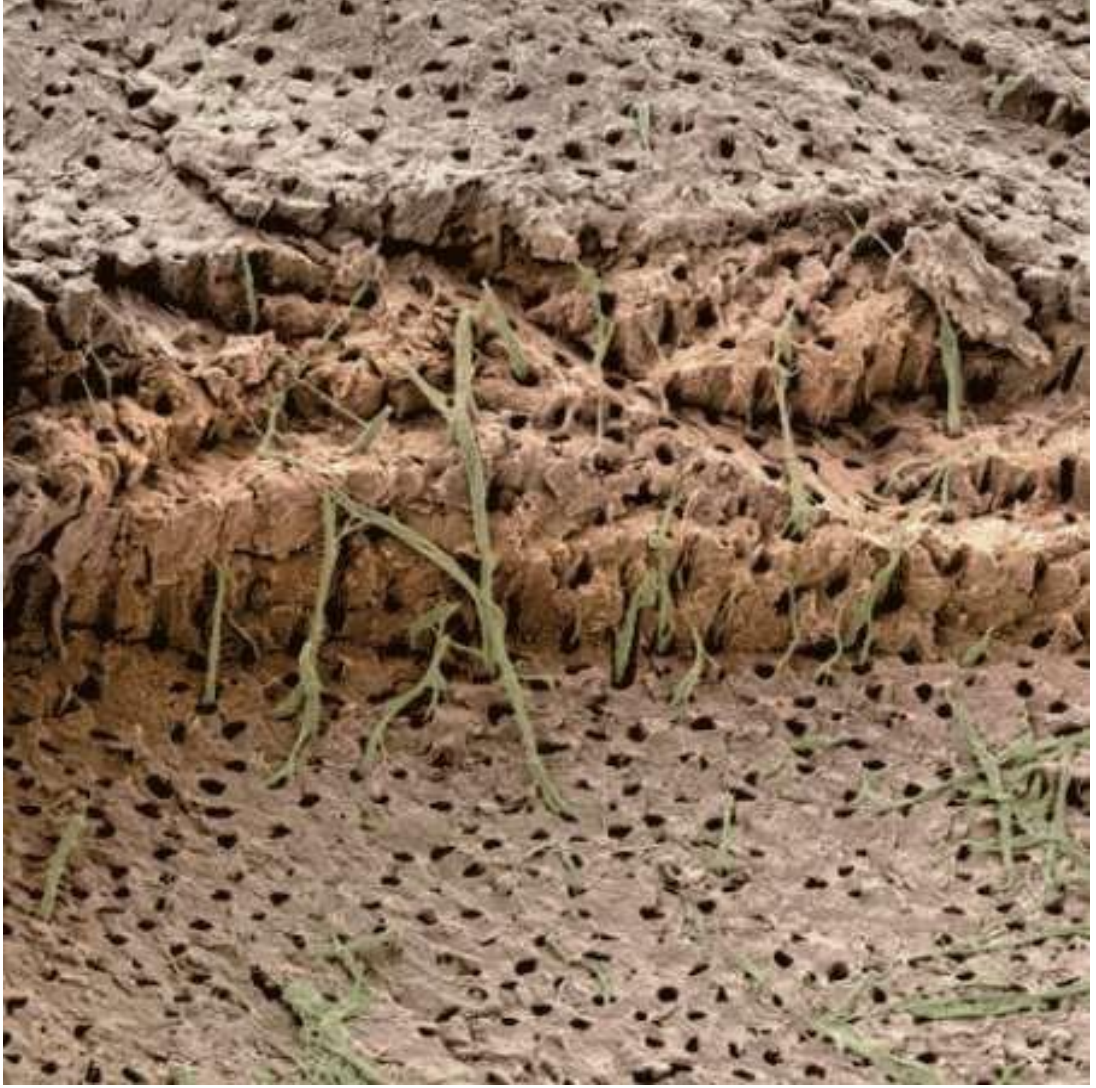
Dentin dokusu yapısal olarak odontoblast, odontoblastik uzantı, dentin tübülleri, peritübüler dentin, intertübüler dentin ve periodontoblastik boşluklardan oluşmaktadır. Organik ve inorganik maddeler dentin içerisinde düzensiz olarak dağılırlar. Bu nedenle dentin heterojen bir dokudur. Dentin tübüllerinin içinde pulpadaki odontoblastik hücrelerinin sitoplazmik uzantıları bulunmaktadır. Tübüllerin çevresinde mineralizasyonu yüksek olan peritübüler dentin bulunmaktadır. Tübüller arasındaki boşluğu da peritübüler dentinden daha az mineralizasyona sahip intertübüler dentin oluşturmaktadır. İntertübüler dentin, dentin dokusunda en fazla hacme sahip olan dentin dokusudur (11).

Dentin tübülleri, dentine materyallerin ulaşmasını sağlayan ana kanallardır. Dentin-mine veya dentin-sement birleşiminden pulpa dokusuna doğru dentin tübülleri hafifçe S çizerek ulaşmaktadır. Pulpa yüzeyi mine-dentin yüzeyindeki dentin dokusuna göre daha az yer kaplamaktadır. Dentin tübülleri pulpaya doğru gittikçe

birbirine yaklaşır ve tbl çapları da gittikçe artar (12). Bu nedenle pulpaya komşu yüzeyde tbl yoğunluğu oldukça fazladır. Tbl sayısının mine-dentin sınırında 15.000-20.000 tbl/mm² olduğu, bu sayının pulpaya yakın bölgelerde ise 45.000-65.00 tbl/mm²'ye ulaştığı bildirilmektedir (13-15). Yüzeyel dentin bölgesinde tbl yoğunluğu %1 iken, derin dentin bölgesinde %30'lara ulaştığı görülmüştür (16,17). Tübüllerin pulpaya doğru genişleyerek uzanması da dentinin geçirgenliğini pulpaya doğru arttırmaktadır (18).

Süt dişlerinde tbl çapının ve yoğunluğunun daimi dişlere göre daha az olduğu bildirilmiştir (19,20). Bunun sebebi süt dişlerindeki peritübüler dentin kalınlığının daha fazla olmasıdır fakat bunu tam tersi olarak süt dişlerindeki tbl çapı ve yoğunluğunun daha fazla olduğunu savunan araştırmacılar da bulunmaktadır (21,22).

Dentin kanallarının içerisindeki sıvıya "dentin lenfi" adı verilmektedir. Bu sıvı sayesinde dentin dokusunun mine dokusundan farklı olarak esneme kabiliyeti ve yüksek okluzal basınç sonucu oluşan stresleri absorbe edici ezelliği bulunmaktadır. Böylelikle yüksek kırılganlık gösteren minenin altında adeta bir yastık görevi görmektedir. Ancak daha az inorganik madde bulundurmasından dolayı yüksek asit atakları karşısında dentin dokusu mine dokusuna oranla daha savunmasızdır. Mine-dentin dokusuna ulaşmış çürüklerin, dentin dokusunda kolaylıkla pulpaya doğru ilerleyebileceği de bildirilmektedir (12).



Resim 2.1. Dentin dokusunun büyütülerek gösterilmiş hali (x425).

Dentin tübüllerinin içinde bulunan odontoblastik uzantılar yeşil renk ile gösterilmiştir (23).

2.1.1. Dentinin Yapısı

Dentin ağırlık olarak %70 inorganik maddeler, %20 organik matriks, %10 sudan oluşmaktadır. Hacim olarak da %50 inorganik hidroksiapatit, %25 kollajen esaslı organik madde ve %25 sudan meydana gelir. En önemli inorganik komponent hidroksiapatittir $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Aynı zamanda az miktarda flor, magnezyum, çinko, sülfat gibi mineraller de yer almaktadır. Dentin dokusunda mineye göre daha az inorganik içerik bulunması ve hidroksiapatit kristallerinin boyutlarının daha küçük olmasından dolayı mineye göre daha yumuşaktır (24). Dentinde bulunan hidroksiapatit kristallerinin genişlikleri 30 Angstron ($\text{\AA}$), uzunlukları 200-1000 $\text{\AA}$ civarındadır

(25). Organik matriksin %90'ını kolajen oluşturmaktadır. Kolajen matriks en fazla Tip I kolajenden ve az miktarda Tip V kolajenden meydana gelmektedir. Bunun yanı sıra mukopolisakkaritler, yağlar, sitrik asit, büyüme faktörleri de bulunmaktadır (26). Dentindeki su içeriği bulunduğu bölgeye bağlı olarak değişmektedir. Mevcut suyun %1' den az miktarının hidroksiapatit kristalleri ve kolajenle birlikte olduğu düşünülmektedir (27).

Kolajen ağ üzerine odontoblast hücreleri tarafından sentezlenen hidroksiapatit kristallerinin birikmesi sonucu oluşan dentin dokusunun primer, sekonder, tersiyer ve sklerotik adı verilen çeşitli türleri mevcuttur. Bunun yanı sıra dentindeki çürük etkileşimine bağlı olarak etkilenmiş dentin ve enfekte dentin diye ayrı bir sınıflandırma da bulunmaktadır.

2.1.2. Dentin Tipleri

Odontoblastların kolajen matriksini sentezlemeleriyle dentinogenezis başlamaktadır. Kolajen matriks salınmasıyla birlikte mineralizasyon oluşmaya başlar ve odontoblastik hücreler uzantılarını bırakarak mine-dentin sınırına doğru çekilmeye başlar. Bu nedenle ilk oluşan dentin tabakası pulpal yüzeyde olmaktadır. Mineralize olmamış ilk dentin tabakasına “predentin” denilmektedir. Predentin odontoblastların hücre gövdelerine komşu halde bulunmaktadır. Dentin oluşumu mine oluşumundan farklı olarak diş sürdükten sonra ve hatta hayat boyu devam etmektedir (28). Süt dişlerinde predentin tabakası koronal bölgeden kökün orta üçlüsüne doğru gittikçe azalmakta ve apikal bölgede kaybolmaktadır (29).

2.1.2.1. Primer dentin

Dişin gelişimi sırasında ilk oluşan dentin tabakasıdır. Büyük bir kısmı diş sürmesinden önce olmak üzere odontoblastlar tarafından yapılır. Diş sürmesinden kök oluşumunun tamamlanmasına kadar geçen yaklaşık 3 yıllık bir sürede oluşumu devam etmektedir. Dişin ilk şeklini belirleyen bu tabakaya ortodentin veya gelişimsel dentin tabakası da denmektedir (15,18). Günlük ortalama salgılanma miktarı 4 mikrometre (μm)'dir (30,31).

2.1.2.2. Sekonder dentin

Primer dentin oluşumu tamamlandıktan sonra belirgin bir uyarın olmasa bile dentin oluşumunun devam ettiği görölmektedir. Dişin kök gelişimi tamamlandıktan sonra ve dişin klinik olarak kuran kısmının ağız içerisinde fonksiyona geçmesinden sonra yapımı devam eden bu dentin tabakasına sekonder dentin denmektedir (12,15,32). Günde yaklaşık 0,5 µm kalınlığında olmak üzere pulpa-dentin sınırı boyunca salgılanmaktadır (33). Pulpa dokusunun komşu olduğu dentin duvarları tamamen sekonder dentin dokusu olmakla birlikte pulpa odasının tavanında ve tabanında pulpa boynuzlarını korumak amacıyla yan duvarlara göre kalınlığı daha fazla bulunmaktadır (15,18).

2.1.2.3. Tersiyer dentin

Travma, erozyon, atrizyon, abrazyon, çürük ve bir takım işlemler gibi orta dereceli uyarınlar karşısında, uyarının olduğu bölgedeki pulpa dokusuna komşu yüzeyde biriken dentin dokusuna tersiyer dentin adı verilmektedir (15,33). Tersiyer dentin dokusu “reaksiyoner tersiyer dentin” ve “reperatif tersiyer dentin” olmak üzere 2 alt gruba ayrılmaktadır. Dişe gelen uyarının şiddeti hafif veya orta düzeyde ise primer ve sekonder dentinin yapımında görev alan primer odontoblast hücreleri yaşamına devam ederek reaksiyoner tersiyer dentin dokusunu oluştururlar. Bu dentinin oluşum hızı sekonder dentine göre 3 kat daha fazla olmaktadır (34). Odontoblast hücrelerinin her birinin yaşla birlikte oluşturduğu dentin miktarı artmaktadır. Fakat yaş arttıkça dentinojenik aktivitenin azalmasıyla birlikte reaksiyoner dentin dokusu oluşumu yavaşlamaktadır (35). Dişe gelen uyarının şiddeti çok fazla ise primer ve sekonder dentini oluşturan odontoblast hücreleri hayatta kalamaz ve pulpa dokusundaki mezenşimal hücreler sekonder odontoblast hücrelerine dönüşerek tübül yapısı daha az ve düzensiz olan reperatif tersiyer dentin dokusunu oluştururlar (32,33,36). Reperatif tersiyer dentin dokusu uyarının olduğu kısımda pulpaya komşu olan bölgede 1 ay sonrasında mikroskopik olarak görünür hale gelmektedir.

Reperatif tersiyer dentin ve reaksiyoner tersiyer dentin dokusu pulpa-dentin kompleksinin rejeneratif özelliğini açıkça ortaya koymaktadır. Reperatif tersiyer dentin dokusu tübül yapısı olarak primer dentinden farklılık gösterdiği için dentin tübülleri devamlılık göstermemektedir. Reperatif tersiyer dentin ve primer dentin

arasındaki bu hat mikroorganizma ve yabancı maddelerin pulpaya doğru ilerlemesinde bir bariyer görevi görerek önemli bir savunma hattı oluşturmaktadır (13).

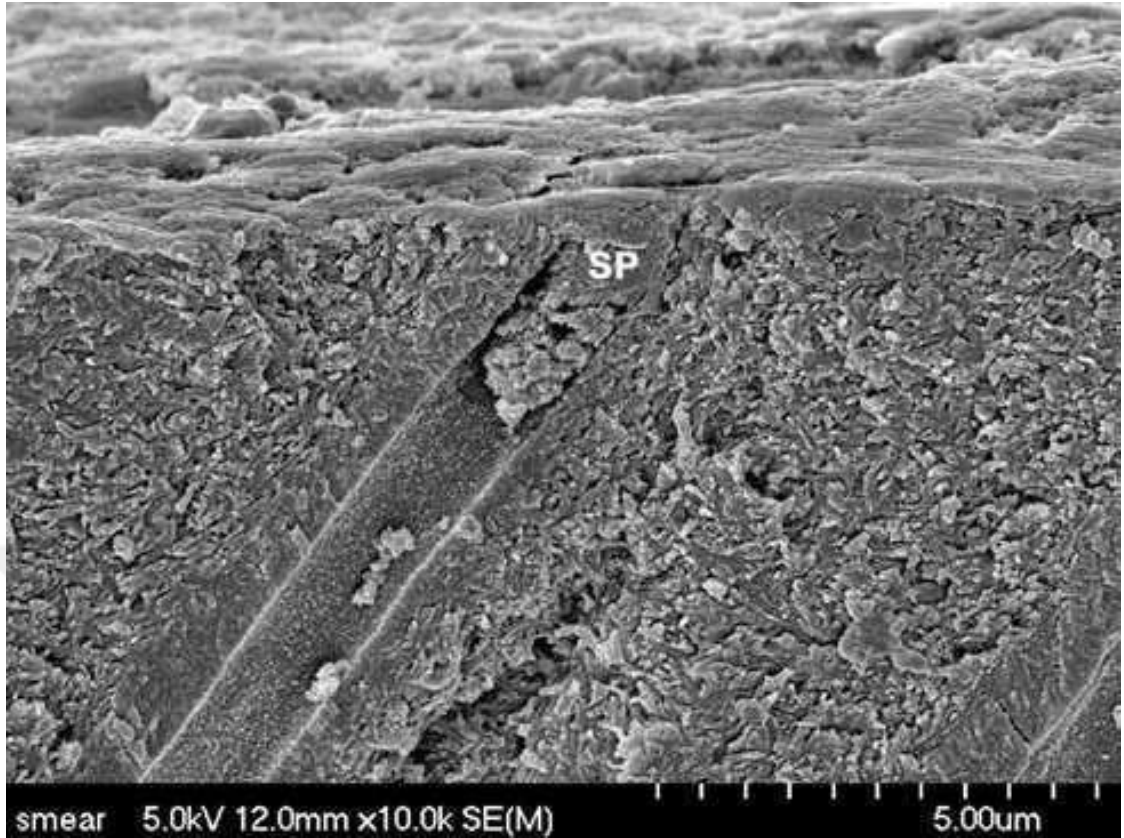
2.1.2.4. Sklerotik Dentin

Hafif dereceli uyaranlar karşısında peritübüler dentinin genişlemesi veya intertübüler minerallerin depozisyonu ile oluşmaktadır. Sklerotik dentin daha sert, daha az geçirgen ve daha az hassastır. Dentin tübüllerinin kısmen ya da tamamen tıkanması ile karakterizedir.

Süt azı dişlerinde, kök oluşumunun tamamlanmasından dişin eksfoliasyonuna kadar geçen zaman içinde sekonder ve tersiyer dentin dokusunun yapımı sayesinde pulpa odasının büyüklüğü yaklaşık %23,3-29,25 oranında azalmaktadır (37).

2.1.3. Smear Tabakası

Kavite preparasyonundan sonra dentinin yüzeyinde oluşan, içerisinde denature kolajen, dentin talaşı, mikroorganizma ve hidroksiapatit içerdiği gözlenen tabakaya smear tabakası denmektedir (15). Yüzeyel ve derin olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır. Yüzeyel tabakası 1-5 µm kalınlığındadır ve yüzeye güçsüzce bağlanır. Kolaylıkla uzaklaştırılabilir. Derin tabakası 6- 40 µm derinliğinde dentin tübüllerinin içine doğru girer ve kuvvetli bir şekilde bağlanır (38). Dentin tübülleri ve dentin tıkaçları, dentin tübüllerini çoğunu tıkamaktadır. Bu nedenle dentin sıvı hareketlerinde büyük oranda azalmaya neden olmaktadır (39). Smear tabakası iyi bir bariyer olmasına rağmen dentine adezyonu zayıftır ve asit ataklarına karşı dayanıklı değildir. Dentin yüzeyine sitrik asit uygulama sonrasında smear tabakasının ve tıkaçlarının tamamen uzaklaştığı, aynı zamanda sıvı hareketlerinde 5 ila 40 kat artış olduğu tespit edilmiştir. Fosforik asit uygulaması diğer asit uygulamalarına göre daha etkili olup dentin geçirgenliğinde de büyük bir artışa sebep olmaktadır (40,41). Dentin yüzenin smear tabakası ile kaplı olduğunda 0,6-0,8 µm çapındaki Streptococcus mutans bakterilerinin tübüllerden geçemediğini ve asitleme etkisiyle smear tabakasının kaldırılması sonucu bakterilerin dentin tübüllerinden geçebildiğini belirten araştırmacılar bulunmaktadır (42).



Resim 2.2. Dentin tübüllerinin içerisine doğru girmiş smear tıkaçı (43).

2.2. ADEZYON

Restoratif diş hekimliğinde tedavilerin başarılı bir şekilde yürütülebilmesi için kullanılan restoratif materyallerin fiziksel, estetik özelliklerinin geliştirilebilmesi ve diş sert dokularına bağlanma yeteneklerinin artırılması gerekmektedir (44).

Latince kökenli “adhaerere” kelimesinden gelen adezyon bağlantı anlamına gelmektedir. Farklı moleküller arasındaki çekim kuvvetini veya iki farklı yüzeyin bağlantısını belirtmek için adezyon, aynı moleküller arasındaki bağlantıyı belirtmek için kohezyon terimi kullanılmaktadır. Adezyonu oluşturan yapı adeziv, adezivin uygulandığı yapı aderent olarak adlandırılmaktadır. Genel olarak sıvı formda bulunan adeziv iki farklı materyal arasında bağlantı sağladıktan sonra sertleşir ve maddeler arasında kuvvet iletimini sağlar. Buradaki önemli nokta adeziv ve aderent arasında bütünüyle bir temasın sağlanmasıdır (44,45).

4 farklı adezyon türü bulunmaktadır:

- Mekanik adezyon: Adezivin, aderent üzerindeki girintili çıkıntılı alanlara kilitlenmesi ile gerçekleşen adezyon türüdür. Bu kilitlenmede adeziv materyalin akışkanlık özelliğinden dolayı girinti ve çıkıntılara doğru akması ve büzülerek tutunması ile yüzey pürüzlülüğü ve porözitenin neden olduğu etkenler söz konusudur (45,46).
- Adsorbsiyon adezyonu: Adeziv ve aderent arasında oluşan primer ve sekonder kimyasal bağlarla oluşan adezyon türüdür. Primer kimyasal bağlar iyonik, kovalent ve metalik bağlar olmak üzere 3 farklı çeşittir. Sekonder kimyasal bağlar hidrojen bağları ve Van der Waals kuvvetlerinden oluşmak üzere 2 çeşittir (45).
- Difüzyon adezyonu: Hareketli moleküller arasında oluşan bağlanma türüdür (47).
- Elektrostatik adezyon: Farklı özelliklere sahip düz yüzeyler arasında görülen elektrostatik çekim sonucu meydana gelen, oldukça zayıf bir bağlantı türüdür (45).

2.2.1. Mineye Adezyon

Adeziv diş hekimliğinin temelleri 1955 yılında Bounocore tarafından atılmıştır. Diş minesinin ortofosforik asit (H_3PO_4) ile aşındırılması sonucu polietil metakrilat restorasyon materyali olarak kullanılmaya başlanmıştır (45,48). Minenin asitlendirilmesi veya prepare edilmesi sırasında mine prizma gövdeleri açığa çıkar ve minenin yüzey enerjisi artar. Adeziv rezin yüzeyi daha iyi ıslatır ve bağlanma yüzey alanı genişler. Asitle pürüzlendirilmiş mine yüzeyindeki mikropörözitelere rezin monorlerinin infiltrasyonu sonucunda rezin tagları oluşur. Rezinin mineye bağlanmasındaki en önemli faktör rezin taglar sayesinde mikromekanik retansiyonun oluşmasıdır. Mineye uygulanan asidin süresi, türü ve konsantrasyonu mine yüzeyinde oluşan poröziteyi ve rezin tag oluşumunu etkilemektedir (45,49). Asitleme işlemi için günümüzde daha çok %35-37 konsantrasyondaki fosforik asit kullanılır ve mineye adezyonda en başarılı asit olduğu kabul edilmektedir (50).

2.2.2. Dentine Adezyon

Dentinin organik içeriği mine dokusuna göre daha fazla olduğu için başarılı bir adezyon sağlamak dentin dokusunda oldukça zordur. Dentin daha fazla kolajen içerdiği için protein oranı daha fazladır. Bu nedenle yüzey enerjisi daha düşüktür. Dentin tübülleri dentin lenfi içerdiğinden ayrıca kavite preparasyonu sonrasında smear tabakası oluşması sebebiyle nem kontrolünü sağlamak oldukça zordur (51).

İlk kez 1979 yılında Fusayama tarafından dentini asitleme fikri ortaya atılmıştır. Dentin yüzeyine asit veya EDTA (etilendiamin tetraasetik asit) uygulamasıyla smear tabakası ortadan kaldırılmış ve kısmi demineralizasyonla yüzey pürüzlendirilerek dentin yüzey koşullarının değiştirilmesi sağlanmıştır. Bu işlem için

%10 fosforik asit, %2.5 maleik asit, %10 sitrik asit, %25 nitrik asit uygulanabilir.

Nakabayashi ve ark. 1982’de dentin dokusun asitlenmesiyle smear tabakasının uzaklaştırıldığını; bunun sonucunda dentinin geçirgenliğinin arttığını, apatit kristallerinin çözündüğünü, dentin kolajen matriksinin ortaya çıktığını ve mikropöröz bir yüzey oluşturarak dentinin yüzey enerjisinin arttığını tespit etmişlerdir. Kolajen matriksin açığa çıkmasıyla fibrillerin içinde mikro boşluklar oluşmaktadır ve düşük viskoziteli monomerlerin bu bölgeye uygulanmasıyla rezin ve dentinden oluşan bir difüzyon tabakası meydana gelmektedir. Polimerizasyon sonucu karmaşık fibril ağ içerisine rezin materyalinin girmesi ile oluşan dentin ve rezin tabakası “hibrit tabaka” olarak adlandırılmıştır. Böylelikle dentini asitlemenin dentine bağlanmanın gerçekleştirilmesine imkân verebilecek bir yöntem olabileceğine dikkat çekmişlerdir. Rezin materyallerin ilk kez dentin dokusu içerisine girmesi konusunda fikir birliğine varmışlardır (52).

Dentinin yüzey enerjisinin ve dentin geçirgenliğinin artması uygulanan asidin türüne, konsantrasyonuna, uygulama süresine ve vizkositesine göre farklılık gösterir. Aynı zamanda dentinin asitlenmesiyle kritik yüzey gerilim değerinde (44.8 dynes/cm) azalma meydana gelir. Bu azalma adezyonun olumsuz şekilde etkilenmesine neden olur. Bu olumsuzluğun önüne geçmek için adeziv sistemlerin ikinci basamağı olan primer uygulanır. Böylece kritik yüzey gerilim değeri artırılmaya çalışılır (45).

Dentin dokusunun asitlenmesi ile hidroksiapatit kristallerinin çözünmesi sonucu kolajen lifler mineral desteğini yitirir. Uygulanan asit nedeniyle dentin tübülleri huni şeklinde açılır. Peritübüler dentin çözünür ve intertübüler dentinde 3-7 µm derinliğinde demineralizasyon meydana gelir. Sonuçta, dentinin porözitesi artar ve kolajen lifler açığa çıkarak rezin monomerlerin infiltrasyonu daha kolay bir şekilde gerçekleşir. Asit uygulamasıyla dentin dokusunda en fazla 10 µm derinliğinde dekalsifikasyon oluşması beklenir. Bunun nedeni, daha fazla dekalsifikasyon olduğunda monomer infiltrasyonun tam olarak gerçekleştirilememesi olarak bildirilmiştir (45). Süt dişlerinde peritübüler dentin kalınlığı daimi diş dentinine göre daha fazladır. Bu nedenle hem peritübüler dentin hem de intertübüler dentindeki kalsiyum ve fosfat konsantrasyonları süt dişlerinde daha düşük bulunmaktadır (53). Süt dişi dentininin tübül sayısı, çapı ve yoğunluğu daha az olduğu için dentin dokusu yüzeysel olarak daha az nemlenmekte ve uygulanan asidin seyrelmesi de daha az olmaktadır. Bu nedenle süt dişi dentinine uygulanan asit daha hızlı ve derin bir etki meydana getirmektedir (54). Dolayısıyla süt dişine uygulanan asit daimi dişe uygulanana göre daha kısa sürede ve dikkatli uygulanmalıdır (55). Ayrıca süt dişlerinin daimi dişlere göre daha az mineralize olması sebebiyle asit süt dişi dentinindeki smear tabakasını daimi diş dentinine kıyasla daha hızlı uzaklaştırarak dentinde daha derin bir demineralizasyona neden olurlar. Tüm bu faktörler süt dişi dentininde daimi diş dentinine göre %25-30 daha kalın bir hibrit tabakanın meydana gelmesinden sorumludur. Bu nedenle bazı araştırmacılar süt dişi dentininde, daimi diş dentinine yakını kalınlıkta ve kalitede hibrit tabaka elde edilebilmek için asitle pürüzlendirme süresinin yaklaşık olarak yarısı kadar kısaltılmasını veya asidin düşük konsantrasyonlarda uygulanmasını önermektedirler (55,56).

Kavite preparasyon şekline göre kompozitin polimerizasyonu sırasında kompozit kütlesi içinde büzülme meydana gelir. Bu fenomen konfigürasyon faktör (C-faktör) olarak ifade edilir (57). C-faktör bağlanan yüzey sayısının bağlanmayan yüzey sayısına bölünmesiyle bulunur ve bu oranın "1/1" olması en dengeli bağlanma olarak kabul edilir. Kompozitte polimerizasyon büzülmesinden kaynaklanan bu stres marjinal açıklığa dolayısıyla mikrosızıntıya ve postoperatif hassasiyete neden olur (58). Polimerizasyon büzülme stresi C-faktöre ek olarak; polimerizasyon reaksiyon hızı, kompozitin sertliği, inorganik doldurucuların hacmi, kompozitteki monomer çeşidi,

kompozit yerleştirme tekniği ve kompozitin opasitesi gibi çeşitli faktörlere de bağlıdır (59–61). Marjinalde adeziv bağlantının kopmasını engelleyebilmek için kompozit içinde meydana gelen polimerizasyon büzülme stresinin karşılanabilmesi amacıyla immediant adeziv direncinin yaklaşık olarak 17 MPa olması gereklidir. Polimerizasyon büzülme stresini azaltmak için, polimerizasyon ışığının kontrolü, kompozitin kaviteye tabakalı şekilde yerleştirilmesi, kavite tabanına stres kırıcı özelliğe sahip materyallerin yerleştirilmesi gibi bazı klinik teknikler uygulanabilir (62,63).

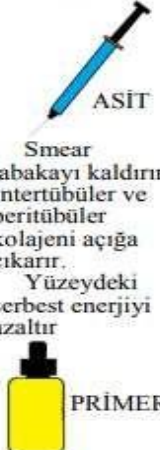
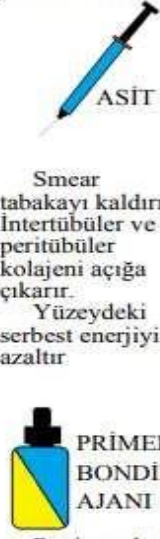
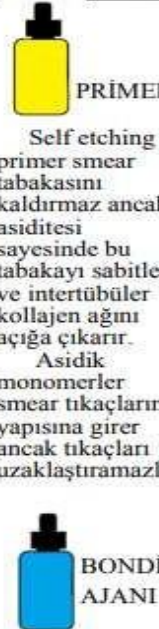
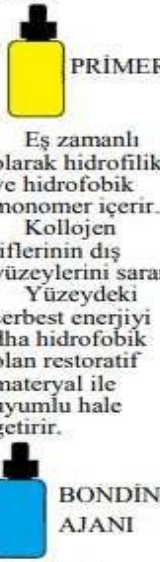
2.2.3. Dental Adeziv Sistemler

Adeziv diş hekimliği ve sistemler her geçen gün gelişmekte ve ilerleme göstermektedir. Modern dental adeziv sistemlerin gelişiminde 3 araştırmacının çok önemli bir yeri bulunmaktadır. Bunlardan ilki Buonocore'un asitle pürüzlendirme sonrasında akrilik rezinlerin diş dokularına bağlanabildiğini göstermesi, ikincisi Bowen'in kompozit ve adeziv rezinleri geliştirmesine dair katkıları, son olarak da Nakabayashi'nin dentine bağlanma ve hibrit tabaka felsefesini ortaya koymasısıdır (64). Bu sayede stabilizasyon ve retansiyonu sağlamak amacıyla sağlam diş dokularının uzaklaştırılmasına son verilmiş ve diş dokusu olabildiğinde korunmaya çalışılmıştır. Hastayı sadece fonksiyonel ve anatomik olarak değil estetik açıdan da memnun etmek, dişten ayırt edilmeyen restorasyonlar yapmak ve bunun için minimal invaziv diş hekimliği kurallarına uyarak, uygun bir adeziv sistem ile çalışmak son zamanlarda büyük önem kazanmıştır (65).

2.2.3.1. Adeziv sistemlerin nesillere göre sınıflandırılması

En yaygın kullanılan sınıflandırma sistemi nesillere göre adlandırılan sınıflandırmadır. Bu sınıflama sisteminde 7 nesil sınıflama vardır. Bunlar kronolojik olarak 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 7. nesil adeziv sistemlerdir. Günümüzde klinik aşama sayısına göre veya adezivin smear tabakası ile olan ilişkisine göre yapılan sınıflamalar daha sıklıkla kullanılmaktadır.

1. 2. ve 3. Nesil adeziv sistemler klinik açıdan yeterli düzeyde bağlanma dayanımı gösterememişlerdir (66). Bunun yanı sıra 4., 5., 6. ve 7. nesil adeziv sistemler güncel adeziv sistemlerdir.

1.,2.,3. JENERASYON	4. JENERASYON	5. JENERASYON	6. JENERASYON	7. JENERASYON
	 Smear tabakayı kaldırır. İntertübüler ve peritübüler kolajeni açığa çıkarır. Yüzeydeki serbest enerjiyi azaltır.	 Smear tabakayı kaldırır. İntertübüler ve peritübüler kolajeni açığa çıkarır. Yüzeydeki serbest enerjiyi azaltır.	 Self etching primer smear tabakasını kaldırmaz ancak asiditesi sayesinde bu tabakayı sabitlet ve intertübüler kollajen ağını açığa çıkarır. Asidik monomerler smear tıkaçlarının yapısına girer ancak tıkaçları uzaklaştıramazlar.	 Mineyi asitler Dentini eş zamanlı olarak hem demineralize eder hem de dentine penetre olarak hibrit tabakası üzerinde çökelti bırakır
	 Eş zamanlı olarak hidrofilik ve hidrofobik monomer içerir. Kollojen liflerinin dış yüzeylerini sarar. Yüzeydeki serbest enerjiyi dha hidrofobik olan restoratif materyal ile uyumlu hale getirir.	 Rezin tagleri oluşturmak amacıyla dentin kanallarının içine penetre olur. Asitlenen dentin üzerine ilk uygulanan tabaka primer görevi görür ve dentin yüzeyindeki serbest enerjiyi azaltır. İkinci tabaka ise 4. jenerasyon bonding ajanı olarak işlev görür	 Primer ile sarmalanmış smear tıaçlarına mikrokanallar vasıtasıyla rezin penetrasyonu sağlanarak rezin tagler oluşur.	
	 Yüksek oranda hidrofobik, az miktarda hidrofilik monomer içerir. Hibrit tabakaya yapısal bir temel sağlamak için kollojen lifler arasına girerek polimerize olur.			

Şekil 2.1. Adeziv sistemlerin nesillere göre sınıflandırılması (66).

a- **1. Nesil dental adezivler:** 1949 yılında Oskar Hagger tarafından ‘Sevriton Cavit Seal’ adlı dental bağlayıcı ajan olarak piyasaya sürülerek ortaya çıkmıştır. İçeriğinde “N-fenilglisin Glisidil Metakrilat Poliüretan (NPG-GMA)” bulunan bu sistemler, asitlenmiş mine ve dentin yüzeyine rezin materyalin, bağlayıcı bir ajan vasıtasıyla bağlanması temeline dayanmaktadır (67). NPG-GMA, bir ucu rezin

materyaline, diğer ucu restoratif materyale bağlanan, iki yönlü bağlayıcılık özelliği bulunan bir moleküldür. Materyal neme çok duyarlı olduğu için düşük bağlanma göstermiştir. Bu nedenle, klinik uygulamalarda genel olarak başarısız sonuçlar meydana geldiği gözlenmiştir.

b- 2. Nesil dental adezivler: 1978'de Japonya'da Clearfil Bond System Fc (Kuraray, Osaka, Japonya) olarak piyasaya sürülmüştür. 2. nesil dental adeziv sistemlerin ilk ürünü olarak kabul edilen bu sistem, fosfat ester (fenil-P ve hidroksietil metakrilat (HEMA)) içermektedir (51).

2. nesil dentin adezivlerde bağlanma, smear tabakasındaki pozitif yüklü Ca iyonları ile adeziv rezinin içerisindeki negatif yüklü fosfat grupları arasındaki iyonik etkileşim ile gerçekleşmektedir. Bağlanma dayanımları 1-10 MPa kadardır ve kompozitin polimerizasyon büzülmesine karşı bağlanma dayanıklılıkları oldukça düşüktür. Kompozit genellikle dentinden ayrılır ve mikrosızıntı oluşur. Ayrıca 2. nesil dental adeziv sistemler hidrofilik grup içermedikleri için smear tabakasına tamamen bağlanma gösteremezler. Bu durum, adeziv sistemin iyonik bağ veya dentin kanalları içerisine resin tagleri oluşturmak için dentinin yüzeyel tabakasına ulaşmalarını engellemektedir (68). İkinci nesil adezivlerin altı aydan sonraki in vitro performansı kabul edilemez olarak bulunmuştur.

c- 3. Nesil dental adezivler: 1980'lerin sonlarına doğru tanıtılan bu sistem çok basamaklı uygulamaları kapsamaktadır. Bu sistemlerin çoğu smear tabakasını ortadan kaldırarak ya da modifiye ederek Fenil-P ya da PENTA (Dipentaerythritol pentaacrylatemonophospate) gibi asidik monomerlerin penetrasyonuna izin vermektedir (47). Asit uygulaması sonrasında açılmış dentin tübüllerine resin penetrasyonu sağlanmıştır. Ancak rezinin hidrofobik yapısı nedeniyle dentine bağlanma kuvvetlerinde anlamlı bir artış olmamıştır (69).

Klinik olarak, üçüncü nesil dental adezivler, birinci ve ikinci kuşağa göre dentindeki mikrosızıntıyı azaltmada daha başarılı olsalar da tamamen elimine edememişlerdir (70,71). Ayrıca günümüzde dental markette ve klinikte kullanımları bulunmamaktadır.

d- 4. Nesil dental adezivler: Bu adeziv sistem 3 basamak halinde uygulanmaktadır. İlk olarak yıkanarak uzaklaştırılan bir asit solüsyonu ile diş dokusu pürüzlendirilir, ikinci basamak olarak hidrofilik monomerlerden oluşan reaktif bir primer solüsyon uygulanır ve son olarak da doldurucu veya doldurucusuz bir bağlayıcı ajan uygulanır. Asitlemenin etkisiyle smear tabakası uzaklaşır ve dentin tübülleri açığa çıkar. Dentinin geçirgenliği artar. İntertübüler ve peritübüler dentinin dekalsifiye olması sonucu kolajen ağ ortaya çıkar (72).

Asitleme sonrasında uygulanan primer bir veya birden fazla hidrofilik monomer içerir. Primerin hidrofilik kısmı dentine, hidrofobik kısmı adezive afinite göstermektedir. Primer açığa çıkan kolajen ağını ıslatır ve penetre olur. Aynı zamanda dentinin ıslanabilirliğini ve yüzey enerjisini de artırır (72). Son olarak primer uygulanan yüzeye bonding ajan uygulanır. Bu ajan primer ile polimerize olarak kolajen ve rezinin birbirine karışmasıyla ortaya çıkan hibrit tabakayı oluşturmaktadır (73). Araştırmalar sonucunda bağlanma dayanımı 20 MPa civarı veya daha fazla olarak bulunmuştur (74).

e- 5. Nesil dental adezivler: 4. nesil dental adezivlerin klinik olarak özenli bir kullanım gerektirmeleri ve zaman alıcı olmaları sebebiyle ortaya 5. nesil dental adeziv sistemler çıkmıştır. Primer ve rezin tek bir şişede birleştirilmiştir ve “tek şişe adezivler” olarak isimlendirilmişlerdir. Fakat yapılan “tek şişe”, “tek komponent”, “tek basamak” gibi terimler doğru sayılmamaktadır. Çünkü primer/adeziv uygulama öncesinde asitleme gerekmektedir. Uygulanan primer/adeziv ise iki veya daha fazla kat uygulanmaktadır. (75).

f- 6. Nesil dental adezivler: 2000’li yılların başında 4. ve 5. nesil dental adeziv sistemlerin uzun çalışma sürelerini azaltmak, asidik jelin yıkama aşamasını ve buna bağlı olarak da kolajenlerin aşırı ıslak veya kuru kalması riskini ortadan kaldırmak amacıyla bu aşamayı kaldırarak asidin primerin yapısına katıldığı adeziv sistemler piyasaya sürülmüştür (76). Bu sistemde diş yüzeyine ilk önce asidik primer uygulanır, sonrasında adeziv uygulanır. Böylelikle uygulama 2 aşamada gerçekleştirilir. Daha sonra bu adeziv sistemlerden bazılarında asidik primer ile adeziv karıştırılmıştır ve tekşişeye düşürülmüştür, böylelikle uygulama tek aşamaya indirilmiştir. Etki mekanizmaları smear tabakasını ve hidroksiapatiti parsiyel olarak çözerek mineralleri ve smear tabakasını birleştiren bir hibrit tabaka oluşturmaktır (77). “Kendiliğinden asitlenen adeziv sistem” olarak adlandırılan bu sistemin araştırmacılar tarafından dentine bağlanmasının yeterli

olmasına karşın mineye bağlanmasının yetersiz olduğu bildirilmiştir (78).

g- 7. Nesil dental adezivler: 2002 yılının sonlarına doğru, asit, primer ve adezivi tek bir şişede birleştirerek “all in one” sistemler olarak piyasaya sürülmüştür. Smear tabakasını çözmek ve teknik hassasiyeti azaltmak amacıyla geliştirilmişlerdir (79). 6. nesil dental adezivlerden farkı ek olarak karıştırma ya da uygulama basamağı içermemesidir. Son yıllarda "All in One" sistemlerin dezavantajlarını ortadan kaldırmak için sunulan "Universal" veya "Multimode" olarak adlandırılan ürünler de yedinci nesil adezivler olarak sınıflandırılmaktadır. Bağlanma dayanımlarının altıncı nesil adezivlere benzer olduğu iddia edilmektedir (80).

2.2.3.2. Adeziv sistemlerin klinik uygulamalara göre sınıflandırılması

1- Asitleme&Yıkama (Etch&rinse, ER) adeziv sistemler: Bu sistem bir yıkama ve durulama evresine sahiptir ve smear tabakasını ortadan kaldırmayı hedeflemektedir. Ortofosforik asit uygulaması sonrasında dentin dokusunda demineralizasyon gerçekleşir ve dentin kanallarının ağzı kısmen genişler. Kolajen lifleri açığa çıkar ve uygulanan adeziv rezinin penetrasyonu artar böylelikle rezin-dentin dokuları arasında mikromekanik bir kenetlenme sağlanır (72). ER adeziv sistemlerde iyi bir tutuculuk ve stabil bir hibrit tabaka oluşabilmesi için açığa çıkan kolajen dokunun içerisine rezinin infiltrasyonu son derece önemlidir. Uygulama şekillerine göre iki farklı şekilde incelenmektedir (81).

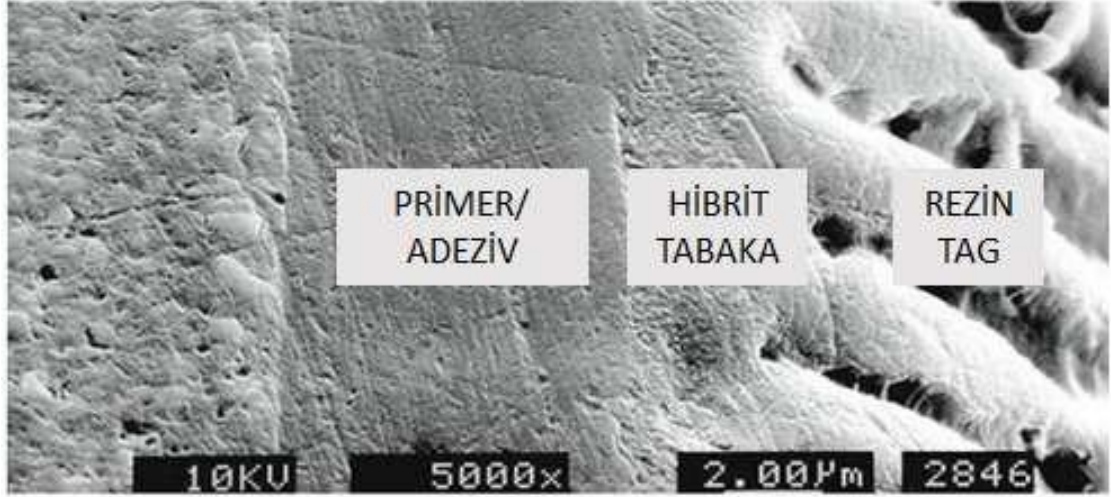
1.a-Üç aşamalı ER adeziv sistemler: Asit, primer ve bağlayıcı ajanın farklı farklı uygulandığı adeziv sistemdir. Mine ve dentine farklı sürelerde ortofosforik asit uygulanmasının ardından uygulama süresinin iki katı süre boyunca yıkama yapılır ve asit uzaklaştırılır. Bu sayede smear tabakası diş yüzeyinden uzaklaştırılmış ve 3-5 µm derinliğinde kolajen fibril ağı açığa çıkarılmış olur. Sonrasında bu işlemi primer ve bağlayıcı ajan uygulaması takip etmektedir (77,82).

Bu teknik ile hem mine hem de dentin dokusuna asit uygulaması yapıldığı için “total etch” tekniği olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde yaygın olarak “asitle ve yıka” olarak bilinmektedir. Dentin yüzeyine doğrudan asit uygulaması pulpada inflamatuvar cevap oluşturacağı düşüncesi ile bu teknik hemen kabul görmemiş fakat yapılan araştırmalar sonucunda total etch sistemine dayanan bu tekniğin başarılı sonuçlar gösterdiği bildirilmiştir (83,84).

Adeziv diş hekimliğinde kullanılan primerlerin bir ucunda rezin ile bağlanmayı sağlayan bisfenol-A-glisidil dimetakrilat (BİS-GMA) gibi yüksek oranda hidrofobik monomer, diğer ucunda ise kolajen fibrillerle bağlanmayı sağlayan hidrofilik özellikteki HEMA bulunmaktadır. Bunlar adezyonda önemli bir rol oynamaktadır (85). Primerlerin hidrofilik özelliği sayesinde kolajen doku yeterince ıslatılır ve ortamdaki su yeterince uzaklaştırılarak bağlayıcı rezin ile adezyon için dentin dokusu hazır hale getirilir (86).

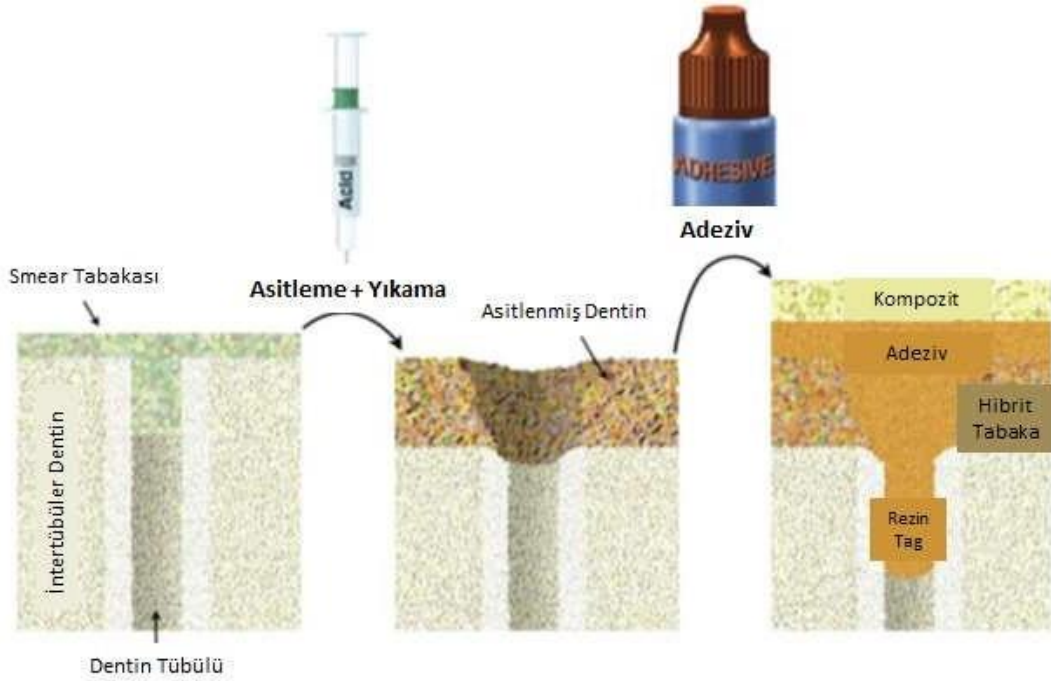
Üç aşamalı ER adeziv sistemlerde primer; aseton, etanol, su gibi çözücülerden bir veya birden fazlasını içerebilir. Aseton, buharlaşabilen ve su ile yer değiştirebilen bir çözücüdür. Bu nedenle bir çözücü su ile ne kadar iyi yer değiştirirse demineralize dentin dokusuna monomer penetrasyonu o kadar etkili olur. Aynı zamanda içerisinde aseton bulunduran adezivlerin asetonun uçuculuğu nedeniyle raf ömrünün kısa olduğunu da unutmamak gerekir. Etanol ve su ise; asit uygulaması sonrasındaki yıkama ve kurutma işlemi esnasında kolajen yapının genişlemesine imkân sağlamaktadır (87).

Üç aşamalı ER adeziv sistemlerde adeziv rezin kısmı çapraz bağlı metakrilatlardan oluşmaktadır. Bunlar BİS-GMA, trietilen glikoldimetakrilat (TEGDMA) ve üretan dimetakrilattır (UDMA) (88). Ana işlevi; kollajen fibrillerin arasındaki boşlukları doldurarak primer ve kompozit rezin ile birlikte polimerize olarak adeziv bağlanmaya önemli ölçüde katkı sağlamaktır.



Resim 2.3. 3 aşamalı adeziv sisteminin diş yüzeyine uygulanması ve etkisi (89).

1.b- İki aşamalı ER adeziv sistemler: Bu adeziv sistem uygulama hatalarını en aza indirmek amacıyla aşamaları azaltılmış ve uygulama şekli daha da basit hale getirilmiştir. Asit uygulaması sonrasında uygulanan primer ve bağlayıcı rezin tek bir şişede birleştirilmiştir. Mine ve dentine uygulanan tek şişe içerisindeki primer ve bağlayıcı rezin dentin kanallarının içerisine uzanarak rezin tagleri oluşturmaktadır. Demineralize dentine uygulanan ilk tabaka primer görevi görmektedir. Böylelikle dentin yüzeyindeki serbest enerji arttırılmış olur. Hidrofilik ve iyonik monomerler bir arada bulunduğu ve ara yüzeyde hidrofobik rezin tabakası oluşmadığından meydana gelen ara yüzey suya daha geçirgen ve degradasyona karşı daha elverişli olmaktadır. Bu durum da bağlanma dayanımlarında zamanla azalmaya neden olmaktadır (85,90).



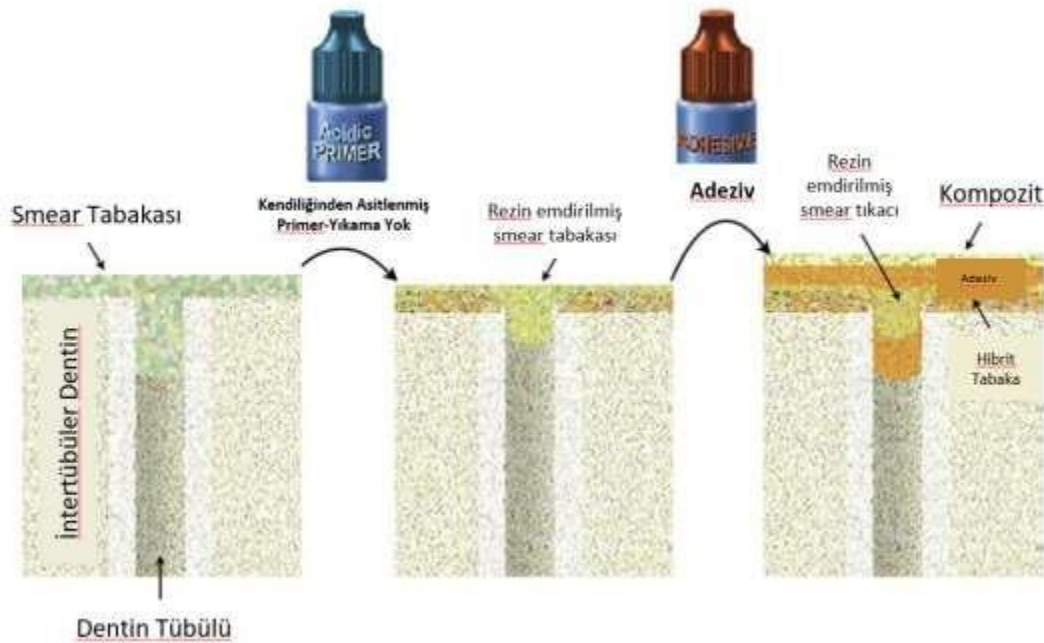
Şekil 2.2. İki aşamalı ER adeziv sistemlerin dentine uygulanması (91).

Uygulama kolaylığının olması ve postoperatif hassasiyeti azaltması gibi avantajlarının yanı sıra üç aşamalı ER sistemlere göre daha düşük bağlanma dayanımı göstermeleri gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Ovalama hareketi şeklinde uygulanması ve çok katlı adeziv uygulanması, iki aşamalı ER sistemlerdeki hidrofobik bağlayıcı ajan eksikliğini kompanse etse de bu sistem bazı self-cure veya dual-cure kompozitler ile uyumsuzluk gösterebilmektedir (92).

Ortofosforik asit uygulaması ardından yıkama işlemi yapılan ER adeziv sistemlerde dentin dokusunun aşırı derecede kurutulması hidroksiapatitini kaybetmiş desteksiz kolajen fibrillerin büzülmesine neden olarak rezinin infiltrasyonunu sınırlandırmaktadır. Yıkama işlemi sonrasında yüzeyin tamamen kurutulmayıp hafif nemli bırakıldığı “nemli bağlanma tekniği” ile kolajen dokunun bozulmayıp sünger gibi davranması sağlanmaktadır. Böylece rezinin dokuya infiltrasyonu daha fazla olarak dayanıklılığı artmaktadır. Fakat bu uygulama esnasında çok fazla hassasiyet gerektirmesi nedeniyle dentinin fazla nemli bırakılması primerin sulanıp etkisinin azalmasına veya rezinin hibrit tabaka içinde polimerizasyonunun tam gerçekleşememesine neden olarak bağlanmayı olumsuz etkilemektedir (89).

1- Kendiliğinden asitlenen (Self etch, SE) adeziv sistemler: Total etch adeziv sistemlerin uygulamalarındaki zorluklar nedeniyle uygulama süresinin daha kısa olduğu ve teknik duyarlılığın daha az olduğu SE adeziv sistemler piyasaya sürülmüştür. Tek basamaklı ve iki basamaklı olmak üzere iki farklı şekilde uygulanmaktadır.

2.a-İki aşamalı SE adeziv sistemler: Bu sistem ilk olarak Japonya’da tanıtılmıştır. SE primer ve hidroforbik adeziv rezin olarak fonksiyon gören asidik monomer içermektedir. Asidik primer, mine ve dentinin aynı anda asitleme ve primerleme işlemini yerine getiren fosfanat veya karboksilat rezin içermektedir. Asidik primer, geleneksel asidin aksine yıkanıp kurutulmaz (89). Bu sebeple teknik daha kolay hale getirilmiştir. Ayrıca yıkama ve kurutma işlemlerinin ortadan kaldırılması adezyonu olumsuz yönde etkileyen dentinin aşırı kuruluğunu ve nemliliğini önlemektedir (93,94). Su molekülü asidik primerin içerisindeki bir bileşendir çünkü diş sert dokularının demineralizasyonunu tetiklemeli ve monomerlerin iyonize olmasını sağlamalıdır. Bu durum, SE adeziv sistemleri, substrat nem derecesindeki değişikliklere karşı daha az duyarlı hale getirirken hidrolitik bozunmaya karşı daha duyarlı hale getirmektedir (95).



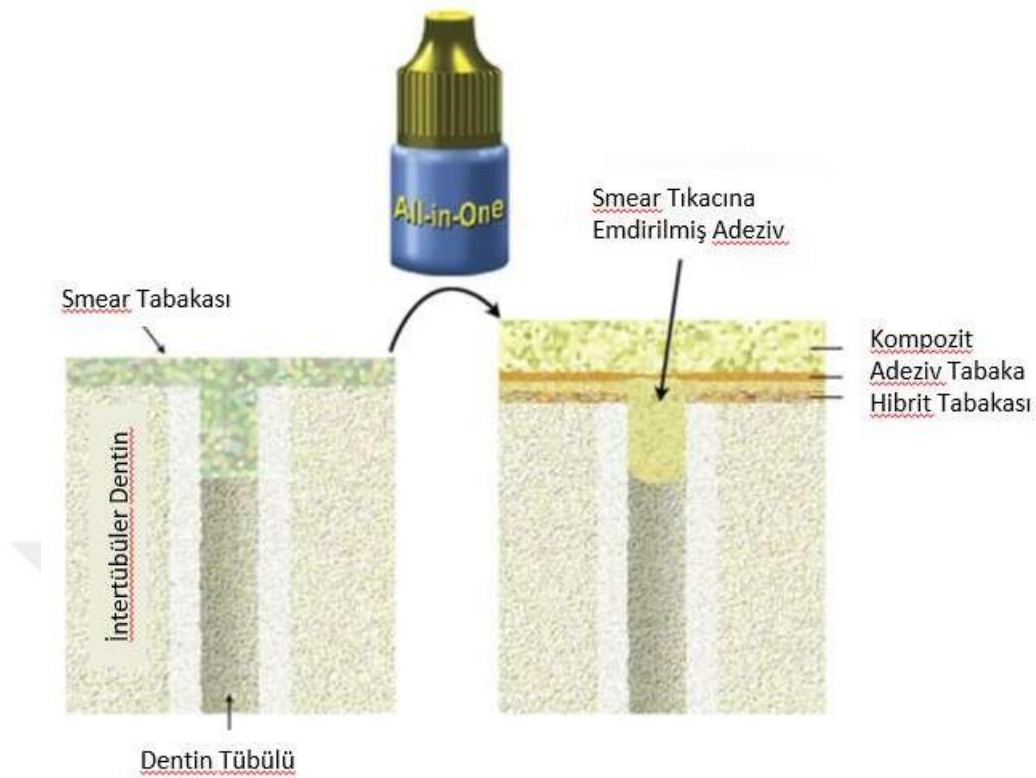
Şekil 2.3. İki aşamalı SE adeziv sistemlerin uygulanması (91).

Dezavantajı olarak bu sistemin mineyi yeteri kadar asitleyememesi gösterilmektedir. Eğer mine dokusu yeteri kadar asitlemezse örtücülük seviyesi de sınırlı düzeyde olmaktadır (96,97). Piyasada ilk üretilen SE adeziv sistemlerden bazıları, termal siklus ile strese maruz bırakıldığında ER adeziv sistemlere kıyasla daha fazla bozulma göstermiştir. Yeni geliştirilen SE adeziv sistemlerden bazılarının mineye bağlanma dayanımı fosforik asit bazlı adezivlerin mineye bağlanma dayanımlarına yaklaşmaktadır (89).

SE adeziv sistemler smear tabakasını tam olarak kaldırmazlar ve bazen smear tabakalarının kalıntıları in vitro olarak bağlanma dayanımını etkileyebilmektedir (98). Bazı SE adeziv sistemlerde kolajen fibriller arasındaki boşluk tamamen dolmaz ve kısmen demineralize dentin tabakaları kalır. Adezivin nüfus edemediği bu hibrit tabakanın mevcudiyeti rezin-dentin ara yüzündeki stresin artmasına neden olur (99).

ER adeziv sistemlere göre SE adeziv sistemler daha az teknik hassasiyet gerektirmektedir. Rezinin infiltrasyon derinliği ile demineralizasyon derinliği arasında daha az fark görülmektedir. SE adeziv sistemlerde demineralizasyon ve infiltrasyon eş zamanlı görülmektedir (100). SE adeziv sistemlerin daha az postoperatif duyarlılığa neden olduğu yönündeki görüşlere rağmen, yapılan son klinik çalışmalar adezivin türü ile postoperatif hassasiyet arasında bir ilişki bulunmamıştır (101–104).

2.b- Tek aşamalı SE adeziv sistemler: Adeziv sistemlerdeki adımları basitleştirme ve uygulama kolaylığı sağlama açısından asit, primer ve adeziv rezinin tek bir şişede birleştirildiği tek aşamalı SE adeziv sistemler geliştirilmiştir. Bu sistem kompozite doğrudan temas eden polimerize edilmemiş iyonik monomerler içermektedir. Aynı zamanda bu adeziv sistem, rezin-dentin ara yüzünün hidrolitik bozulmasını kolaylaştırarak yarı geçirgen membranlar gibi davranma eğilimi göstermektedir (105). Bu adeziv sistemin, mineyi demineralize edebilecek ve dentin smear tabakasına penetre olabilecek kadar asidik olması gerekmektedir. Rezin monomerlerinin genellikle de organofostatların ve karboksilatların hidrofilikliği yüksektir. Bu monomerlerin bazıları çok hidrofiliktir, bu da onları dejenerasyona daha yatkın hale getirmektedir.



Şekil 2.4. Tek aşamalı SE adeziv sistemlerin dentine uygulanması (91).

Tek aşamalı SE adezivlerin pH'ı klinik başarıyı etkilemektedir. Aynı zamanda dentin yüzeyinde adeziv uniform bir kalınlık kaplayamayacağı için birden fazla katman halinde uygulanması ile dentin bağlanma dayanımı önemli ölçüde artırılabilir. Böylelikle de sızıntı önemli ölçüde azalabilmektedir (106).

Tek aşamalı SE adezivlerin in vitro ve klinik davranışları hidrofobik adeziv katmanının ekstra uygulamalarıyla geliştirilmiştir. Basitleştirilmiş SE adezivler vital derin dentin için hermetik bir sızdırmazlık sağlayamamaktadır (107,108).

3- Universal adeziv sistemler: Universal adezivler veya bir diğer adıyla “multimod” adezivler 2011 yılından itibaren klinik pratiğinde kullanılmaya başlanmıştır. Universal adezivler hem SE, hem ER yöntemiyle kullanılabilir gibi, adezivin minde ER, dentinde SE modunda kullanılması sonucu ortaya çıkan selektif-etch yöntemiyle de uygulanabilmektedir (109). Bu adeziv sistemlerin uygulama şekilleri üründen ürüne değişiklik gösterebilmektedir. Bu ürünler tek şişe olabileceği gibi primer ve bond olmak üzere iki ayrı şişe şeklinde de olabilir. İki şişe şeklinde olanlar karıştırılarak veya primer ve bond sırasıyla olacak şekilde uygulanabilir.

Asitleme haricinde ürünün basamak sayısı bir veya iki olurken, ER veya selektif-etch yönteminde kullanılmak istendiğinde uygulama bir basamak daha artmaktadır. Hangiyöntem kullanılırsa kullanılsın dentinde yeterli düzeyde bağlanma gözlenirken, minede fosforik asit uygulanmasını takiben yıkama yaklaşımı önerilmektedir (110).

Tek aşamalı SE adezivler ile universal adezivler arasındaki temel fark çoğu universal adezivin hidroksiapatite iyonik olarak bağlanabilen 10-Metakriloiloksidesil Dihidrojen Fosfat (10-MDP) veya diğer monomerleri içermesidir. Bu molekül, güçlü dekalsifikasyona neden olmadan stabil kalsiyum-fosfat tuzları oluşturmaktadır. 10-MDP'nin oluşturduğu kimyasal bağ, SE adezivlerin yapısında bulunan diğer monomerlerin oluşturduğu (4-META (4-metakriloksietil trimellitat anhidrit), fenil-P gibi) kimyasal bağdan daha karardır (111). Universal adezivler içerik olarak, hidrofilik (HEMA), hidrofobik (dekandiol dimetakrilit (D3MA)) ve ara (BİS-GMA) monomerlerin bir kombinasyonundan oluşmaktadır. Bu kombinasyon, universal adezivlerin, çeşitli yüzey koşullarında hidrofilik diş substratı ve hidrofobik restoratif materyal arasındaki boşluk üzerinde bir köprü oluşturmaya izin vermektedir (112). Bir diğer yandan HEMA'nın varlığı universal adezivlerin içerdiği 10-MDP'nin bağlanma yeteneğini engellemektedir. Çünkü MDP-Ca tuzlarının oluşumunu azaltmaktadır (113).

Universal adeziv sistemlerin sağlam mine dokusu üzerine aktif olarak uygulanması, pasif olarak uygulanmasına göre daha yüksek bağlanma dayanımı gösterdiği tespit edilmiştir (114). Yüzeye ovalayarak uygulanması ile birlikte mine ve dentin yüzeyinden daha fazla miktarda çözücü buharlaşır. Aynı zamanda 10-MDP ile hidroksiapatit krsitalleri daha yakın bir temasa geçebilir (115).

Yapılan bir araştırmaya göre hem SE hem de ER tekniğiyle uygulanan universal adezivler, 12 ay suda bekletilmiştir ve ara yüzeyde bozulmalar gözlenmiştir. Fakat SE tekniği daha az nanosızıntı göstermiştir (116). Adezyon protokolünün daha basit hale getirilmesine rağmen bu adeziv sistemler tek aşamalı SE adezivlerde gözlemlenen benzer bozulma modeline maruz kalacaktır (117).

2.3. DENTİNE BAĞLANMA İLE İLGİLİ LİTERATÜRDE BİLDİRİLEN SORUNLAR VE ÇÖZÜM ÖNERİLERİ

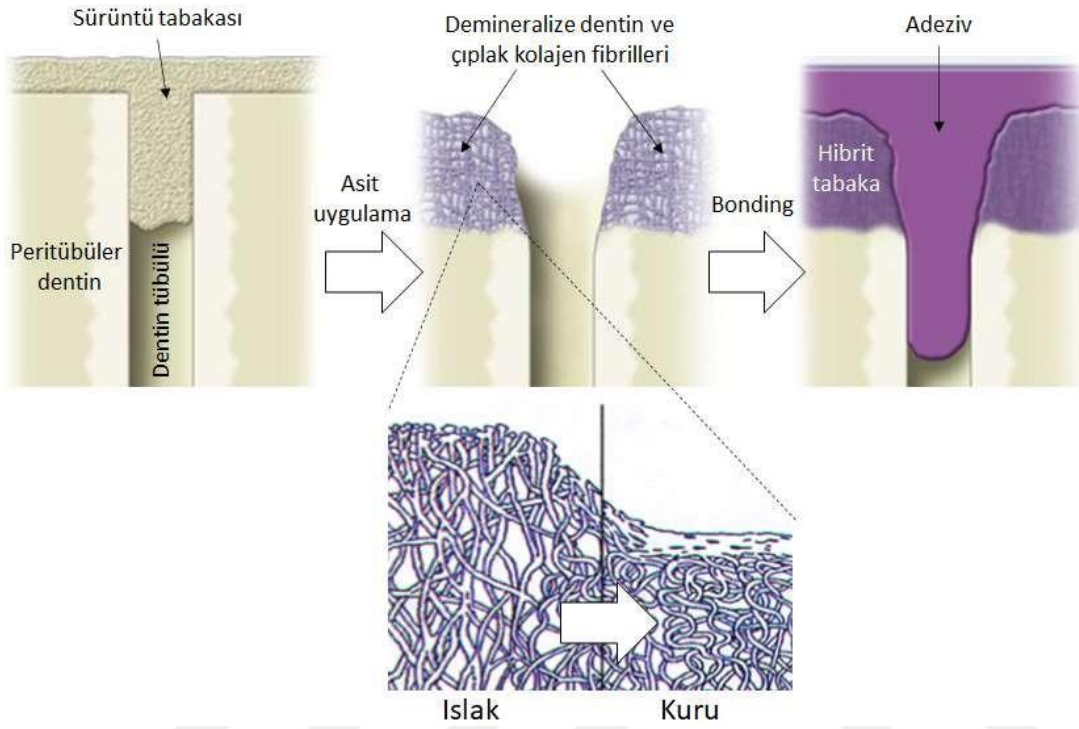
Dental biyomalzemeler alanında kaydedilen ilerlemeler sayesinde günümüzde estetik görünüm ve dayanıklılık bakımından yüksek kalitede protetik ve restoratif malzemeler üretilmektedir. Ancak bu malzemelerin nihai başarısı, mekanik dayanım, optik, biyouyumluluk gibi özelliklerinin yanında, diş dokularına ne kadar başarılı bir şekilde bağlandıklarına da bağlıdır. Özellikle dentin dokusuna bağlanma, özel bir doku mühendisliği uygulaması olarak kabul edilir ve başarılı bir bağlanma için, adeziv ajanın, dentindeki kolajen liflerini infiltre edebilmesi ve sarmalayabilmesi gerekir (118).

Dentinin bağlanma işlemi için hazırlanması sırasında oluşan ve denatüre olmuş kolajen ve mineral kalıntıların oluşturduğu smear tabakası, bunun gerçekleşmesi önündeki ilk engeldir (119). Smear tabakasını ortadan kaldırmak için bağlanma öncesinde dentin yüzeyine asitle muamele edilmesi (total-etch) uzun süredir kullanılan bir yöntemdir. Asitle muamele, smear tabakasını ortadan kaldırarak bağlayıcı ajanın dentin dokusuna daha iyi penetre olmasına olanak sağlamaktadır. Ancak asitle muamele, smear tabakasının yanında, dentinin üst yüzeyini de demineralize ederek çıplak kolajen liflerinin açığa çıkmasına neden olmaktadır. Bu çıplak kolajen liflerinin mekanik ve biyolojik özellikleri, normal ve sağlıklı dentin dokusundan farklıdır. Adeziv ajan ilk olarak bu çıplak kolajen lifleri ile temas eder ve bağlanma büyük oranda burada gerçekleşir. Adeziv ajan ve çıplak kolajen fibrillerinden oluşan, hibrit tabaka olarak adlandırılan bu yapının özellikleri dentine bağlanmanın nihai başarısını büyük oranda etkilemektedir (120). Ancak asitle muamele sonucunda smear tabakası yanında dentin üst yüzeyinin de demineralize olmasının, bağlanmayı olumsuz yönde etkileyen sonuçları vardır. Bunlar başlıca bağlanma öncesi kolajen çökmesi ve bağlanma sonrası kolajen yıkımıdır. Bu olumsuz sonuçlar ve çözüm önerileri aşağıda maddeler halinde tartışılmıştır:

2.3.1. Bağlanma Öncesi Kolajen Çökmesi

Adezivin mekanik olarak dayanıklı hale gelebilmesi için içeriğindeki monomerlerin polimerize olması gerekmektedir. Ortamda su varlığı bu polimerizasyon sürecini yavaşlatmakta ve/veya tamamlanmasına engel olmaktadır. Bunun önüne geçmek için klinik uygulamada adeziv uygulanmadan önce dentin

yüzeyi basınçlı bir hava akımı uygulanarak kurutulmaktadır. Ancak asitle muamele sonucunda mineral içeriğini kaybeden kolajen lifleri, kurutulduğunda çökmeye maruz kalmaktadır (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. Kolajen çökmesinin şematik gösterimi (121).

Kolajen fibril yapısının çökmesi dentine bağlanmayı olumsuz yönde etkilemektedir (121). Kolajen çökmesine karşı geliştirilen çözüm önerileri aşağıda tartışılmıştır.

2.3.1.1. Islak bağlanma tekniği (Wet bonding)

Kolajen çökmesini engellemeye yönelik olarak geliştirilen stratejilerden birisi ıslak bağlanma tekniğidir (122). Bu teknikte bağlanma öncesinde dentin etanol, aseton, (hidroksimetil) metakrilat gibi hidrofilik bileşenlerle muamele edilerek demineralize kolajenin su tutuculuğunun artırılması ve çökmesinin engellenmesi amaçlanmıştır (121,123). Bu yöntemin kısa vadede bağlanma gücünü geleneksel bağlanma yöntemlerine göre artırdığı gösterilmişse de (122), kolajen liflerde tutulan su, bağlayıcı ajanın polimerizasyon tepkimesinin etkinliğini düşürmekte ve uzun vadede bağlanmayı olumsuz etkilemektedir (124).

2.3.1.2. Kolajen çapraz bağlama tekniği

Kolajen çökmesini engellemeye yönelik olarak geliştirilen bir diğer strateji çıplak kolajen liflerinin çapraz bağlanmasıdır (125). Birçok doğal ve sentetik çapraz bağlayıcı ajan vasıtasıyla kolajen lifler arasında çapraz bağlar kurulabileceği ve bu çapraz bağlanmanın kolajen liflerinin rijitliğini artırdığı gözlemlenmiştir (126). Ancak bu yöntemin uzun vadede etkinliği henüz gösterilmemiştir ve çapraz bağlayıcı ajanların olası toksisiteleri ve diş dokusunda renklenme gibi sorunları nedeniyle klinik uygulamaya yönelik bir protokol henüz geliştirilememiştir (127).

2.3.1.3. Kendiliğinden asitlenen (Self Etch, SE) adezivler

Asitle muamelenin bağlanma öncesinde yapıldığı total-etch yönteminin aksine, asit uygulamasının adezivle birlikte yapılabilmesine yönelik self-etch bağlayıcı ajanlar geliştirilmiştir. Bu adezivlerin pH değeri 1 ile 2 arasında olabilmektedir ve adeziv doğrudan smear tabakasının üzerine uygulandığında smear tabakasını ortadan kaldırabilmektedir (128). Ancak self-etch adezivler, total-etch yönteminde olduğu gibi smear tabakası ile birlikte dentini de demineralize etmektedir. Bu yöntem, kolajen çökmesini azaltması ve klinik prosedürü hızlandırması bakımından avantajlı olmakla birlikte, nihayetinde dentinin demineralize olmasından kaynaklanan ve tartışılan diğer sorunlar açısından bir avantaj sağlamamaktadır.

2.3.1.4. Self-adeziv simanlar

SE adezivlere benzer şekilde işlev gören self-adeziv simanlar, düşük pH'ları sayesinde smear tabakasını kaldırıp alttaki dentinde de demineralizasyon yapmak üzere tasarlanmışlardır (129). Yine self-etch adezivlere benzer şekilde kolajen çökmesini azaltması ve klinik prosedürü hızlandırması beklenmektedir. Ancak güncel çalışmalarda self-adeziv simanların smear tabakası ve dentin yüzeyinde kısıtlı bir demineralizasyon sağladığına, dolayısıyla dentin içerisine kısıtlı siman difüzyonu elde edildiğine dair bulgular bildirilmiştir (130). Çürük indükleyici ortam kullanılan bir çalışmada ise çürük ilerlemesinin self-adeziv siman kullanılan dişlerde geleneksel siman kullanılan dişlere göre daha hızlı ve yıkıcı olduğu görülmüştür (131). Bu

çalışmalarda dentin veya minede asitle selektif asitleme yapıldığında daha iyi sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (130,132).

2.3.2. Bağlanma Sonrası Kolajen Yıkımı

Asitle muamele sonrasında dentin demineralizasyonunun neden olduğu ikinci bir sorun da içeriğindeki mineralin koruyucu özelliğinden mahrum kalan kolajen liflerinin enzimatik veya bakteriyel aktivite sonucu yıkıma karşı savunmasız kalmasıdır (133,134). Sağlıklı dentin dokusundaki mineralize haldeki kolajen fibrilleri proteolitik enzimlere ve bakteri kolonizasyonuna karşı, demineralize dentine göre daha dayanıklıdır. Demineralize dentin ise vücut tarafından hasarlı doku olarak algılanmakta ve çıplak kolajen fibrilleri matris metaloproteinaz (MMP) gibi enzimlerce yıkılmaktadır. Ayrıca demineralize kolajen fibrillerinin kariyojenik bakteriler tarafından kolonizasyonu kolaylaşmaktadır. Bu da sekonder çürük oluşumuna neden olmaktadır (135). Başarısız restorasyonların %50-75'ine bu sekonder çürükler neden olmaktadır (136). Sekonder çürük oluşumuna karşı çözüm önerileri aşağıda tartışılmıştır.

2.3.2.1. Proteaz inhibitörü veya antimikrobiyal ajan içeren ürünler

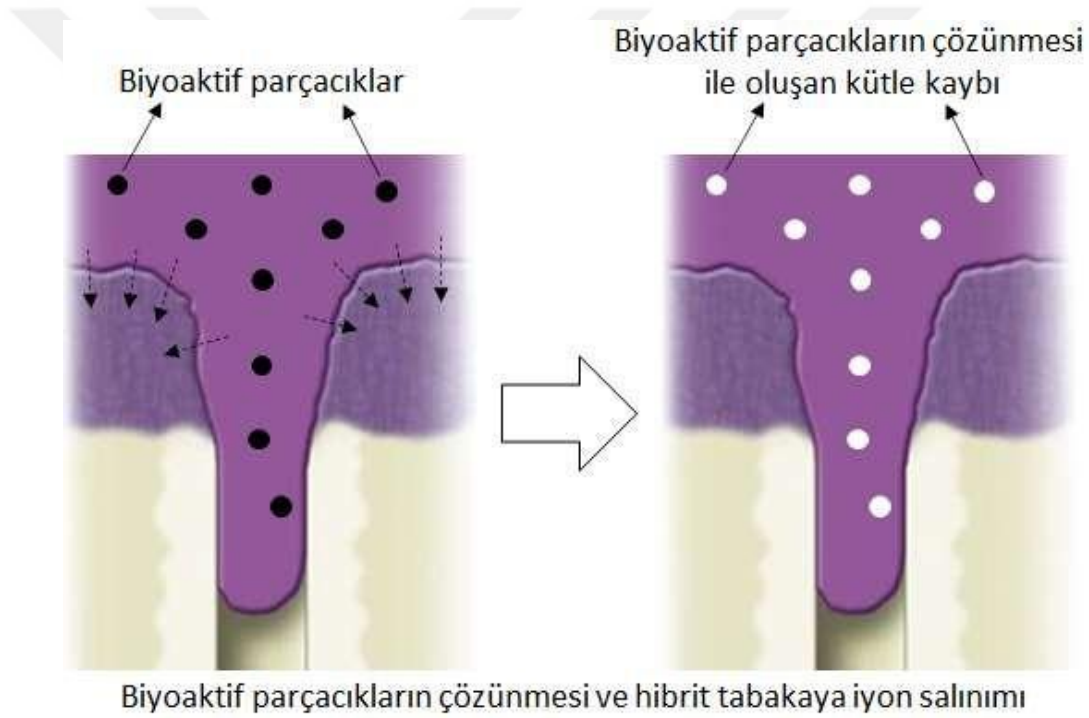
Bağlanma sonrası kolajen yıkımını engellemeye yönelik olarak antimikrobiyal ajanlar veya proteaz inhibitörleri içeren adezivler veya simanlar önerilmiştir (137,138). Örneğin 2018'de yayınlanan bir çalışmada, eser miktarda bakır eklenmiş biyoaktif cam partikülleri içeren bir adeziv tarif edilmiştir. Biyoaktif camın çözünmesi ile açığa çıkan bakır iyonlarının, kolajen liflerini yıkan MMP aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (139). Ancak bu yaklaşım nihai bir çözüm sunmayıp sadece kolajen degradasyonunu geciktirmeye yöneliktir.

2.3.2.2. Biyoaktif partikül içeren ürünler

Yukarıda bahsedilen sorunların asıl kaynağı, adezivlerin sağlıklı, yani mineral içeren dentin yerine, demineralize olmuş çıplak kolajen lifleri ile bağlanma gerçekleştirmesidir. Dolayısıyla ideal bir bağlanma elde edilebilmesine yönelik yeni yaklaşımlardan biri, hibrit tabakadaki demineralize dentinin bir şekilde remineralize edilmesidir. Bunun için hibrit tabakaya kalsiyum/fosfat salınımı yapan ürünler önerilmiştir(139). 2018'de yayınlanan bir çalışmada biyoaktif cam içeren adezivlerin,

bağlanmadan sonra hibrit tabakada yeni mineral oluşumunu sağladığı gösterilmiştir (140). Biyoaktif partikül içeren ürünlerle ilgili henüz çözülmemiş iki sorun bulunmaktadır. Birinci sorun

%15-20 w/v oranlarında eklenen partiküllerin etkilerini çözünme ve iyon salınımı aracılığıyla göstermesidir. Bu da biyoaktif partiküller çözündüğünde %15-20 oranında birkütle kaybı olacağı anlamına gelmektedir. Adeziv kütlesindeki bu kaybın uzun vadede adezivin yapısal dayanıklılığını azaltması kuvvetle muhtemeldir (Şekil 2.8.). Güncel çalışmalarda biyoaktif partikül içeren simanların dentinde mineral kaybını azalttığı, ancak kütle kaybından kaynaklı simanda çatlak oluşumunun arttırdığı ve restoratif malzemelerin retansiyonunu azalttığı bildirilmiştir (141).



Şekil 2.6. Biyoaktif parçacık içeren ürünlerde parçacık çözünmesi ile oluşan kütle kaybının şematik gösterimi.

Biyoaktif partikül içeren ürünlerle ilgili ikinci sorun ise partiküllerin çözünmesi, iyon salınımı ve remineralizasyonun gerçekleşmesi için geçen sürenin uzun olmasıdır. Demineralize dentinde yeni mineral oluşması, çürük dentine göre daha zor ve yavaştır. Çürük dentinin aksine, demineralize dentinde heterojen çekirdeklenmeyi tetikleyecek mineral kalıntıları bulunmamaktadır. Dolayısıyla demineralize dentinde yeni mineral oluşumu, termodinamik olarak daha zor ve kinetik

olarak daha yavaş olan homojen çekirdeklenme yoluyla olmaktadır (142,143). Kolajenin proteolitik veya bakteriyel yıkımı, yeni mineral oluşumuna göre daha kısa sürede meydana gelebilmektedir (143).

2.3.3. Bağlanma öncesi remineralizasyon tekniği

Bağlanma sonrası kolajen yıkımı ve sekonder çürük oluşumunu engellemeye yönelik önerilen en güncel tekniklerden birisi bağlanma öncesi remineralizasyon tekniğidir. Bu teknik 2021 yılında yapılan bir çalışma sonucunda geliştirilmiştir (5). Bu tekniğin amacı, demineralize olmuş dentinin, adeziv uygulanmasından önce hızlı bir şekilde remineralize edilerek dentindeki mineral kaybının olumsuz sonuçlarının azaltılmasıdır. Bunun için yapılan bir çalışmada adeziv uygulaması öncesinde dentine bir mineralizan peptit (mineralization-promoting peptide 3-MPP3) ve yüksek konsantrasyonda kalsiyum/fosfat çözeltisi uygulanmıştır. Bu yöntemle yaklaşık 10 dakika içerisinde dentinde kısmi bir remineralizasyon meydana geldiği gösterilmiştir. Bu kısmi remineralizasyon bağlanma öncesinde kolajen çökmesini ve bağlanma sonrasında kolajen yıkımını azaltarak bağlanma özelliklerini iyileştirilebilmiştir (5). Bu yaklaşım dentine bağlanma ile ilgili yukarıda bahsedilen sorunların çoğuna çözüm sunmakla birlikte yöntemsel olarak geliştirilmesi gereken noktaları vardır. Kısmi remineralizasyonun sağlanması için gereken süre dikkatli ayarlanmalıdır. Adeziv uygulamadan önce gerekenden daha uzun bir süre remineralizasyon yapılırsa oluşan yeni mineralin dentin yüzeyini kaplayabileceği ve yeni bir smear tabakası gibi davranabileceği gösterilmiştir. Bu süre hastanın tükürük bileşimi, dentinin yapısı, demineralize olan dentin tabakasının kalınlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebildiği için ancak ortalama bir optimum uygulama süresi belirlenebilir.

2.4. BİYOMİMETİK PEPTİTLER İLE MİNERALİZASYON

Günümüzde doku mühendisliğindeki gelişmeler, minenin mikro yapısını yenilemek ve daha iyi hale getirmek için güçlü bir potansiyel olan biyometrik yöntemleri ortaya çıkarmıştır. Biyomineraller biyolojik organizmalar tarafından sentezlenmektedir. Genellikle optimal ve benzersiz yapısal özelliklere sahiptirler. Bu fizyolojik biyomineraller biyometrik malzemelerin mühendisliğinde ve tasarımında ideal modeller olarak rol oynamaktadırlar. Biyomineraller, esas olarak glikoprotein ve fosfoproteinlerin kontrolleri aracılığıyla meydana gelmektedir (144).

Biyomineralizasyon ile ilgili birçok protein (BMRP) ortaya konulmuştur (145). Bu BMRP'ler sayesinde mineralizasyon ile ilgili hastalıkların patolojisinin anlaşılması ve bu hastalıkların tedavileri için yöntemlerin bulunması sağlanmıştır. Fakat bu proteinlerin maliyetlerinin yüksek oluşu ve üretim süreçlerinin karmaşık olması sebebiyle klinik kullanımları çok sınırlıdır. Böylelikle BMRP'lere alternatif olarak düşük maliyetli ve işlevlerini taklit eden peptit arayışı gündeme gelmiştir (7,146,147).

Çürüğün remineralizasyonu ve geliştirilmiş osteointegrasyon gibi uygulamalarda mineralizan peptitler önemli bir yere sahiptir. Ayrıca çürüğün önlenmesinde tükürüğün doğal remineralizasyona etkisi kullanılarak yüzey altı çürük lezyonu içindeki tüm hidroksiapatit kristallerinin rejenerasyonunun hedeflenmesi gerektiği bildirilmiştir (148).

Flor ve benzer remineralizasyon ajanlarının hidroksiapatit kristallerinin oluşumunu sağlama özelliği bulunmadığından biyomineralizasyon ile rejenerasyon sağlayan biyomimetik yöntemler büyük öneme sahip olmaktadır (149). Biyomimetik yöntemlerdeapatit oluşumunu yönlendirebilecek iskele oluşumu sağlanmaktadır. Bu iskele iyonların diş yüzeyine çökmesine izin vererek bir mineral depozisyonu oluşturmaktadır (150).

Bu iskeleyi oluşturmak için farklı mekanizmalar ve yöntemler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunlar; kendiliğinden oluşma yeteneğine sahip, amelogenin yapı taşı olan peptidlerin kullanılması, mine matriks yüzey özelliklerine sahip üç boyutlu bir iskele yapısını bünyesinde barındıran ve kendiliğinden organize olabilen peptidlerin (kendiliğinden birleşen peptidler) kullanılması, dentin fosfoprotein türevi 8DSS peptidlerin kullanılması ve poli amido amin dendrimerlerin kullanılmasıdır (149,151,152).

2.4.1. Amelogenin

Amelogenin, minenin mineralizasyonu sırasında hidroksiapatit kristallerinin şeklini, büyümesini ve düzenini sağlamada rol oynamaktadır. Olgun mine dokusu, matriks proteinlerinden yoksundur. Diş çürüğü veya başka sebepler ile meydana gelmiş mineral kaybını yeniden oluşturmamaktadır (153). Amelogeninin elde edilmesinin ve depolanmasının zorluğu, maliyetli oluşu ve remineralizasyonu için zaman gerektirmesi gibi özellikleri sebebiyle dezavantajları bulunmaktadır. Klinik kullanımları açısından zorluk teşkil etmektedir. Bu sebeple amelogenini temel alan benzer işlevli biyoyumlu materyaller alternatif olarak üretilmiştir. Yapılan bir

çalışmada rekombinant domuz amelogeninin (rP172) kalsiyum fosfat kümelerini stabilize ettiği, mine kristallerinin büyümesini teşvik ettiği, sertliğini ve elastik modülünü önemli derecede geliştirdiği bulunmuştur (153,154).

2.4.2. Poli Amido Amin Dendrimerler

Poli amido amin (PAMAM) dendrimerler amelogenin kaynaklı çok dallı polimerlerdir. Biyomineralizasyonu sağlamada organik matrikslerin fonksiyonlarını taklit ederler bu nedenle “yapay proteinler” olarak adlandırılmaktadırlar. Yapılan birçok in vitro çalışmada PAMAM dendrimerlerin mine kristallerinin yapılarına katılabildiği, oluşan yeni kristallerin bozulmamış mine ile aynı yapıya, mineral faza ve oryantasyona sahip olduğu gösterilmiştir (155,156). Fakat yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar hayvan deneyleriyle sınırlıdır. Bu nedenle klinik uygulamadan uzak kalmaktadırlar. Ayrıca PAMAM aracılığıyla yapılan remineralizasyonun zaman alması gibi dezavantajlarından dolayı klinik kullanımı pratik bulunmamaktadır (149).

2.4.3. Dentin Fosfoprotein Türevi 8DSS Peptitler (8 tekrarlı aspartat-serin-serin dizisi)

Dentin fosfoprotein (DPP), dentinde kolajen olmayan, en bol bulunan ve mineralizasyona katkıda bulunan ekstrasellüler matriks bileşenidir. İçerisinde hidroksiapatit oluşumunu desteklediği düşünülen çok fazla sayıda tekrarlayan aspartat-serin-serin dizisi bulunmaktadır. 8DSS dizisinin biyomineralizasyonu teşvik eden en etkili DPP türevi olduğu bildirilmiştir (157).

Bu peptitler mine ve dentinden kalsiyum ve fosfatın çevre ortama çözünmesini büyük ölçüde sınırlamakta, bu iyonların yakalanmasını sağlayarak remineralizasyona katkıda bulunmaktadır. 8DSS peptitler böylelikle mineral birikimine aracılık etme konusunda ikili bir mekanizmaya sahip gibi görünmektedirler. Yalnızca bu iyonlara değil, hidroksiapatit yüzeyine de güçlü bir şekilde bağlanabilmektedirler (155,158). Yapılan bir çalışmada biyomimetik DPP türevi 8DSS peptitlerin remineralizasyon etkisinin yanı sıra florürün de etkinliğini artırdığı ortaya konulmuştur (159). 8DSS ile ilgili yapılan çalışmaların yalnızca in vitro olması, bu peptitlerin ağız ortamındaki enzimatik etkiye karşı dayanıklı ve dirençli olup olmadığı konusunda bilinmezliğe sebep olmaktadır. Kalsiyuma güçlü bağlanmalarından dolayı diş taşı oluşturma riski yüksektir.

Yapılacak çalışmalar ile desteklendiği takdirde umut verici bir remineralizasyon ajanı olması mümkün görünmektedir (155).

2.4.4. Kendiliğinden Birleşen Peptitler

Kendiliğinden birleşen peptidler, peptid moleküllerinin belli termodinamik koşullar altında kovalent olmayan bağlar ile spontan bir şekilde yapısal olarak kendiliğinden birleşmesi veya düzenlenmesi sonucu meydana gelen yapısal oluşumlardır (160). Bu peptitler ekstraselüler matriks yapısında var olan molekülleri taklit eden, üç boyutlu fibril yapı iskeleleri meydana getirmektedir. Bu iskele yapısı, dokunun rejenerasyonunu sağlama konusunda hidroksiapatit için bir çekirdek görevi görmektedir. Geleneksel remineralizasyon ajanlarından farklı olarak, kendiliğinden birleşen peptitler minerallerin çökmesini sağlayan bir iskele oluştururlar ve mineralin kendini yeniden oluşturarak doğal bir şekilde onarımını gerçekleştirmektedirler. Böylelikle net mineral kazanımını büyük oranda arttırması gibi avantajları ile remineralizasyonda kullanılmaktadırlar (161).

p11-4; 11 aminoasitli, yan gruplarında negatif uçlu yükler bulunduran, remineralizasyon için kullanılan sentetik, kendiliğinden birleşen bir peptittir. Negatif uçları sayesinde kalsiyum iyonlarını çekerek hidroksiapatit kristallerinin çökelmelerini sağlarlar ve böylelikle tükürüğün doğal remineralizasyonuna arttırıcı etki gösterirler (151).

Yapılan bir in vivo çalışmada düşük viskoziteli monomerik p11-4 kullanılarak başlangıç çürük lezyonlarına infiltrasyonda, lezyon içinde tetiklenen kendi kendine birleşme olduğu, lezyon içinde difüzyona karşı bir bariyer oluşarak çürük ilerlemesinin durduğu ve bir yüzey altı biyoaktif yapı iskelesi olduğu tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada, p11-4 gibi kendiliğinden birleşen peptitlerin floridle birlikte kullanımının, uygulama kolaylığı sağlaması, düşük maliyetli oluşu ve koruyucu bir yaklaşım olması sebebiyle gelecekte minenin remineralizasyonunda kullanılması konusunda daha çok tercih edilebileceği belirtilmektedir (161). P11-4'ün yüzey altı lezyon gövdesinde bulunması hidroksiapatit oluşumunu hızlandırdığı ve düzenli kristaller oluşturması sebebiyle, yüzey altı lezyonlarının mikrosertliğini arttırdığı çalışmalar doğrultusunda tespit edilmiştir (162). Florürün remineralizasyon etkinliğine karşı dirençli proksimal ve okluzal başlangıç lezyonlarına karşı da etkili olduğu bildirilmiştir (163).

Bir diğerk çalışmada; p11-4 peptidi kalsiyum fosfopeptit-amorf kalsiyum florofosfat (CPP-ACPF) ve sodyum florür (NaF)'ün remineralizasyona etkileri değerkendirilmiş ve p11-4'te en başarılı sonuçlar bulunmuştur. Elde edilen çalışmalarda kendiliğinden birleşen peptitlerin biyomimetik mineralizasyon ajanı olarak umut vadetmesine rağmen; uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır (149).

2.4.5. Mineralizasyonu Destekleyen Peptit 3 (Mineralization Promoting Peptide- MPP3)

Mineralizan peptitler genel olarak in vitro çözelti ortamında veya kültüre edilmiş hücrelerde kalsiyum fosfat mineral oluşum kinetiğini arttıran, bu mineral oluşumunu da çekirdeklenme veya kristal büyüme süreçlerini hücre varlığından bağımsız şekilde termodinamik ve kinetik etkilerle hızlandırarak gerçekleştiren peptitler olarak tarif edilebilirler. Mineralizan peptitler kombinatoriyal biyolojik yöntemler, biyoinformatik tasarım, rasyonel tasarım gibi yöntemlerle *de novo* olarak üretilebildikleri gibi biyomineralizasyon süreçlerinde rol oynadığı bilinen proteinlerin bünyesindeki küçük fonksiyonel bölgelerin tespit edilmesi ile de elde edilebilirler (144,164,165). Bazı mineralizan peptitler, hücrelerin osteojenik yolaklarını aktive ederek sinyal molekülleri gibi davranabilmektedirler. Bu nedenle diş hekimliği alanında terapötik ajan olarak umut vadetmektedirler. Aynı zamanda çürüğün remineralizasyonunda, dental ve ortopedik uygulamalarda büyük öneme sahiptirler (144,164–166). FDA tarafından onaylanmış olan ve ortopedik uygulamalarda kullanıma giren kemik morfogenetik protein 7 (bone morphogenetic protein-BMP-7) gibi büyük proteinlerin aksine maliyetleri ve toksisite oluşturma riskleri çok daha düşüktür (167).

Amelogeninin remineralizasyon mekanizması üzerine etkisi göz önüne alınarak, karboksil ucuna yakın bulunan ve lösinden zengin 59 aminoasitlik bir bölgenin hidroksiapatit kristallerine bağlanma ve mineral oluşum kinetiğini hızlandırmada etkili olduğu ortaya konulmuştur (167). Aynı şekilde tirozinden zengin 44 aminoasitlik bir bölgenin benzer görevleri olduğu gösterilmiştir. Böylelikle amelogenin bünyesinde izole edilebilecek fonksiyonel bölgeler olabileceği düşünülmüştür. Amelogeninin tamamıyla kıyaslandığında bu bölgeler daha küçük peptitler olsa da ekonomik bir terapötik ajan üretimi için oldukça uzun bölgelerdir. Alternatif olarak biyoinformatik yöntemler ile amelogeninin fonksiyonel olabilecek

bölgeleri taranmıştır. Yapılan bir çalışmada 22 aminoasitlik bir bölgenin tek başına sentezlenmesi durumunda hidroksiapatit mineral oluşum kinetiğini ciddi oranda arttırdığı tespit edilmiştir. Amelogenin türevi peptit-5 (ADP5) adı verilen bu peptitin in vitro ortamda dentin üzerinde sementomimetik (sement benzeri) tabaka oluşturduğu gösterilmiştir (7). Daha güncel bir çalışmada, bitişik zıt yüklü aminoasitlerin varlığından yola çıkılarak 14 amino asitlik daha kısa ve mineral oluşum kinetiğini ADP5'e göre daha fazla arttıran bir peptit (MPP3) elde edilmiştir. MPP3 Güngörmüş ve ark. tarafından tasarlanmış, aralarında alanin kalıntıları bulunan 4 zıt yüklü aminoasit çifti içeren, 14 aminoasit uzunluğunda ve kararsız yapıda sentetik bir peptittir. Amelogenin ve amelogenin türevi peptitler model alınarak bu peptitlerde en fazla mineralizasyon özelliği gösteren alanlar optimize edilip *de novo* olarak sentezlenmiştir. MPP3'ün aminoasit dizilimi ve fizikokimyasal özellikleri Tablo 2.2.'de gösterilmiştir. Daha güncel olan bu çalışmada MPP3'ün ADP5'e göre daha kısa aminoasite sahip olan ve mineral oluşum kinetiğindaha fazla arttıran bir peptit olduğu tespit edilmiştir (168). Kalsiyum fosfat mineralizasyon hızını 13 kat arttırdığı gösterilmiştir. Akredite laboratuvar çalışmaları sonucunda Güngörmüş ve ark.'ı MPP'ün sitotoksiste, sensitizasyon veya irritasyona neden olmadığı tespit edilmiştir (7). Bu nedenle gelecekte remineralizasyon tedavileri için umut vadeden bir ajan olarak değerlendirilmiştir. Akredite laboratuvar çalışmaları sonucunda Güngörmüş ve ark.'ı MPP'ün sitotoksiste, sensitizasyon veya irritasyona neden olmadığını tespit etmişlerdir (168).

Tablo 2.1. MPP3'ün aminoasit dizilimi ve fizikokimyasal özellikleri.

Aminoasit dizisi	Aminoasit sayısı	Moleküler ağırlığı	pI	GRAVY	Yük
PGEKADRAEKADRA	14	1513,63	6,63	-1,829	0 (+4, -4)

(**pI**: izoelektrik nokta, **GRAVY**: Ortalama hidrofobisite, **mavi**: negatif yük, **kırmızı**: pozitif yük) (**P**: Prolin, **G**:Glisin, **E**: Glutamik asit, **K**: Lizin, **A**: Alanin, **D**: Aspartik asit, **R**: Arjinin)

Yapılan bir in vitro çalışmada süt dişlerindeki yapay çürüklere flor vernik ile MPP3 uygulanmış ve remineralizasyon üzerine etkinliği değerlendirilmiştir. MPP3'ün flor vernik etkinliğinde avantaj sağladığı tespit edilmiştir. MPP3'ün tek başına

kullanıldığı durumlarda, florür ve biyoaktif partiküller içeren ticari bir vernik ile karşılaştırılabilir performans gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca ticari flor vernik uygulanan gruba kıyasla daha iyi bir performans sergilemiştir (169).

2.5. YAŞLANDIRMA YÖNTEMLERİ

Hızla gelişen teknolojiler ile birlikte klinik deneyler adeziv materyallerin değerlendirilmesi konusunda en iyi yöntem olarak bilinmektedir. Ancak klinik çalışmaların uzun zaman alması ve bu süreçte yeni materyallerin hızla piyasaya çıkmaya devam etmesi, in vitro çalışmaların tercih edilmesine neden olmaktadır. Adeziv sistemlerin dentine bağlanma dayanımlarının 24 saatlik değerlendirilmesi sırasında örneklerin uzun dönem etkilerinin incelenmesi için sıklıkla in vitro yaşlandırma teknikleri uygulanmaktadır. Bu yaşlandırma teknikleri; suda bekletme, termal siklus uygulaması, NaOCL solüsyonunda bekletme, mekanik yükleme ve pH siklusta bekletme olarak sınıflandırılmaktadır (170–172).

2.5.1. Suda Bekletme ile Yaşlandırma Yöntemi

Rezin-dentin ara yüzeyinin bağlanma dayanımının incelendiği in vitro çalışmalarda genellikle tercih edilen yaşlandırma yöntemi suda bekletme ile yapılan yaşlandırma yöntemidir. Bu yöntemde örnekler belirli bir zaman dilimi boyunca 37°C’de ve genellikle saklama solüsyonu olarak distile suyun tercih edildiği bir sıvıda bekletilmektedirler. Yaşlandırma süresince bakteriyel çoğalmayı engellemek amacıyla saklama solüsyonuna sodyum azit (NaN_3) (173), kloramin T ($\text{C}_7\text{H}_7\text{ClNO}_2\text{SNa}$) (174) veya antibiyotik (175) gibi ajanlar ilave edilebilirken in vivo koşullara benzer bir saklama ortamı oluşturmak amacıyla yapay tükürük solüsyonları da kullanılabilir. Suda bekletme ile yaşlandırma yöntemi sayesinde su-iyon difizyonuna bağlı olarak rezin-dentin ara yüzünde nano sızıntı, adezivin mekanik özelliklerinde azalma, rezin monomerlerinde ve kolajenlerde hidroliz ile adeziv sistemlerin bağlanma dayanımlarında azalma tespit edilmiştir (176–178).

ER adeziv sistemlerde asit uygulaması sonrası demineralize dentine adezivin tamamen nüfus etmesi gerekmektedir. Rezin infiltrasyonunun tamamlanamaması ve adezivin yeteri kadar polimerize olamaması sonucu açığa çıkan kolajen ağ etrafında nanometre çapında bağlayıcı hasar alanları oluşmaktadır. Bu alanlara poröz tabaka

denir ve zamanla bu hasar alanlarından su alımı artar ve hibrit tabakada yıkımlar meydana gelmektedir (179,180).

SE adeziv sistemlerde dentinin inorganik fazı asidik monomer ile çözülür ve kolajen ağı etrafına adeziv monomer infiltrasyonu gerçekleşmektedir. Rezin-dentin ara yüzeyin yıkımının engellenebilmesi için kolajen ağı tamamen monomer ile sarılması gerekmektedir. Fakat tam olarak gerçekleşmeyen rezin infiltrasyonu ER adeziv sisteminde olduğu gibi hibrit tabakada nanosızıntıya sebep olmaktadır. Hidrofilik rezin monomerlerin varlığı sebebiyle su ortamdan tam olarak uzaklaştırılamamaktadır. Böylelikle de hibrit tabakadaki poröz alanların artmasına bağlı olarak yaşlanma gerçekleşmektedir (179,181).

Suda bekletme ile yaşlandırma yönteminde yıkım sürecini en çok difüzyon oranı etkilerken, difüzyon yolu uzunluğunun da difüzyonun süresi kadar etkili olduğu belirtilmiştir. Su-iyon difüzyonuna bağlı oluşabilecek olumsuzlukları en aza indirmek amacıyla difüzyon yolunu oldukça kısa tutmak gerekmektedir (81).

2.5.2. Termal Siklus Uygulaması ile Yaşlandırma Yöntemi

Bu uygulama ağız içi ısı uygulamalarını taklit eden, sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Yaşlandırma, ISO TR 11450 standardına göre örneklerin ısısı; 5°C - 55°C arasında değişen suda 500 kerelik çevrimi ile gerçekleştirilmektedir (182). Çevirim sayıları 100-50000 gibi geniş bir aralıkta değişkenlik göstermektedir (179). Benzer çevrimin ağız içerisinde yaklaşık olarak günde 20-50 adet gerçekleştiğini düşünürsek, materyalin ağız içerisinde 1 yıllık kullanımı 10000 ısısal çevrime denk gelmektedir. Gale ve ark.'nın yaptıkları çalışmada 500 kerelik ısı değişim döngüsünün bağlanma dayanım değerlerinde anlamlı bir fark yaratmadığı ve çok kısa olduğu ortaya konulmuştur (183).

Sıcak su; rezin-dentin ara yüzeyinin hidrolizini, tam olarak polimerize olmamış rezin oligomerlerinin ortaya çıkmasını (184) hızlandırırken, restorasyon ve materyalin termal genleşme ve büzülme katsayıları arasındaki farklılıklar tekrarlayan genleşme ve büzülme streslerinin meydana getirmektedir (183). Böylelikle ağız sıvılarının ara yüzey boyunca akışına yani mikrosızıntıya neden olmaktadır (81).

Düz dentin yüzeyinde bağlanma dayanımının değerlendirildiği bir çalışmada termal siklus ile yaşlandırma işleminin elde edilen değerlerin düşüşünde etkili

olmadığı saptanırken, kavite preparasyonu yapılmış dişlerde mikro-gerilim bağlanma dayanımı değerlerinde termal siklus ile yaşlandırma işleminin kavite faktörüne bağlı olarak anlamlı düşüöşlere neden olduğu belirtilmiştir (81).

Uygulanan termal döngü sayısı, sıcaklık dereceleri, sıcak-soğuk banyosunda kalma süreleri gibi faktörler bağlanma dayanımı değerlerini etkilerken, standardizasyondaki eksikliklerin de çalışmalar arasında farklı sonuçlara neden olabildiğı bildirilmiştir (185).

2.5.3. NaOCL Solüsyonunda Bekletme ile Yaşlandırma Yöntemi

Demineralize olmuş ve açığa çıkmış kolajen fibrillerin deproteinizasyonunun gerçekleştiğı in vivo yıkımı taklit etmek amacıyla protein yıkımına sebep olan

%10'luk NaOCL solüsyonunun kullanıldığı çok hızlı bir yaşlandırma yöntemidir. Yamauti ve ark. %10'luk NaOCL'nin hem SE hem de ER adeziv sisteminde hibrit tabakayı çözdüğünü ve örneklerin 1 saat dahi %10 NaOCL solüsyonunda bekletilmesisonrasında mikro-gerilim bağlanma dayanımı değerlerinde ciddi bir azalmaya sebep olduğunu göstermişlerdir (186).

2.5.4. Mekanik Yükleme ile Yaşlandırma Yöntemi

Rezin-dentin ara yüzeyindeki bağlantıda önemli bir faktör olan mekanik kuvvetlerin etkinliğinin araştırılması esnasında; in vivo koşulları in vitro ortamda taklit edebilmek için örneklere uygulanan kuvvetlerin ağız içerisinde uygulanan kuvvetler ile benzerlik göstermesi gerekmektedir (187). Bu yaşlandırma yöntemi ile kaviteye uygulanan çiğneme kuvvetleri ile adeziv rezinin etkinliği değerlendirilmektedir (182).

2.5.5. pH Siklusta Bekletme ile Yaşlandırma Yöntemi

In vivo ortamı taklit eden karyojenik değışikliklerin ölçülmesinde kullanılan bu yaşlandırma yöntemi, örneklerin asit solüsyonuna gömülerek pH 4,3'te, 37°C'de, 6 saat ve yapay tükürükte 37°C'de, 17 saat,1 hafta boyunca bekletilip daha sonra yapay tükürüğe alınarak gerçekleştirilmektedir (179).

2.6. ANALİZLER

2.6.1. Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopu (FESEM) ve Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) Analizi

Günümüzde çeşitli elektron mikroskopları olmakla birlikte diş hekimliğinde en fazla alan emisyonlu taramalı elektron mikroskopları (FESEM) kullanılmaktadır. Taramalı elektron mikroskopları, 20 ile 130000X büyütmede ayrıntılı bir şekilde topografik görüntüleri analiz etmemizi sağlamaktadır. İlk olarak 1965 yılında kullanılmıştır (188). FESEM’de yüksek enerji ile hızlandırılmış elektronlar numune üzerine gönderilerek elektron ve yüzey atomları arasında etkileşim oluşturmaktadır. Bu etkileşim algılayıcılarda toplanmakta ve sinyal güçlendiricilerden geçerek katot ışınları tüpünün ekrana gönderilmesi sonucu görüntü elde edilmektedir. Gelişen teknoloji sayesinde cihazlardan gelen sinyaller dijital sinyallere dönüştürülerek bilgisayar ekranına aktarılmaktadır (189). FESEM için hazırlanacak numuneler mikroskopa yerleştirilebilecek şekilde uygun boyutta olmalı ve vakumlama sırasında stabil olmalıdır. Aynı zamanda numuneler yüzeyin görüntülenebilmesi için gerekli olan elektron yansımasını gerçekleştirebilmek amacıyla uygun kalınlıkla Altın (Au) ve Palladyum (Pd) ile kaplanmalıdır (190). EDS veya EDAX olarak da adlandırılan Enerji Dağılım Spektroskopisinde (EDS) numunelerin incelenen yüzeylerinde bulunan elementlerin analizi yapılmaktadır. İncelenmesi istenen numunenin üzerine gönderilen elektron demeti ile numunenin yüzeyi arasındaki etkileşim sonucu X ışınları ortaya çıkmaktadır. Bunların ölçümü de EDS ile yapılmaktadır. Numune yüzeyinden saçılan ikincil elektronlar ise numunenin yüzey formu hakkında bize bilgi vermektedir (191,192).

2.6.2. Raman Spektroskopisi

Titreşim spektroskopisi, maddenin kızılötesi ışınlarını absorbe etmesi veya saçması üzerine kurulu bir spektroskopi dalıdır. Homo nükleer moleküller (N_2 , O_2 ... gibi) dışındaki tüm moleküller infrared ışınlarını absorbe eder ve infrared spektrumunu verirken homo nükleer moleküller de Raman’da sinyal verir. Titreşim spektroskopisinde ışınlar dalga sayılarıyla belirlenir ve organik bileşiklerin tanınmasında kullanılır. Raman infrared ışınlarının (IR) tamamlayıcısı olup IR’de gözlenmeyen ışınlar burada gözlenir (193). Moleküllerin şiddetli bir monokromatik

ışın demetiyle etkileşmeleri esnasında ışık absorpsiyonu gerçekleşmiyorsa ışık saçılması olayı gerçekleşir. Genelde moleküllerden çoğu fotonlar, kullanılan ışının aynı enerjili dalga boyu olarak saçılmaktadırlar. Bu Rayleigh saçılması olarak bilinir. Saçılmanın çok küçük bir kısmı kullanılan ışıdan farklı enerjilere sahiptirler. Bu saçılmalara da “Raman saçılması” denilmektedir. Rayleigh saçılması titreşim geçişleri hakkında bilgi vermez. Bu yöntemde molekül ile etkileşen ışığın dalga boyu arasındaki fark ölçülür. Bu aradaki fark “Raman Kayması” olarak adlandırılır (194).

Herhangi bir formda ışık saçıldığı zaman fotonların enerjisinin çoğu değişmeden kalır. Saçılan moleküllerin titreşimsel enerjisine göre ortalama bir milyonda bir foton enerji kazanır ya da kaybeder. Bunlar saçılım görülen ışık spektrumunda ek pikler olarak görülür ve “Raman saçılımı” ya da “elastik olmayan saçılım” olarak adlandırılır. Bu ek pikler incelenen örneğin içerisindeki moleküllere özeldir. Bu piklerin yoğunluğu hidroksiapatit molekülünün içerisindeki belirli grupların konsantrasyonu hakkında bilgi verir. Örneğin, hidroksiapatit mine de dentine göre daha yoğundur ve bu raman spektrumunda görülebilmektedir (195).

Raman spektroskopisinin absorpsiyon veya transmisyon yerine ışın saçılımına dayalı olması adeziv-dentin arayüzünün incelenmesi konusunda birçok avantaj sağlamaktadır. Raman spektroskopisi çoğu analitik metottan farklı olarak yıkıcı olmayan, örneklerin fiziksel olarak hazırlanmasına ihtiyaç duymayan bir yöntemdir. Erozyon ve demineralizasyon işlemlerinde faydalı ve suya karşı duyarsızdır (196). Raman’ın 1 mikrometreye kadar mükemmel uzamsal çözünürlüğü bulunmaktadır. Böylelikle ER sistemlerin 4-10 mikrometre kalınlığındaki hibrit katmanından kimyasal olarak bilgi elde edilmesi için en iyi tekniklerden biri olarak kullanılmaktadır (197). Şu anda raman spektroskopisi diş hekimliğinde esas olarak polimer sistemlerin dönüşümünü belirlemede ve adeziv rezinin hibrit tabakaya sızmasını saptaması konusunda kullanılmaktadır (197–199).

Yapılan çalışmalarda dentin ve adeziv materyalden alınan raman spekturumları incelendiğinde adeziv ile ilgili yoğun piklerin 1720 cm^{-1} (karbonil), 1609 cm^{-1} (fenil C-C), 1453 cm^{-1} (CH_2) ve 1113 cm^{-1} (C-O-C)’de olduğu gözlemlenmiştir. Bu pikler adeziv moleküldeki metakrilat monomerleri ile ilişkilendirilmiştir (200). Dentin spektrumunda, kolajen ile ilgili pikler 1667 cm^{-1} (amid I) ve 1245 cm^{-1} ’de (amid III) oluşmaktadır; minerallerle ilgili pikler 960 cm^{-1} ’de (PO_4^{3-}) meydana gelmektedir (197).

2.6.3. Makaslama Bağlanma Dayanımı (Shear Bond Strength, SBS) Analizi ve Kırılma Tiplerinin İncelenmesi

Makaslama bağlanma dayanımı testi, diş ile restoratif materyalin bağlanma yüzeyine paralel yönde ve mm/dk cinsinden ayarlanabilir sabit bir hızla kuvvet uygulanması ile bağlanmanın kırılması esasına dayanan in vitro test metodudur (201). Birim alana düşen makaslama direnci, uygulanan maksimum kuvvetin bağlantı yüzeyalanına bölünmesi ile elde edilmektedir (201,202). Uygulaması kolay ve hızlı sonuç alınan makaslama bağlanma dayanımı testi bağlanma dayanımını değerlendirmede en yaygın kullanılan test olarak bilinmektedir (203). Bu test için örnekler hazırlanırken substratın yüzeyine silindirik şekilde hazırlanan kompozit restorasyonlar yapıştırılmaktadır. Hazırlanan numuneler üniversal test cihazına özel bir aparat ile sabitlenmekte ve kompozit restorasyonlar sabit hızla ve diş yüzeyine paralel hareket eden özel uçlarla kırılmaktadır. Kuvvetin uygulandığı ucun tasarımı testin hassas ve güvenilir sonuçlar vermesi açısından çok önemlidir. En çok kullanılan uç tipleri bıçaksırtı uç, çentikli uç, tel ilmek uçtur (204).

Makaslama bağlanma dayanımı testinde bağlantı direnci sayısal olarak elde edilirken adeziv ve aderent ara yüzeyindeki ayrılma tipi de stereomikroskop yardımıyla incelenebilmektedir. Uygulanan kuvvete karşı substrat yüzey ile kompozit arasındaki kütsel direnç kırık tipini belirlemektedir. Kırık tipleri; adeziv kırık, koheziv kırık ve her ikisinin de gerçekleştiği karışık kırık (miks) olarak adlandırılmaktadır. Ara yüzdeki birleşmenin ayrılması sonucu adeziv kırık tipi, iki materyalden birinin kendi içinde kırıldığı tip koheziv kırık tipi, hem adeziv hem de koheziv kırık tipinin görüldüğü kırıklar da miks kırık tipi olarak adlandırılmaktadır (205).



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu doktora tez çalışması yeni bir biyomimetik peptit olarak adı geçen MPP3'ün süt dişi dentinine bağlanma öncesi uygulanarak adezyona uzun dönem etkilerinin in vitro ortamda incelenmesini amaçlamaktadır. Tez çalışması için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2022-336 numaralı karar ile onay alınmıştır (EK 1).

3.1. İNERALİZASYONU DESTEKLEYEN PEPTİT (MPP3)

Bu çalışmada mineralizasyon destekleyen peptit 3 (MPP3) (PGEKADRAEKADRA) kullanılmıştır (168). Ticari olarak >%98 saflıkta (GenScript Biotech Corp. NJ, ABD) sentezlenmiştir. Önceki çalışmalardan yola çıkılarak mineralizasyonu sağlayan peptitler incelendiğinde artı ve eksi yüklü aminoasitlerin yan yana olduğu tespit edilmiştir. Bunun önemli olduğu varsayılarak 4 çift artı ve eksi yüklü aminoasit yan yana dizilmiştir ve normal mineralizasyondan çok daha hızlı mineralizasyon sağlayan bir peptit olan MPP3 bulunmuştur (168).

3.2. ÖRNEKLEM SAYISININ BELİRLENMESİ

Yapılan Power analizi sonucunda, %95 güç ve $\alpha=0,05$ olacak şekilde her grup için 10 örnek oluşturulması gerektiği hesaplanmıştır. Çalışma her grupta n=10 örnek olacak şekilde tasarlanmıştır.

3.3. ÇALIŞMADA KULLANILACAK DIŞLERİN TOPLANMASI VE SAKLAMA KOŞULLARI

Çalışmada kullanılacak dişler Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındıktan sonra toplanmıştır. Araştırmamanın gönüllü katılımcıları, süt dişi çekimi için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Bölümü'ne başvuran çocuk hastalardan oluşmaktadır.

Çalışma için süt dişlerinin seçilme nedeni, yapılacak olan çalışmanın süt dişlerine etkisinin araştırılmasıdır.

Gönüllülerin araştırmaya katılımı, normalde biyolojik atık olarak muamele edilecek olan süt dişlerinin, proje konusu yöntemin laboratuvar ortamında denenmesi

amacıyla kullanılması şeklinde olmaktadır. Gönüllülerin çalışmaya dahil edilme/edilmeme kriterleri aşağıda belirtilmiştir.

Dahil edilme kriterleri:

- 15 yaşından küçük olmak,
- Ortodontik tedavi, diş/çene ağrısı, iltihap gelişimi vb. sebeplerle süt dişlerinin çekimi için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Bölümü'ne kabul edilmek,
- Bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu okuma, anlama ve gönüllü olarak kabul etme yetisine sahip olmaktır.

Dahil edilmeme kriterleri

- Çekilen süt dişlerinin aşırı madde kayıplı, hipomineralize vs. olması,
- Bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu okuma, anlama ve gönüllü olarak kabul etme yetisine sahip olmamaktır.

Çalışmada toplam 120 adet diş kullanılmıştır. Toplanan süt dişleri herhangi bir cinsiyet, yaş vb. bir ayırım yapılmaksızın ve dişlerin alındığı gönüllülerin bilgileri kayıt altına alınmaksızın kullanılmıştır. Toplanan dişler yumuşak doku kalıntıları, kan vb.den temizlendikten sonra çalışmaya ait işlem basamakları başlayana kadar distile su içerisinde bekletilmişlerdir. Kullanılacak olan bütün süt molar dişler için katılımcıların ebeveynlerinden çalışmanın yazılı ve sözlü açıklamasını takiben onam formu alınmıştır (EK 2).

3.4. DİŞ ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI

Seçilmiş olan 120 adet süt molar dişi yapılacak testlere göre iki farklı gruba ayrılmıştır.

FESEM, EDS analizi ve Raman spektroskopisi analizlerinde değerlendirmek için toplamda 48 adet süt molar dişi; SBS, kırılma modu analizlerinde değerlendirilmek üzere toplamda 72 adet süt molar dişi seçilmiştir.

FESEM, EDS analizi ve Raman spektroskopisi analizleri için 48 adet süt dişi kuronunun sağlıklı dentin dokusuna kenarları 3mm ve derinliği 1,5 mm olacak şekilde yeşil şeritli fissür frez ile class 5 kavite açılmıştır (Resim 3.1.). Hazırlanan kaviteler ticari olarak satılan ve klinikte kullanılan %37,5'lik fosforik asit (Ruby Etch, RubyDent, İstanbul, Türkiye) çözeltisi ile aşındırılarak demineralize edilmiştir.

SBS ve kırılma modu için ayrılan 72 adet süt molar dişi kuron kısımları dışarıda kalacak şekilde alçı kalıplara gömülmüştür (Resim 3.2.). Alçıya gömülen süt molar dişlerin okluzal kısmından mine kısmı kaldırılıp dentin açığa çıkana kadar Forcipol 2V Grinder & Polisher (Metkon, Maidstone, İngiltere) cihazında aşındırma yapılmıştır (Resim 3.3.). Aşındırılan yüzeyler ticari olarak satılan ve klinikte kullanılan %37,5'lik fosforik asit (Ruby Etch, RubyDent, İstanbul, Türkiye) ile aşındırılarak demineralize edilmiştir.



Resim 3.1. Sınıf 5 kavite açılan örnek süt dişi.



Resim 3.2. Okluzal aşındırması yapılmış ve alçı kalıba gömülmüş örnek süt dişi.



Resim 3.3. Forcipol 2V Grinder & Polisher (Metkon, Maidstone, İngiltere) aşındırma cihazı.

3.5. ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Çalışmada kullanılacak dişler her alt grupta 30 adet olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Dişler 6 ay boyunca 37°C'lik nemli etüvde bekletilerek kompozit rezinin ağız içi sıcaklık farklarından kaynaklanan termal yıpranması simüle edilmiştir.

Grup 1: Self etch uygulanan grup, asitle demineralizasyon sonrası üretici tavsiyesi ile self etch bonding işlemi uygulanacak ve başlangıç (Grup 1a), 3 ay ve (Grup 1b), 6 ay. (Grup 1c) boyunca 37°C'lik nemli etüvde bekletilmiştir.

Grup 2: 0.40 mM MPP3 + Self etch uygulanan grup, asitle demineralizasyon sonrası 0,40 mM MPP3 ile muamele edildikten sonra 10 dk mineralizasyon işlemine tabi tutuldu. Self etch bonding işlemi uygulanacak ve başlangıç (Grup 2a), 3 ay. (Grup 2b) ve 6 ay (Grup 2c) boyunca 37°C'lik nemli etüvde bekletilmiştir.

Grup 3: Etch & rinse uygulanan grup, asitle demineralizasyon sonrası üretici tavsiyesi ile total etch bonding işlemi uygulandı ve başlangıç (Grup 3a), 3 ay. (Grup 3b) ve 6 ay (Grup 3c) boyunca 37°C'lik nemli etüvde bekletilmiştir.

Grup 4: 0.40 mM MPP3 + Etch & rinse uygulanan grup, asitle demineralizasyon sonrası 0,40 mM MPP3 ile muamele edildikten sonra 10 dk mineralizasyon işlemine tabi tutuldu. Etch & rinse bonding işlemi uygulanacak ve başlangıç (Grup 4a), 3 ay. (Grup 4b) ve 6 ay (Grup 4c) boyunca 37°C'lik nemli etüvde bekletilmiştir.

Gruplar Tablo 3.1.'de gösterilmektedir.

Tablo 3.1. Çalışma gruplarının gösterimi.

Çalışma Grupları	
1.Grup	SE
2.Grup	0.40 mM MPP3 + SE
3.Grup	ER
4. grup	0.40 mM MPP3+ ER

Çalışmanın grupların ve örneklem sayısının zaman ve yapılacak olan testlere göre tablosi Çizelde 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Çalışmanın grup ve örneklem sayılarının detaylı gösterimi

TESTLER	0. AY (Grup a)				3.AY (Grup b)				6.AY (Grup c)			
	SE (1a)	P+SE (2a)	ER (3a)	P+ER (4a)	SE (1b)	P+SE (2b)	ER (3A)	P+ER (4b)	SE (1c)	P+SE (2c)	ER (3c)	P+ER (4c)
- Makaslama Bağlanma Dayanımı Testi (SBS) - Kırılma Modu Testi	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
- FESEM VE EDS Analizi -Raman Spektroskopisi	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Toplam	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

SE: Self etch, ER: Etch&rinse, P: MPP3

3.6. ÇALIŞMA GRUPLARINA MATERYALLERİN UYGULANMASI

FESEM, EDS analizi ve raman spektroskopisi için örneklerin sağlam bukkal yüzeylerine derinliği 1,5 mm, kenarları 3 mm olacak şekilde sınıf 5 kaviteler açılmıştır.

%37,5’lik fosforik asit (Ruby Etch, RubyDent, İstanbul, Türkiye) ile demineralize edilen dişler rastgele 4 gruba ayrılmıştır.

1. Grup SE uygulanan gruptur. Bu grupta demineralize dentin dokusuna klinikte kullandığımız Bond Force 2 dental adeziv (Tokuyama, Vicenza, İtalya) bir aplikatör yardımıyla dentin yüzeyine uygulanmıştır. Hava sıkılarak fazla uygulanan adeziv azaltılmıştır. 20 sn boyunca ışıklama yapılmıştır. Açılan kutu kaviteye Clearfil Majesty Posterior A2 (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya) kompozit el aletleri yardımıyla uygulanmış ve tekrardan 20 sn ışıklama yapılmıştır (Resim 3.4.).



Resim 3.4. Açılan Sınıf 5 kaviteye kompozit dolgu uygulanmış süt dişi.

2. Grup 0.40 mM MPP3 ve SE uygulanan gruptur. Demineralize edilmiş dentindokusuna bir insülin enjektörü yardımı ile MPP3 materyali uygulanmıştır. Bu MPP3 en az 2 dk olacak şekilde açılan kavitede bekletilmiştir. Sonrasında hiçbir yıkama yapmadan CaCl_2 ve NaH_2PO_4 yine insülin enjektörü yardımıyla kaviteye uygulanmıştır ve 10 dk boyunca mineralizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra serum fizyolojik ile hafifçe yıkanmış ve kurutulmuştur. Kurutulan yüzeye aplikatör yardımıyla Bond Force 2 dental adeziv (Tokuyama, Vicenza, İtalya) uygulanmış ve fazla adeziv hava sıkılarak uzaklaştırılmıştır. 20 sn boyunca ışıklama yapılmış ve Clearfil Majesty Posterior A2 kompozit (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya) el aletleri yardımıyla kaviteye uygulanmış tekrardan 20 sn ışıklama yapılmıştır.

3. Grup yalnızca ER uygulanan gruptur. Bu dişler ER uygulama prosedürleri doğrultusunda yeniden 30 sn'lik %37,5'lik fosforik asit (Ruby Etch, RubyDent, İstanbul, Türkiye) ile demineralize edilmiştir. 30 sn boyunca yıkanmış, hava su spreyi ile kurutulmuş ve sonrasında Prime&Bond NT (Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya) dental adeziv bir aplikatör yardımıyla dentin dokusuna uygulanmıştır. Hava sıkılarak fazla adeziv uzaklaştırılmıştır. 20 sn boyunca ışık cihazı ile ışıklama yapılmıştır. Sonrasında el aletleri yardımıyla Clearfil Majesty Posterior A2 kompozit (Kuraray

Medical Inc, Tokyo, Japonya) kaviteye uygulanmıştır. Tekrardan 20 sn ışıklamayapılmıştır.

4. Grup 0.40 mM MPP3 ve ER uygulanan gruptur. Tekrardan asitlenmiş ve demineralize edilmiş kaviteye bir insülin enjektörü yardımı ile MPP3 uygulanmıştır. Bu MPP3 en az 2 dk olacak şekilde dentin yüzeyinde bekletilmiştir. Sonrasında hiçbir yıkama yapmadan CaCl_2 ve NaH_2PO_4 yine insülin enjektörü yardımıyla kaviteye uygulanmıştır ve 10 dk boyunca mineralizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra serum fizyolojik ile hafifçe yıkanmış ve kurutulmuştur. Kurutulan yüzeye aplikatör yardımıyla Prime&Bond NT (Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya) dental adeziv uygulanmış, hava sıkılarak fazla uygulanan adeziv uzaklaştırılmış ve 20 sn boyunca ışıklama yapılmıştır. El aletleri yardımıyla Clearfil Majesty Posterior A2 kompozit (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya) uygulanmış ve 20 sn ışıklama yapılmıştır. Sınıf 5 kaviteye dolgu yapılmış diş örneğinin görüntüsünü Resim 3.4'te görmekteyiz. Her bir gruptan 4 numune olmak üzere rastgele olarak dişler seçilmiştir. FESEM, EDS ve Raman spektroskopisi incelemeleri yapılmadan hemen önce bu dişlerin kuron kısımlarında okluzal yüzeye paralel olacak ve yapılan sınıf 5 kompozit kavitenin yarısına gelecek şekilde aşındırma yapılmıştır. Böylelikle kavite yüksekliğinin yarısında kompozitin üç kenarı açıkta kalacak şekilde görüntü elde edilmiştir. Kesilen örneklerden başlangıç zamanı FESEM, EDS analizi ve raman spektroskopisi analizleri yapılmıştır. Kalan dişler 37°C'lik nemli etüve konulmuştur. 3. ve 6. ayda yine aynı şekilde rastgele olarak dişler seçilmiş ve okluzal yüzeyden aşındırma sonucu yeniden bu testlerin analizleri yapılmıştır. Uygulanan prosedürler Şekil 3.1.'de şematik olarak gösterilmiştir.

SBS ve kırılma modu analizleri için okluzal yüzeyleri aşındırılıp dentin dokusu asitle demineralize edilen dişler 4 farklı gruba rastgele olarak ayrılmıştır.

1. Grup SE uygulanan gruptur. Bu grupta demineralize dentin yüzeyine klinikte kullandığımız Bond Force 2 (Tokuyama, Vicenza, İtalya) (Resim 3.5.) dental adeziv bir aplikatör yardımıyla dentin yüzeyine uygulamıştır. Hava sıkılarak fazla uygulanan adeziv azaltılmıştır. 20 sn boyunca ışıklama yapılmıştır.



Resim 3.5. Çalışmada kullanılan SE adeziv Bond Force 2 (Tokuyama, Vicenza, İtalya).

Sonrasında yüksekliği 3mm, yarı çapı 1.5 mm olacak şekilde plastik silindir yardımıyla Clearfil Majesty Posterior A2 kompozit (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya) (Resim 3.5.) diş yüzeyine silindir blok halinde uygulanmıştır (Resim 3.7.). Tekrardan 20 sn ışıktanıp plastik silindir bir sond yardımıyla çıkarılmıştır.



Resim 3.6. Çalışmada kullanılan kompozit materyal Clearfil Majesty Posterior A2 kompozit (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya).



Resim 3.7. Silindir blok ile kompozit uygulanan dişin görünümü.

2. Grup 0.40 mM MPP3 ve SE uygulanan gruptur. Demineralize edilmiş dentinyüzeylerine bir insülin enjektörü yardımı ile MPP3 materyali uygulanmıştır. Bu MPP3 en az 2 dk olacak şekilde dentin yüzeyinde bekletilmiştir. Sonrasında hiçbir yıkama yapmadan CaCl_2 ve NaH_2PO_4 yine insülin enjektörü yardımıyla dentin yüzeyine uygulanmıştır ve 10 dk boyunca mineralizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra serum fizyolojik ile hafifçe yıkanmış ve kurutulmuştur. Kurutulan yüzeye aplikatör yardımıyla Bond Force 2 dental adeziv (Tokuyama, Vicenza, İtalya) uygulanmış ve fazla adeziv hava sıkılarak uzaklaştırılmıştır. 20 sn boyunca ışıklandırma yapılmış ve Clearfil Majesty Posterior A2 (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya) kompozit plastik silindir blok yardımıyla dentin yüzeyine uygulanmıştır. 20 sn tekrar ışıklandırıp plastik silindir bir sond yardımıyla çıkarılmıştır.

3. Grup yalnızca ER uygulanan gruptur. Bu dişler ER uygulama prosedürleri doğrultusunda yeniden 30 sn'lik %37,5'lik fosforik asit (Ruby Etch, RubyDent, İstanbul, Türkiye) ile demineralize edilmiştir. 30 sn boyunca yıkanmış, hava su spreyi ile kurutulmuş ve sonrası klinikte kullandığımız Prime&Bond NT dental adeziv (Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya) (Resim 3.8.) bir aplikatör yardımıyla dentin yüzeyine uygulanmıştır.

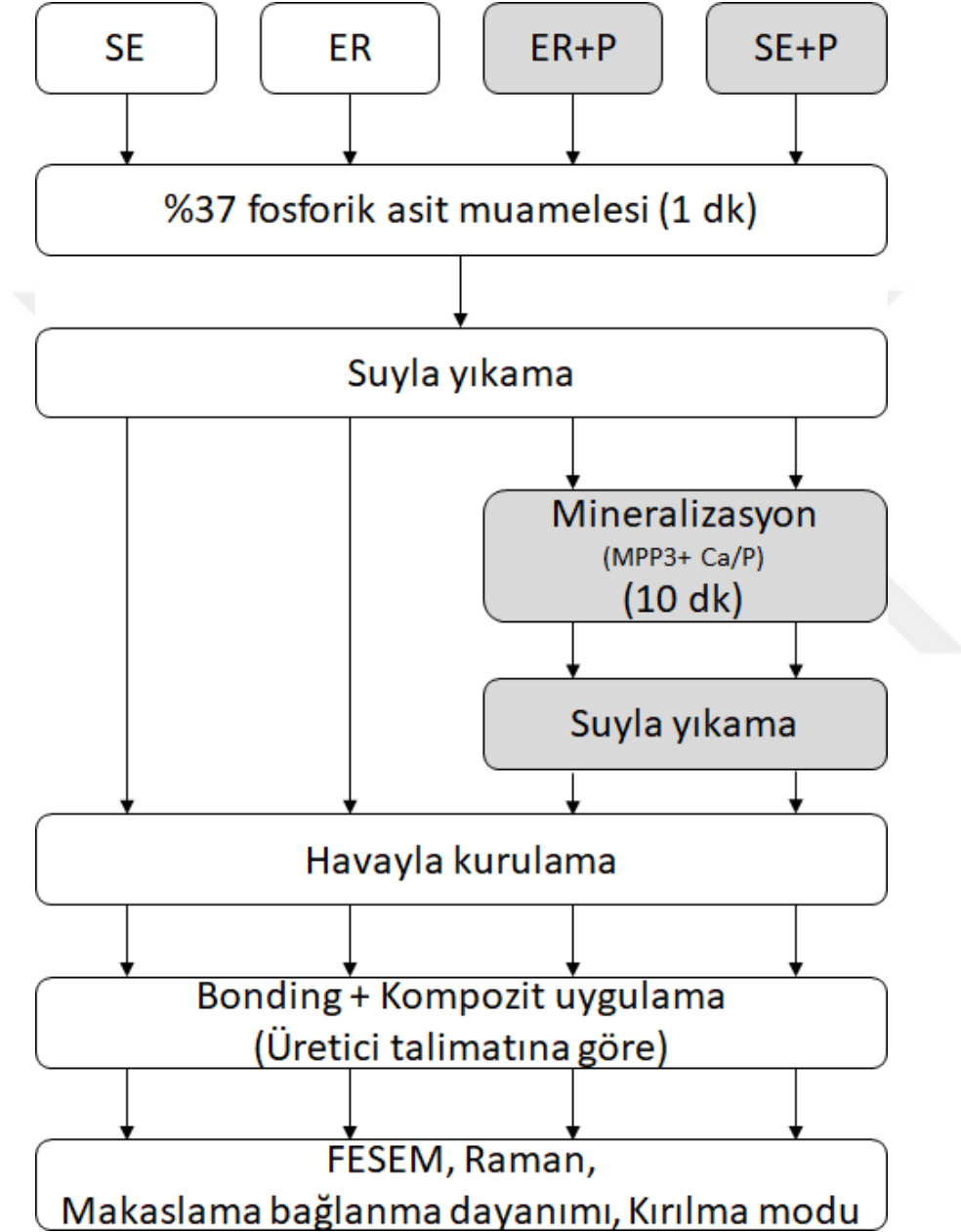


Resim 3.8. Çalışmada kullanılan ER adeziv Prime&Bond NT dental adeziv(Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya)

Hava sıkılarak fazla uygulanan adeziv azaltılmıştır. 20 sn boyunca ışık cihazı ile ışıklandırma yapılmıştır. Yüksekliği 3mm, yarı çapı 1.5 mm olacak şekilde plastik bir silindir yardımıyla Clearfil Majesty Posterior A2 kompozit (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya) dişlerin yüzeyine silindir blok halinde uygulanmıştır. Tekrardan 20 sn ışıklandırma yapıp plastik silindir bir sond yardımıyla çıkarılmıştır.

4. Grup 0.40 mM MPP3 ve ER uygulanan gruptur. Demineralize edilmiş dentin yüzeylerine bir insülin enjektörü yardımı ile MPP3 materyali uygulanmıştır. Bu MPP3 en az 2 dk olacak şekilde dentin yüzeyinde bekletilmiştir. Sonrasında hiçbir yıkama yapmadan CaCl_2 ve NaH_2PO_4 yine insülin enjektörü yardımıyla dentin yüzeyine uygulanmıştır ve 10 dk boyunca mineralizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra serum fizyolojik ile hafifçe yıkanmış ve kurutulmuştur. Kurutulan yüzeye aplikatör yardımıyla Prime&Bond NT (Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya) dental adeziv uygulanmış, hava sıkılarak fazla uygulanan adeziv azaltılmıştır ve 20 sn boyunca ışıklandırma yapılmıştır. Yüksekliği 3mm, yarı çapı 1.5 mm olacak şekilde plastik silindir yardımıyla Clearfil Majesty Posterior A2 kompozit (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya) diş yüzeyine silindir blok halinde uygulanmıştır. Tekrar 20 sn ışıklandırma yapıp plastik silindir bir sond yardımıyla çıkarılmıştır. Silindir blok kompozit uygulanmış dişin görüntüsünü Resim 3.7.'de görmekteyiz.

Örnekler hazırlandıktan sonra her bir gruptan 6 numune olacak şekilde dişler rastgele seçilmiş ve başlangıç zamanı SBS ve kırılma modu testleri yapılmıştır. Kalan dişler 37°C'lik nemli etüve konulmuştur. 3. ve 6. ayda da yine aynı şekilde rastgele olarak dişler seçilip bu testlerin analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.1. Çalışma aşamalarının şematik gösterimi.

3.7. ALAN EMİSYONLU TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (FESEM) VE ENERJİ DAĞILIM SPEKTROSKOPİSİ (EDS) ANALİZİ

Dişlerin bukkal yüzeyindeki sınıf 5 kavitelere uygulanan kompozit dolguların okluzale paralel olacak şekilde kavitenin yarısına kadar aşındırılması sonrası numunelere yüzey ve kesit morfolojilerini incelemek için FESEM analizi yapılmıştır. Analizden önce her bir gruptan birer adet olacak şekilde 12 adet diş, alüminyum numune tutucuya tutturulmuş, bir karbon bant üzerine yapıştırılmıştır (Resim 3.9.). Örnekler Leica EM ACE200 kaplama cihazı (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Almanya) kullanılarak altın ile kaplanmıştır (Resim 3.10.). Element dağılımının tespiti Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDS) ile yapılmıştır. Böylelikle FESEM görüntüleme ile numunelerin morfolojik özellikleri, EDS ile de birleşimindeki kimyasal elementlerin dağılımı tespit edilmiştir. Bu analizler 10 kV hızlandırma voltajında bir Hitachi SU5000 alan emisyonlu FESEM cihazı (Hitachi High Technologies Corp., Tokyo, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Resim 3.11.).



Resim 3.9. Alüminyum numune tutucuya karbon bant yardımıyla yapıştırılan diş örnekleri.



Resim 3.10. Leica EM ACE200 kaplama cihazı (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Almanya).



Resim 3.11. Hitachi SU5000 alan emisyonlu FE-SEM cihazı (Hitachi High Technologies Corp., Tokyo, Japonya).

3.8. RAMAN SPEKTROSKOPİSİ

Raman spektroskopisinde kullanılan cihazlar ışın kaynağı, numune ışınlama sistemi ve ışık toplama optiği, dalga boyu seçici, dedektör olmak üzere dört ana bileşenden oluşmaktadır. (206). Bu tez çalışmasında Jasco NRS-4500 Laser Raman Spectrometer (Tokyo, Japonya) cihazı kullanılmıştır (Resim 3.12.).



Resim 3.12. Jasco NRS-4500 Laser Raman Spectrometer (Tokyo, Japonya) Raman spektroskopi cihazı.

3.9. MAKASLAMA BAĞLANMA DAYANIMI (SHEAR BOND STRENGTH (SBS)) ANALİZİ VE KIRILMA TİPLERİNİN İNCELENMESİ

Makaslama bağlanma dayanımı (SBS) testi, universal test cihazı (Lloyd-LRX, Lloyd Instruments, Fareham, İngiltere) (Resim 3.13.) kullanılarak yapılmıştır. Bıçak sırtı şeklindeki metal uç, diğ ve silindir kompozit blok bağlanma ara yüzeyine paralel olacak şekilde yerleştirilmektedir (Resim 3.14). 1mm/dk hızla kuvvet uygulanmaktadır. Kompozit bloğun diğ yüzeyinden ayrıldığı andaki maksimum değeri

N cinsinden ölçülmektedir. Makaslama bağlanma dayanımı değerinin MPa cinsinden elde edilebilmesi için kırılma yükü (N) bağlanma alanına (mm²) bölünür.

$$\text{Makaslama bağlanma dayanımı (MPa)} = \text{Yük (N)} / \text{Alan (mm}^2\text{)}$$

$$\text{Alan} = (\pi r^2) \text{ mm}^2$$

r = bağlanma yüzeyinin yarıçapı formülü ile hesaplanmıştır.



Resim 3.13. Makaslama bağlanma dayanımı (SBS) testi için kullanılan universal test cihazı (Lloyd-LRX, Lloyd Instruments, Fareham, İngiltere).



Resim 3.14. Makaslama bağlanma dayanımı için universal test cihazına yerleştirilen numune.

Makaslama bağlanma dayanımı testi sonrasında tüm numunelerin hem dentin yüzeyleri hem de silindir kompozit blokların kopan yüzeylerin mikromorfolojisi stereomikroskop (Novel, Industrial Estate, Ambala, Haryana-Hindistan) aracılığıyla incelenmiştir (Resim 3.15.)

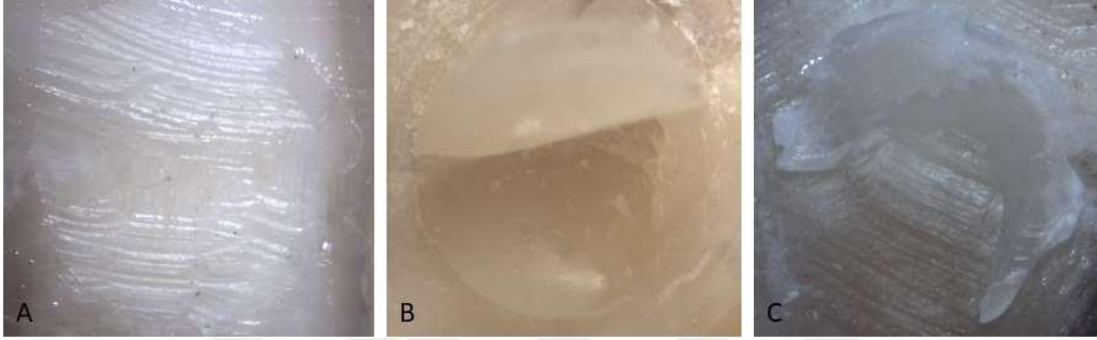


Resim 3.15. Kırılma tiplerinin incelenmesi için çalışmada kullanılan stereomikroskop (Novel, Industrial Estate, Ambala, Haryana, Hindistan) ve örneklerin incelenmesi.

Kırılma tiplerin belirlenmesinde;

- Adeziv kırık, hem dentin hem de kompozit rezini içine alan kırık tipi,
- Koheziv kırık, sadece dentini veya sadece kompozit rezini içine alan kırık tipi,
- Miks kırık, adeziv ve koheziv kırılmayı içeren alan kırık tipi,

sınıflaması kullanılmıştır (207). Çalışmamızdan elde ettiğimiz kırık tiplerine örnekresimler Resim 3.16.'de gösterilmiştir.

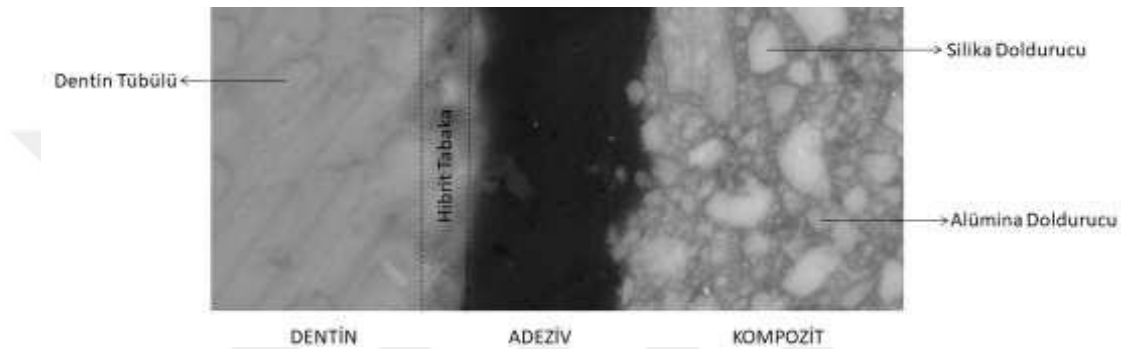


Resim 3.16. Çalışmamızdan elde edilen kırık tipleri. A: Adeziv kırık, B: Koheziv kırık, C:Miks kırık.

4. BULGULAR

4.1. FESEM - EDS ANALİZİ SONUÇLARI

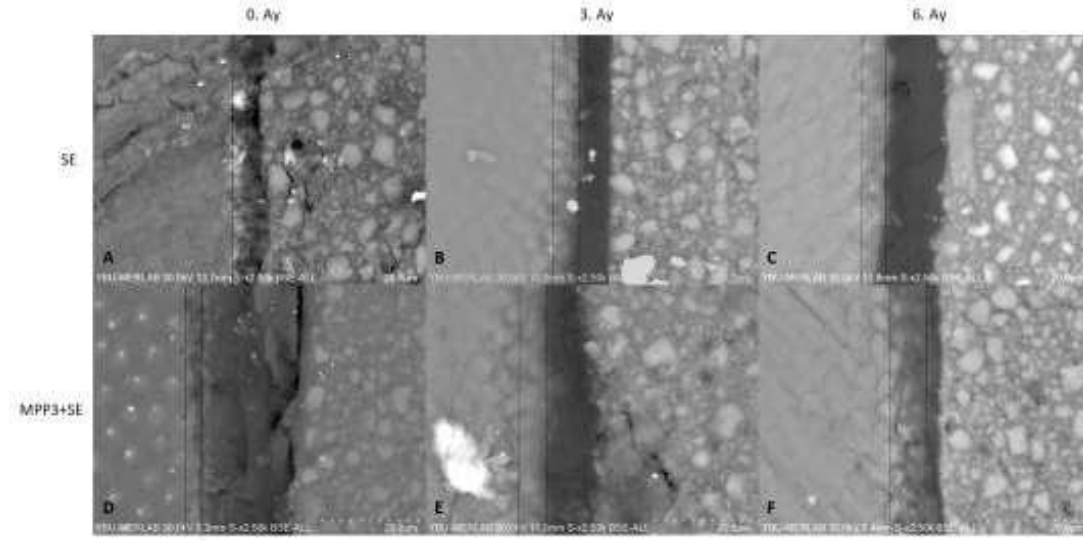
Altın ile kaplanan örnekler x25000 büyütme ile incelenerek numunelerin morfolojik özellikleri, EDS ile de örneklerin bileşimindeki kimyasal elementlerin dağılımı tespit edilmiştir. FESEM analizinde dentin-adeziv yüzey arasındaki bağlantı ve hibrit tabaka incelenmiştir (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. FESEM analizi görüntüsü.

FESEM analizi incelenirken dentin dokusu, dentin tübülleri, adeziv, kompozit, kompozit içerisindeki doldurucular net bir şekilde gözlemlenebilmektedir. Dentin ile adeziv arasında olduğu düşünülen ve Şekil 4.1.'de gösterilen hibrit tabaka hakkında yorum yapılmaktadır.

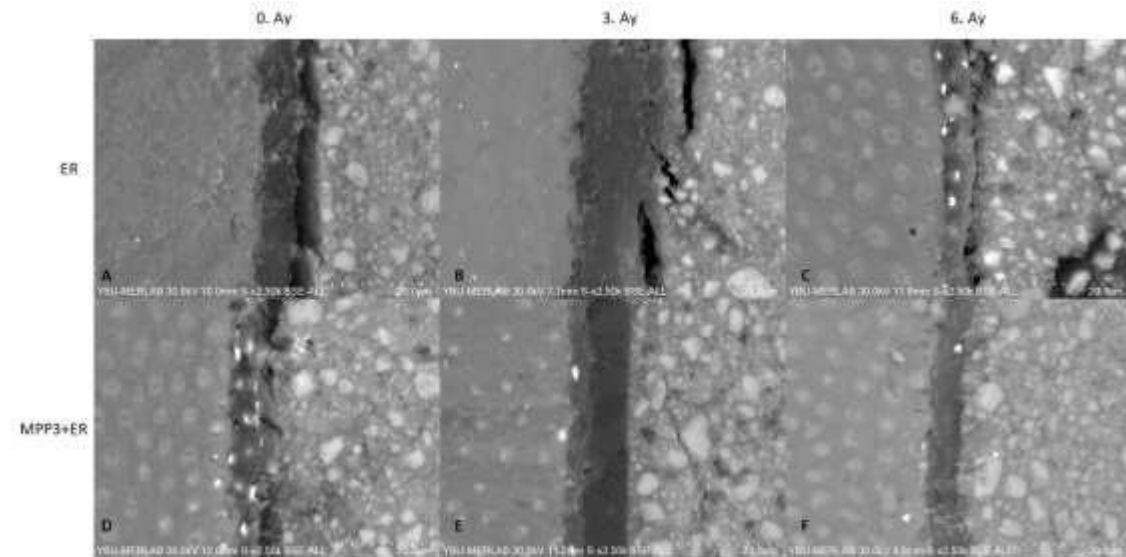
Şekil 4.2.'de SE ve MPP3+SE grubunun 0. ay, 3. ay, 6.ay FESEM analizi görüntüleri gösterilmiştir. Görüntülerde dentin, hibrit tabaka, adeziv ve kompozitin büyük ölçüde ayırt edilebildiği görülmüştür. EDS analizleri de aşağıdaki görüntülerin alındığı alanda yapılmıştır.



Şekil 4.2. SE ve MPP3+SE grubunun 0. ay, 3. ay, 6.ay FESEM analizi görüntüleri.

A: SE grubu 0. ay FESEM görüntüsü **B:** SE grubu 3. ay FESEM görüntüsü, **C:** SE grubu 6. ay FESEM görüntüsü, **D:** MPP3+SE grubu 0. ay FESEM görüntüsü, **E:** MPP3+SE grubu 3. ay FESEM görüntüsü, **F:** MPP3+SE grubu 6. ay FESEM görüntüsü.

Şekil 4.3.'te de ER ve MPP3+ER grubunun 0. ay, 3. ay, 6.ay FESEM analizi görüntüleri gösterilmiştir. Dentin, adeziv ve kompozit büyük ölçüde ayırt edilebilirken; hibrit tabakanın SE gruplarında olduğu kadar belirgin ayırt edilemediği görülmüştür.



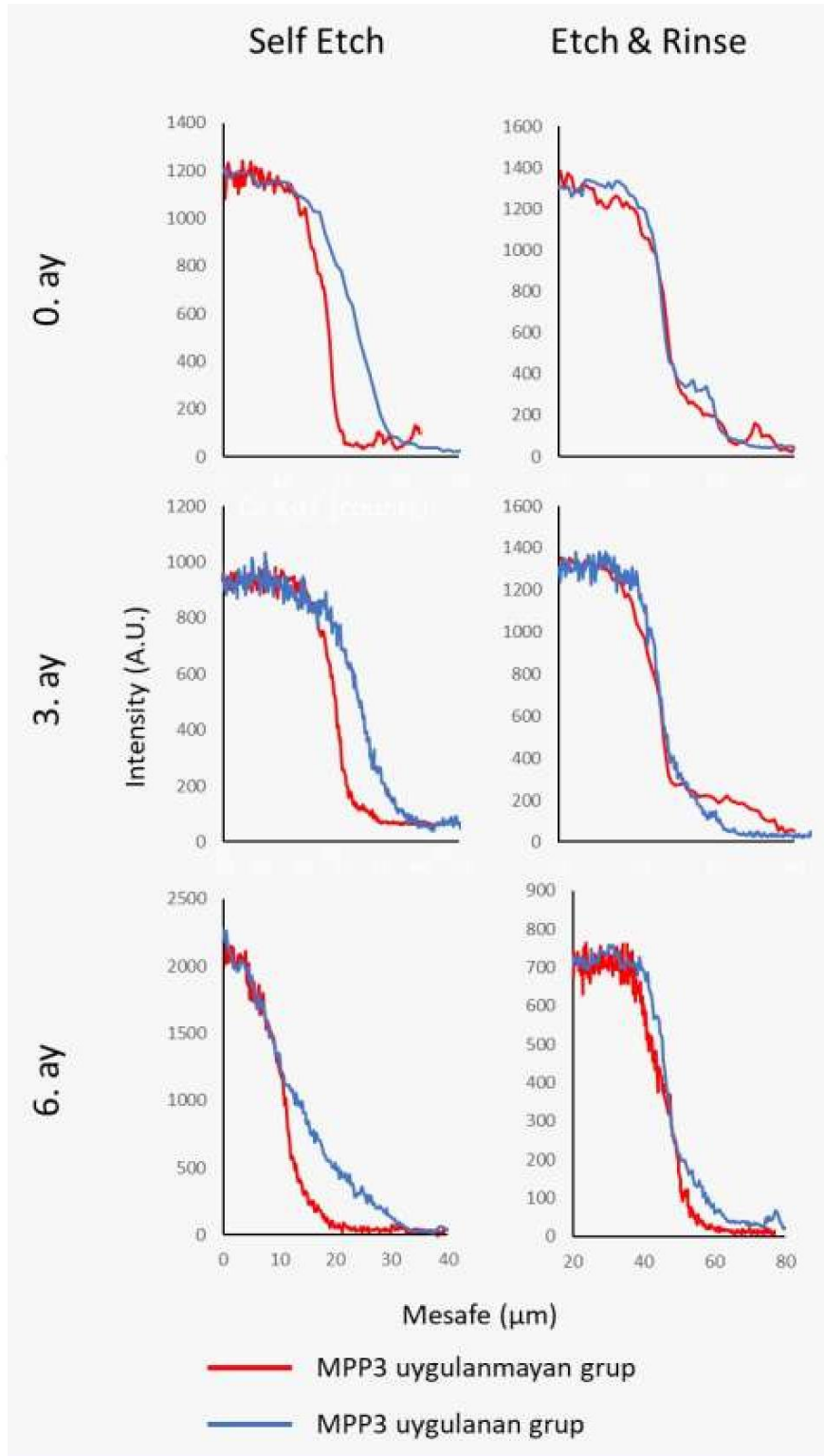
Şekil 4.3. ER ve MPP3+ER grubunun 0. ay, 3. ay, 6.ay FESEM analizi görüntüleri.

A: ER grubu 0. ay FESEM görüntüsü **B:** ER grubu 3. ay FESEM görüntüsü, **C:** ER grubu 6. ay FESEM görüntüsü, **D:** MPP3+ER grubu 0. ay FESEM görüntüsü, **E:** MPP3+ER grubu 3. ay FESEM görüntüsü, **F:** MPP3+ER grubu 6. ay FESEM görüntüsü.

SE ve MPP3+SE gruplarındaki numunelerin yüzeyinde yapılan EDS analizinde saptanan Ca elementinin 0. ay, 3. ay ve 6. aylardaki dağılımı Şekil 4.4.'te gösterilmiştir. MPP3 eklenen SE grubunda dentinden adeziv yüzeye doğru geçişte Ca yoğunluğunda yavaş bir düşüş gözlenirken bu düşüş SE grubunda daha keskin bir şekilde gözlemlenmektedir.

ER ve MPP3+ER gruplarındaki numunelerin yüzeyinde yapılan EDS analizinde saptanan Ca elementinin 0. ay, 3. ay ve 6. aylardaki dağılımı Şekil 4.4.'te gösterilmiştir. ER ve MPP3+ER grupları arasında Ca grafiklerindeki dağılımlarda net bir fark görülmemektedir. Her iki grupta da aylara göre Ca dağılımlarda ani düşüşler görülmektedir.

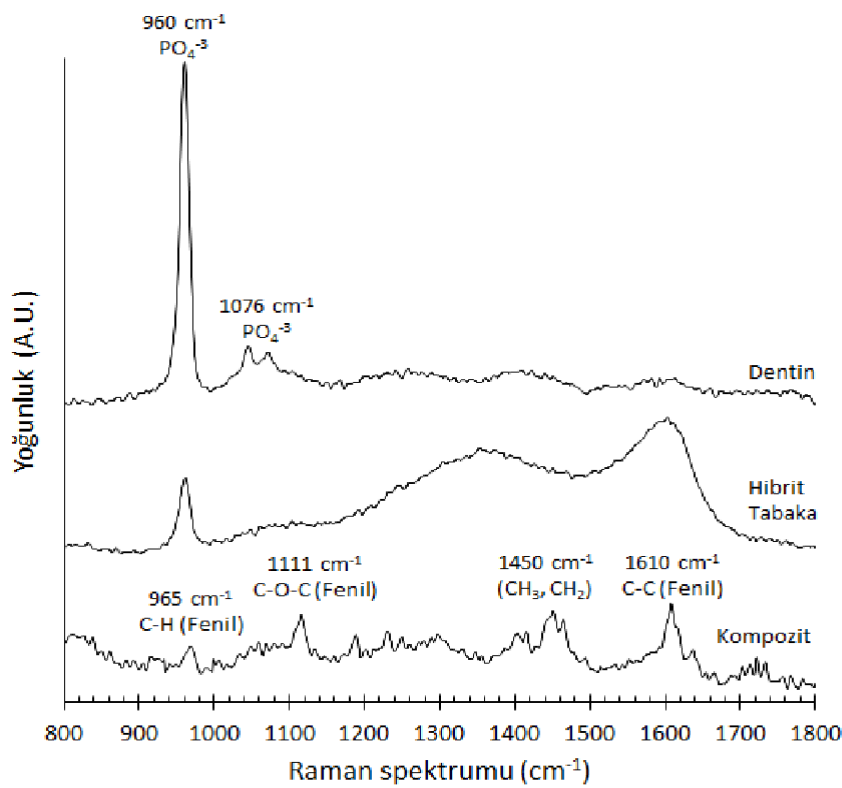




Şekil 4.4. SE, MPP3+SE, ER, MPP3+ER gruplarının 0, 3 ve 6. aylardaki EDS analizinde saptanan Ca elementi dağılımı.

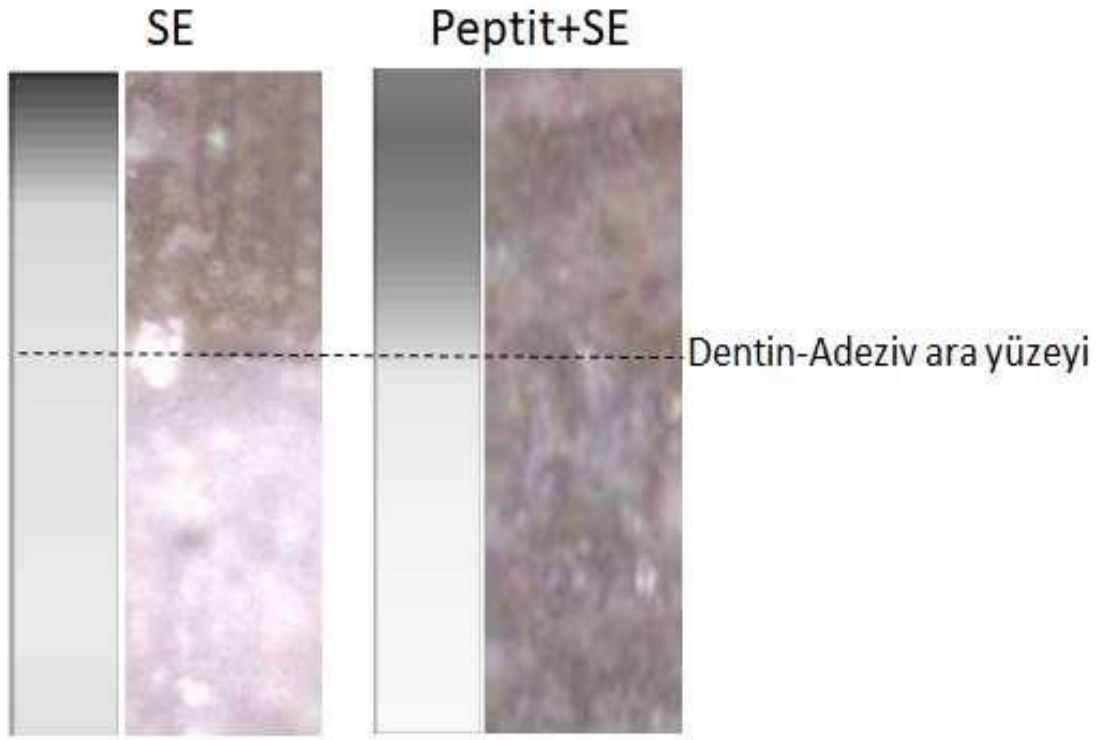
4.2. RAMAN SPEKTROSKOPİSİ ANALİZİ SONUÇLARI

Dentin spektrumundaki 960 cm^{-1} deki pik fosfat molekülüne denk gelmektedir. (Şekil 4.5.) Dentin-adeziv ara yüzeyinden alınan görüntüde örnek boyunca düz bir çizgi çizildiğinde 10 noktadan toplanan ölçümlerde 960 cm^{-1} 'deki pikin yüksekliği görülmektedir. Bu histogramda renk ne kadar koyuysa 960 cm^{-1} 'deki pik o kadar yüksektir, yani o kadar fazla fosfat molekülü bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında incelenen örneklerde raman spektroskopisinde fosfat pikinin azalmasına bakılmıştır. Keskin bir geçiş olup olmadığı hakkında yorum yapılmıştır.



Şekil 4.5. Dentin, hibrit tabaka ve kompozitten elde edilen raman spektrumları.

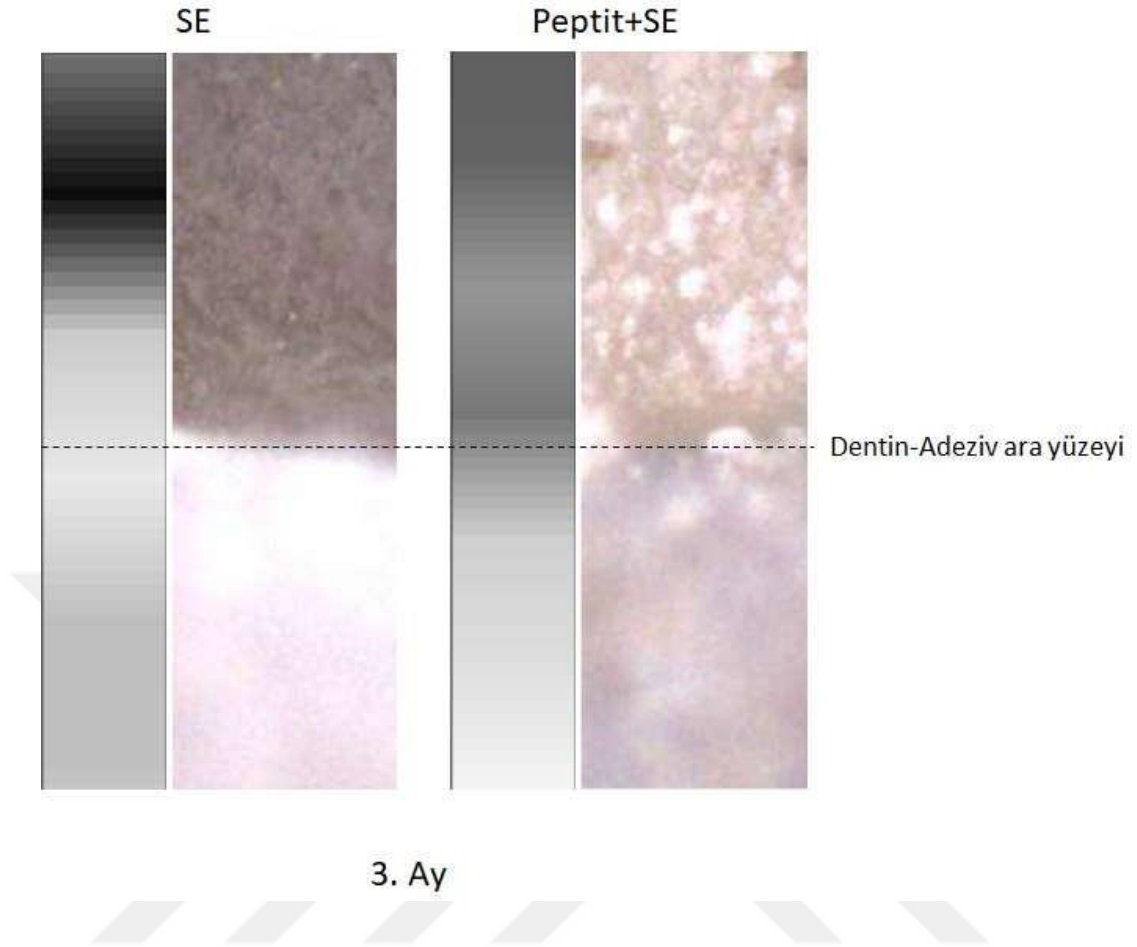
Yaptığımız tez çalışmasında örneklerin dentin-adeziv ara yüzeyinden raman spektroskopisinde fosfat mineral yoğunluğunu gösteren 960 cm^{-1} piki üzerinden resimler elde edilmiştir. Bu resimler ile grupların kendi içlerinde fosfat mineralinin yoğunluğu aylara göre değerlendirilmiştir. Fosfat minerali ile ilişkilendirilen spektrumdaki rengin koyuluğu fosfat molekül yoğunluğunu, rengin açıklığı fosfat mineralinin azlığını temsil etmektedir. Bu görüntülerin incelenmesi ara yüzün basit ve homojen bir tabaka olmadığını göstermektedir.



0. Ay

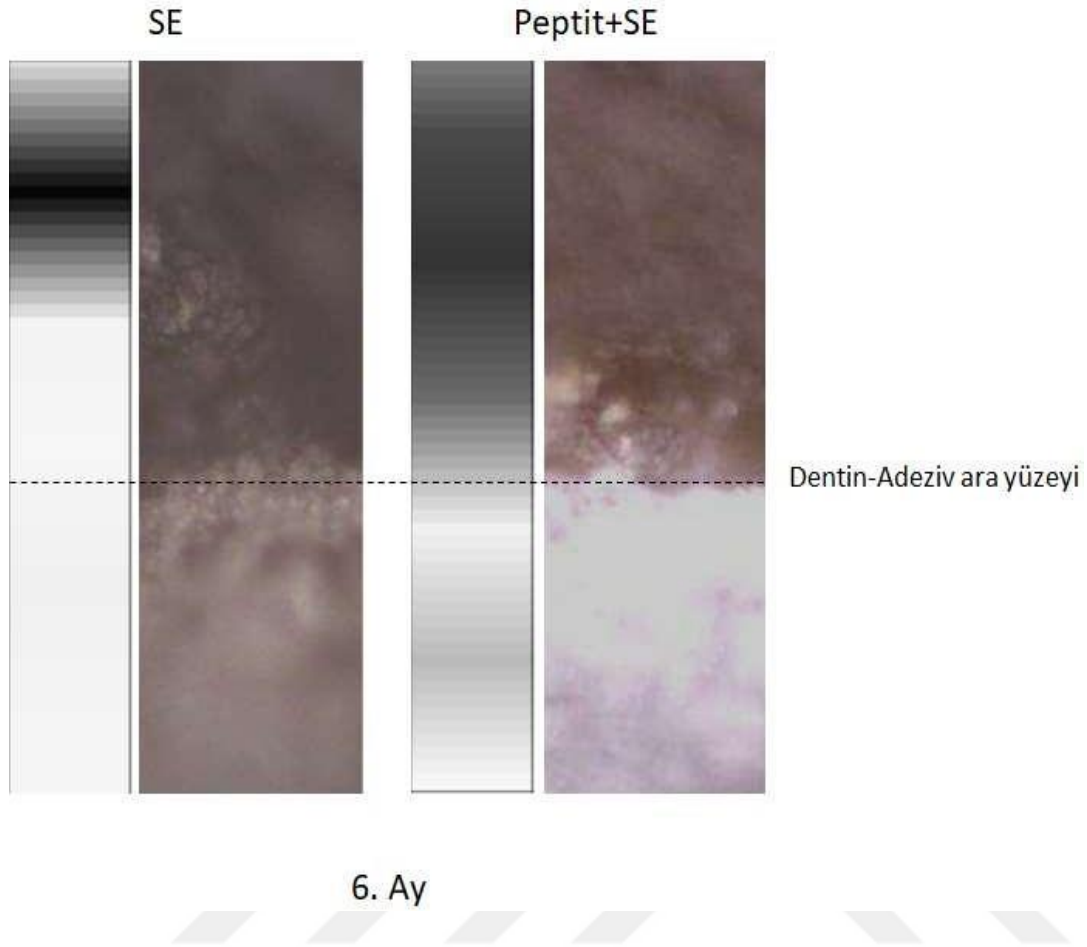
Şekil 4.6. 0. ayda SE ve MPP3+SE grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.

Şekil 4.6.'te 0. aydaki SE ve MPP3+SE grubunun mineral yoğunluğu incelenmektedir. Her iki grupta da dentin-adeziv ara yüzeyine kadar fosfat mineralinin azalarak devam ettiğini fakat SE grubunda ara yüzeye gelmeden çok önce mineral yoğunluğunun neredeyse bittiğini, MPP3+SE grubunda ise ara yüzeye kadar mineral yoğunluğunun devam ettiği görülmektedir.



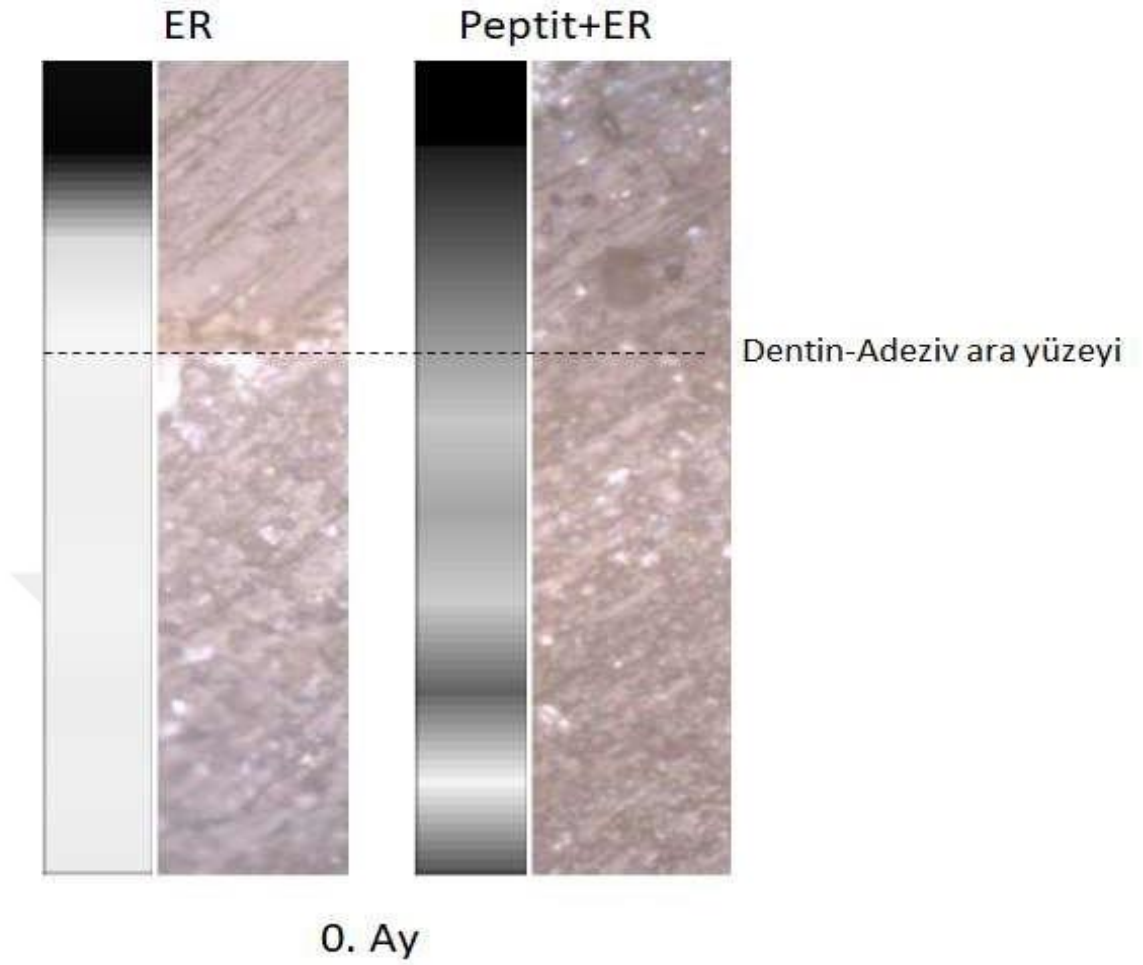
Şekil 4.7. 3. ayda SE ve MPP3+SE grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.

Şekil 4.7.'da 3. aydaki SE ve MPP3+SE grubunun mineral yoğunluğu incelenmektedir. Her iki grupta da fosfat mineral yoğunluğunun dentin-adeziv ara yüzeyine kadar azalarak devam ettiği fakat bu azalmanın SE grubunda, MPP3+SE grubuna göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. MPP3+SE grubunda ara yüzeyden sonra da fosfat mineralinin yoğunluğunun bir miktar daha devam ettiği görülmektedir.



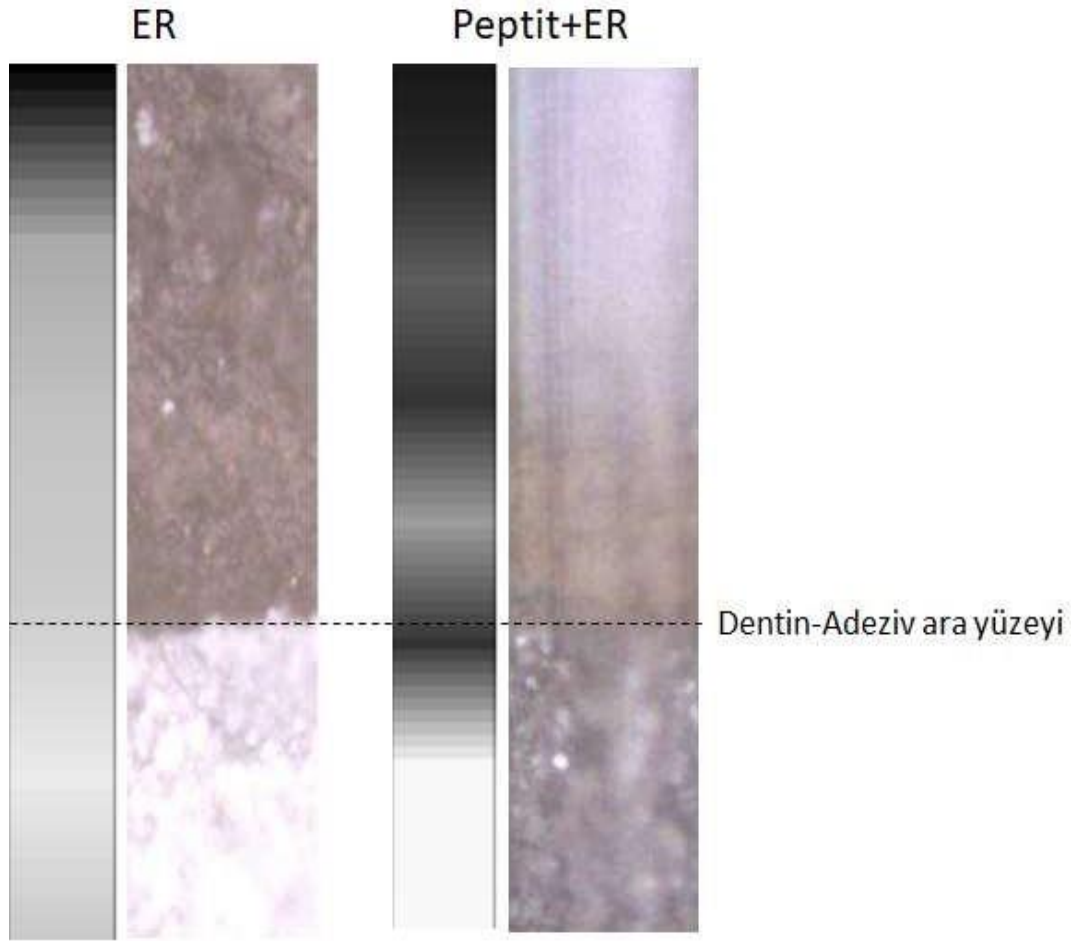
Şekil 4.8. 6. ayda SE ve MPP3+SE grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.

Şekil 4.8.'de 6. aydaki SE ve MPP3+SE grubunun fosfat mineral yoğunluğu incelenmektedir. 6. ayda SE grubunda fosfat mineral yoğunluğunun ara yüzeye gelmeden önce keskin bir biçimde bittiğini, demineralize olduğunu ve hibrit tabakada mineral yoğunluğu olmadığını görmekteyiz. MPP3+SE grubunda ise ara yüzeye kadar azalarak devam ettiği ve ara yüzeyde de bir miktar bulunduğu, hibrit tabakada mineral yoğunluğunun devamlılık gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.9. 0. ayda ER ve MPP3+ER grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.

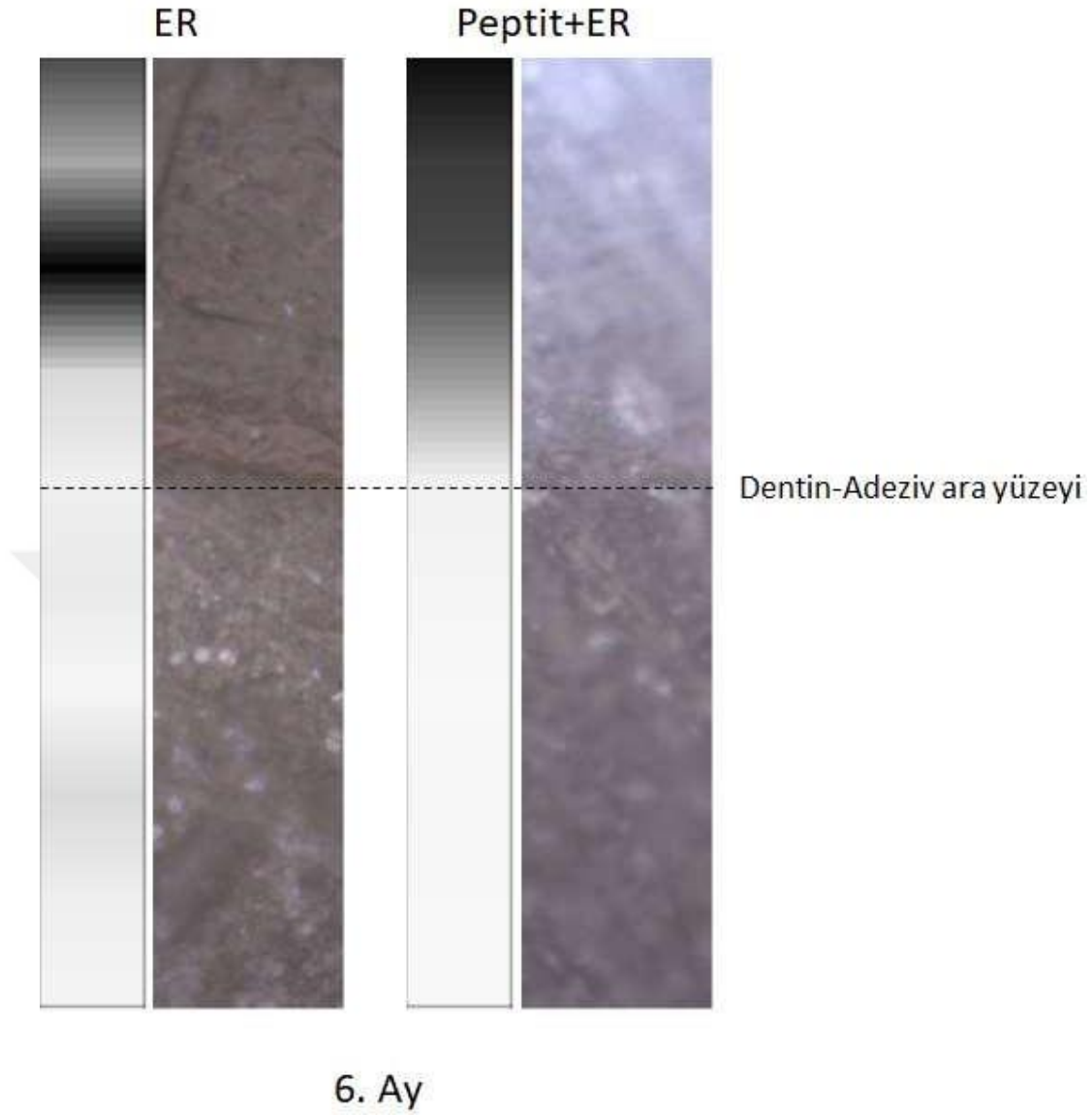
Şekil 4.9.'de 0. ayda ER ve MPP3+ER grubunun dentin-adeziv ara yüzeyinden alınan fosfat mineral yoğunluğunun görüntüsü incelemektedir. ER grubunda dentin-adeziv ara yüzeyine ulaşmadan fosfat mineral yoğunluğunun azalarak ilerlediğini ve ara yüzeyde neredeyse hiç olmadığını, MPP3+ER grubunda ise dentin-adeziv ara yüzeyinde fosfat mineralinin azalmış halde olsa bile devam ettiği gözlemlenmektedir.



3. Ay

Şekil 4.10. 3. ayda ER ve MPP3+ER grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.

Şekil 4.10.'da 3. ayda ER ve MPP3+ER grubunun dentin-adeziv ara yüzeyinden alınan fosfat mineral yoğunluğunun görüntüsü incelenmektedir. ER grubunda ara yüzeye gelmeden önce fosfat yoğunluğunun azalarak sonlandığı fakat MPP3+ER grubunda ise ara yüzeye kadar fosfat yoğunluğunun devam ettiği hatta sonrasında bir miktar bulunduğu görülmektedir.



Şekil 4.11. 6. ayda ER ve MPP3+ER grubunun 960 cm^{-1} pikinden elde edilen raman görüntüsü.

Şekil 4.11.'da 6. ayda ER ve MPP3+ER grubunun dentin-adeziv ara yüzeyindeki fosfat mineral yoğunluğu incelenmektedir. ER grubunda fosfat mineral yoğunluğunun dentin adeziv ara yüzeyine gelmeden sonlandığı, hibrit tabaka ve ara yüzeyde fosfat mineral yoğunluğunun bulunmadığı, demineralize olduğu gözlenmektedir. MPP3+ER grubunda ise dentin adeziv ara yüzeyine kadar fosfat mineral yoğunluğunun hala devam ettiği, 6 ay sonra bile hibrit tabakada mineral yapının bulunduğu görülmektedir.

Bu şekillerden de anlaşılacağı gibi MPP3+SE ve MPP3+ER gruplarında her üç zaman diliminde de hibrit tabaka ve dentin-adeziv ara yüzeyinde mineral yapının devam ettiği, kısmi remineralizasyonun sağlandığı ve 6. aya kadar korunduğu sonucuna varılmaktadır. SE ve ER gruplarında ise üç farklı zaman diliminde de dentin-adeziv ara yüzeyinde ve hibrit tabakada fosfat mineral yoğunluğunun çok az hatta neredeyse hiç olmadığı sonucuna varılmaktadır.

4.3. MAKASLAMA BAĞLANMA DAYANIMI SONUÇLARI

Makaslama bağlanma dayanımı sonuçlarının değerlendirmesi yapılırken elde edilen veriler ikili değerlendirmeler yapılarak incelenmiştir. Bu nedenle sonuçların T testi ile istatistiksel sonucu elde edilmiştir. Gruplara göre makaslama bağlanma dayanımı değerlerinin farklı zamanlardaki ortalamaları ve standart sapma tanımlayıcı istatistikleri MPa cinsinden Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

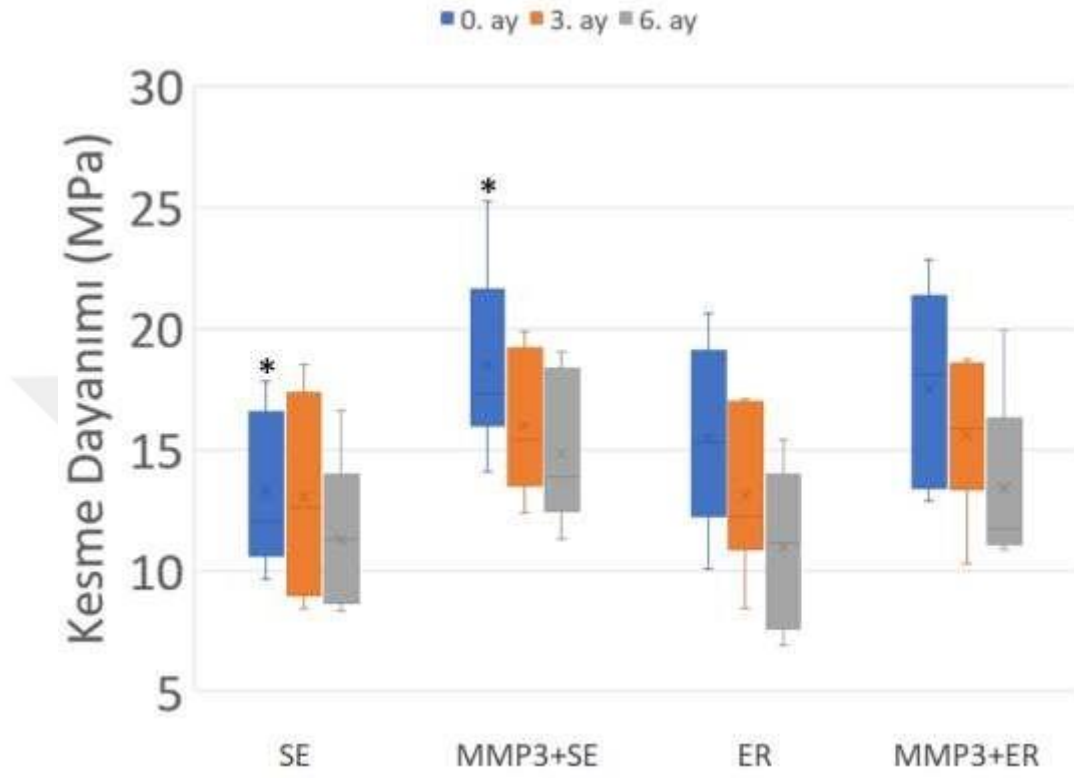
Tablo 4.1. Gruplara göre makaslama bağlanma dayanımı değerlerinin farklı zamanlardaki ortalama ve standart sapma tanımlayıcı istatistikleri.

Aylar	Kesme Dayanımı (MPa)			
	SE	SE+MPP3	ER	ER+MPP3
0. ay	13,28 ± 2,90 *	18,48 ± 3,55 *	15,47 ± 3,46	17,52 ± 3,69
3. ay	13,06 ± 3,69	15,99 ± 2,68	13,10 ± 3,02	15,60 ± 2,90
6. ay	11,31 ± 2,91	14,84 ± 2,82	10,99 ± 2,98	13,41 ± 3,25

SE: Self etch, ER: Etch&rinse, P: MPP3, *: p<0,05

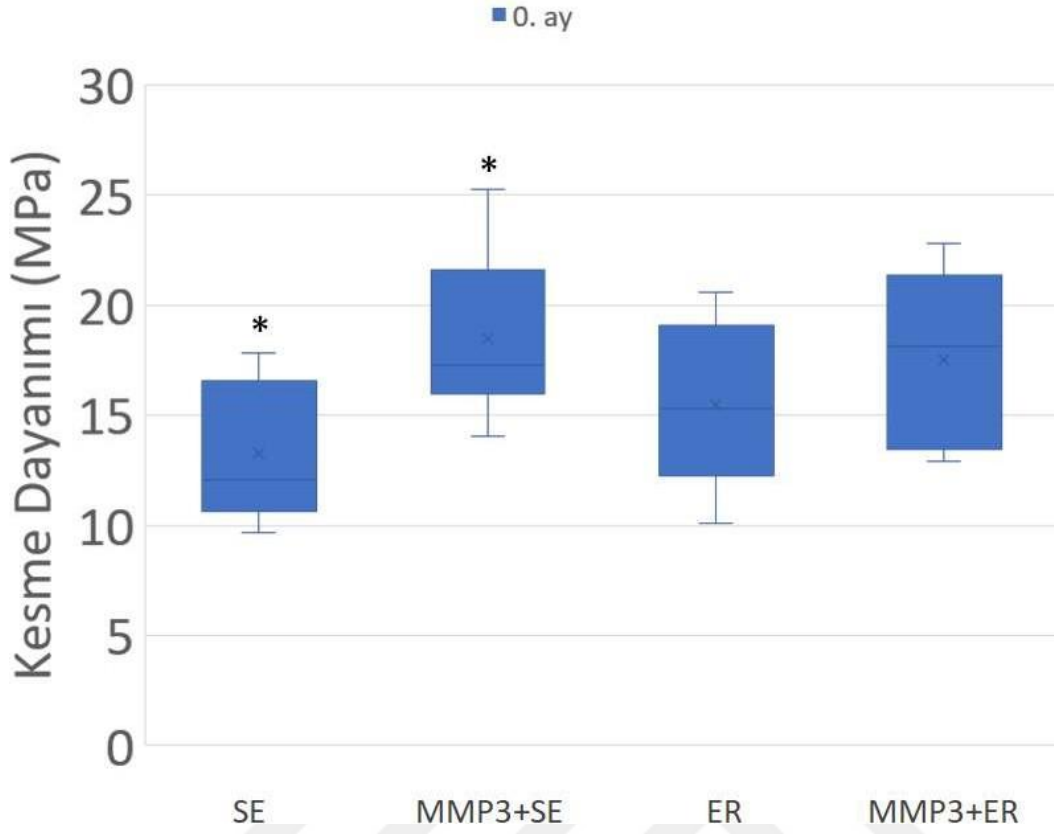
Elde edilen istatistiksel analize göre yalnızca SE grubu ile MPP3+SE grubu arasında 0. ayda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır (p<0,05). 3. ayda ve 6. ayda bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0,05). ER grubu ile MPP3+ER grubu arasında 0. ay, 3. ay ve 6. ay zaman diliminde ayrı ayrı olmak üzere aralarında anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0,05). Genel olarak baktığımız zaman SE+MPP3 uygulanan grup, ER+MPP3 uygulanan gruba göre daha yüksek kesme bağlanma değerleri vermektedir. Bu sonuçlar elde ettiğimiz EDS analizinde gördüğümüz Ca sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Tüm grupların makaslama bağlanma değerlerinin dağılımı aylara göre Şekil 4.12'de gösterilmiştir.

Tüm grupların makaslama bağlanma dayanımı 0. ay değerleri Şekil 4.13.'de, 3. ay değerleri Şekil 4.14.'te, 6. ay değerleri Şekil 4.15.'te ayrı ayrı gösterilmiştir.



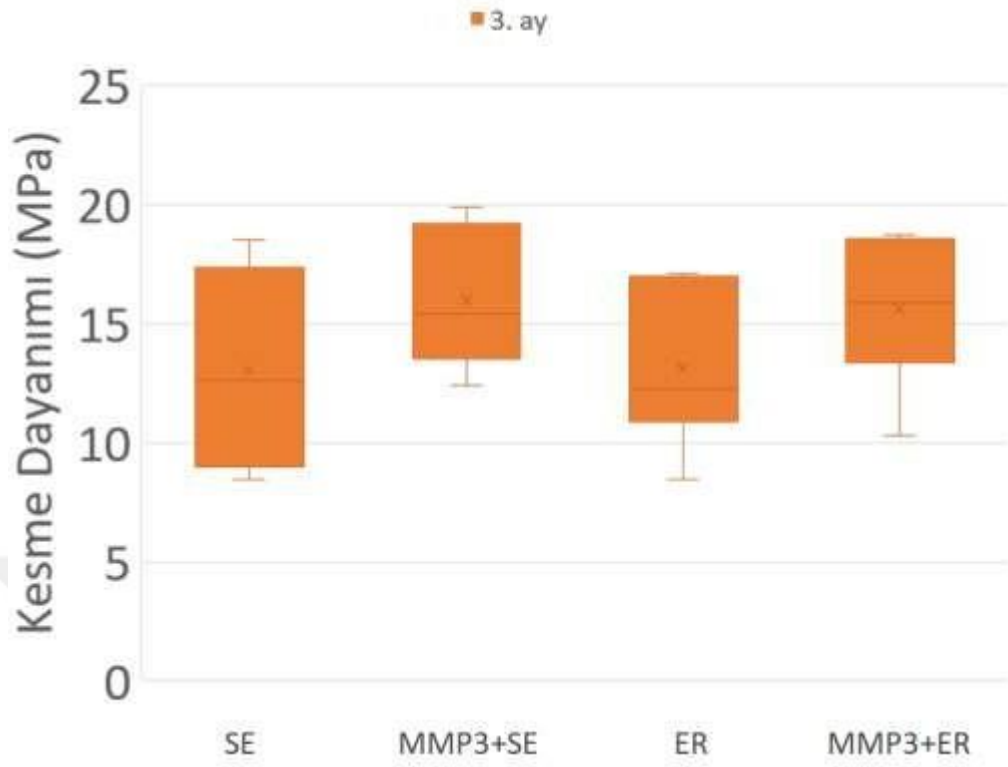
Şekil 4.12. Gruplara ve aylara göre makaslama bağlanma değerlerinin dağılımı.

(*: $p < 0,05$ işaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır.)

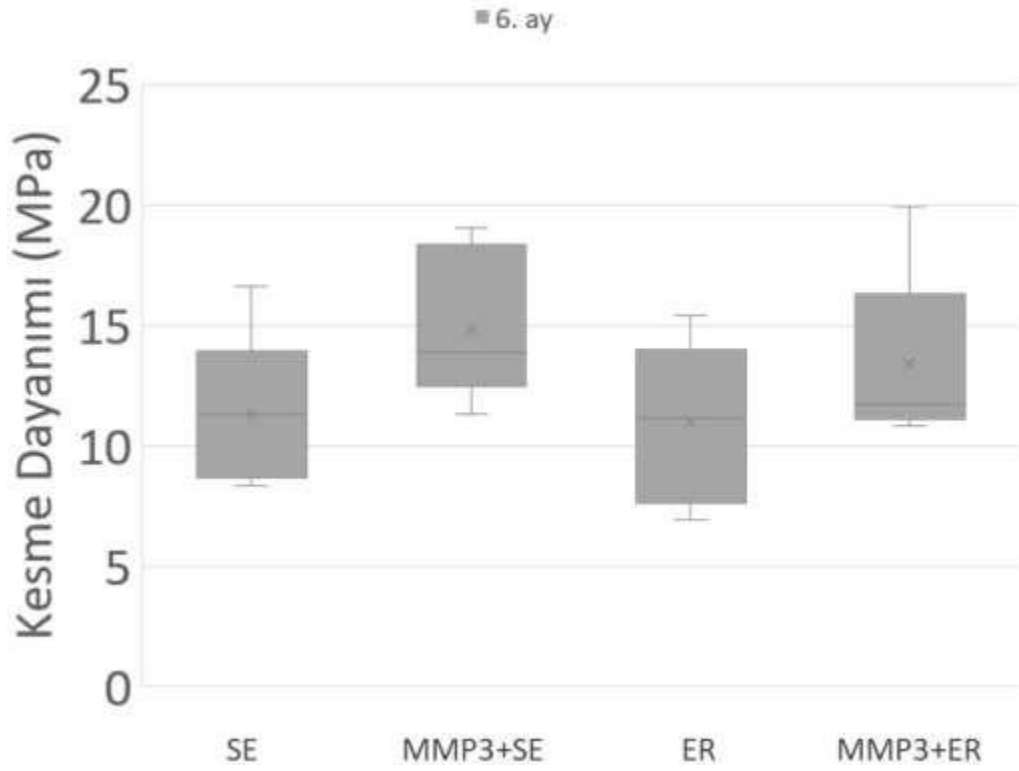


Şekil 4.13. Tüm grupların 0. ay makaslama bağlanma değerlerinin MPa cinsinden dağılımı. *:p<0.05, işaretli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır.

Grupları 0. ayda birbirleriyle kıyasladığımız zaman SE ve ER hemen hemen aynı görünmektedir. Fakat MPP3 eklediğimiz zaman MPP3+SE grubunda anlamlı bir yükselme görmekteyiz (Şekil 4.13.).



Şekil 4.14. Tüm grupların 3. ay makaslama bağlanma değerlerinin MPa cinsinden dağılımı.

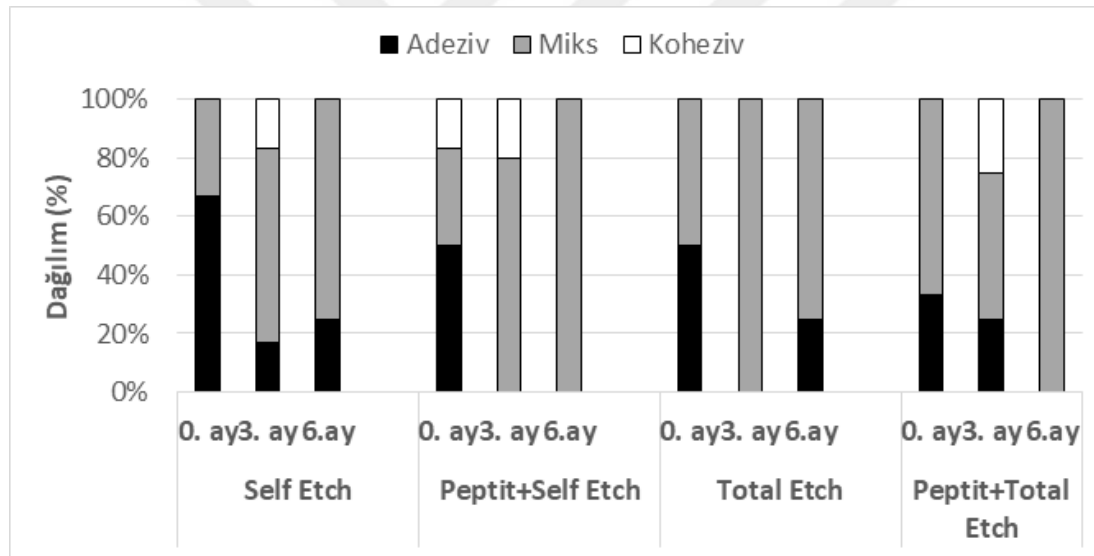


Şekil 4.15. Tüm grupların 6. ay makaslama bağlanma değerlerinin MPa cinsinden dağılımı.

Bütün gruplarda öncesinde asitleme yaptığımız için mineralizasyon yapmadığımız örneklerde SE ve ER grupları arasında çok büyük bir fark görmemekteyiz. SE ve ER grupları arasındaki fark smear tabakası olduğu zaman ortaya çıkmaktadır. Çalışmamıza göre MPP3+SE ve MPP3+ER gruplarını kıyasladığımız zaman MPP3+SE grubu FE-SEM ve ramanda da olduğu gibi daha iyi performans göstermektedir.

4.4. KIRILMA TİPLERİNİN İNCELENMESİNE BAĞLI SONUÇLAR

Makaslama bağlanma dayanımı testi sonrasında stereomikroskop altında kırık yüzeyler incelenmiştir ve “adeziv, koheziv, miks” tip kırık olmak üzere sınıflandırılmıştır. Meydana gelen kırık tiplerinin aylara ve gruplara göre dağılımı Şekil Şekil 4.16’da gösterilmiştir.



Şekil 4.16. Gruplara ve aylara göre kırık tiplerinin dağılımı.

SE uygulanan grupta 0. ayda %66,66 adeziv kırılma, %33,33 miks kırılma görülmüştür. Koheziv kırık görülmemiştir. 3. ayda %16,66 adeziv kırılma, %66,6 miks kırılma, %16,66 koheziv kırılma gözlenmiştir. 6. ayda %25 adeziv kırılma, %75 mikskırılma gözlenmiştir, koheziv kırılma görülmemiştir.

MPP3+SE uygulanan grupta 0. ayda %50 adeziv kırılma, %33,33 miks kırılma, %16,66 koheziv kırılma gözlenmiştir. 3. ayda adeziv kırılma gözlenmemiştir, %80 miks kırılma, %20 koheziv kırılma gözlenmiştir. 6. ayda %100 miks kırılma gözlenmiştir, adeziv ve koheziv kırılma gözlenmemiştir.

ER uygulanan grupta 0. ayda %50 adeziv kırılma, %50 miks kırılma görülmüştür. Koheziv kırık görülmemiştir. 3. ayda %100 miks kırılma gözlenmiştir.

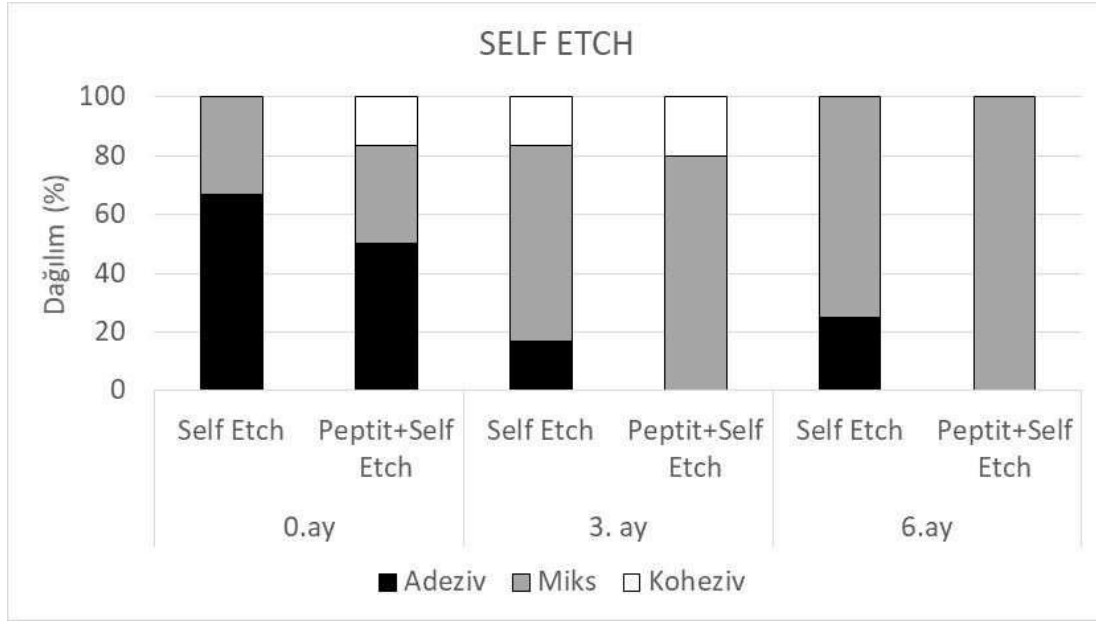
6. ayda %25 adeziv kırılma, %75 miks kırılma gözlenmiştir, koheziv kırılma görülmemiştir.

MPP3+ER uygulanan grupta 0. ayda %33,33 adeziv kırılma, %66,66 miks kırılma görülmüştür. Koheziv kırık görülmemiştir. 3. ayda %25 adeziv kırılma, %50 miks kırılma, %25 koheziv kırılma gözlenmiştir. 6. ayda %100 miks kırılma gözlenmiştir, adeziv ve koheziv kırılma gözlenmemiştir.

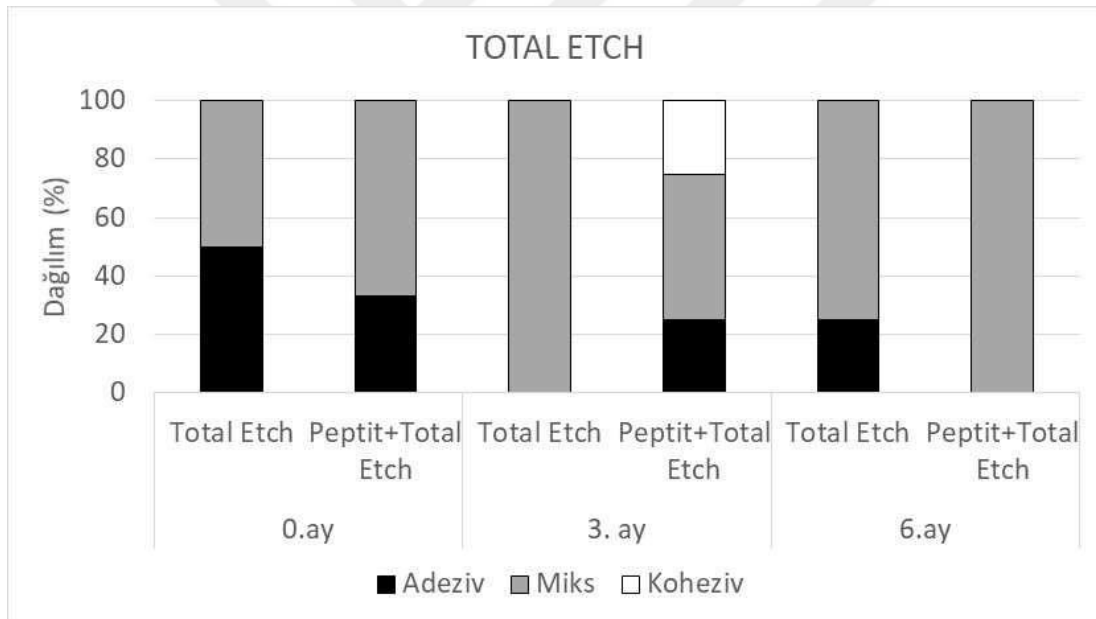
Verilerin Mann-Whitney U testi ile istatistiksel sonucu elde edilmiştir. Sonuçlara göre çalışmamızda en fazla adeziv ve miks kırılma tipinin gözlendiği tespit edilmiştir. Sonuçlar incelenirken aylara göre gruplar kendi içinde kıyaslanarak değerlendirme yapılmıştır. 0. ayda, 3. ayda ve 6. ayda SE grubu ile MPP3+SE grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yine aynı şekilde 0. ayda,

3. ayda ve 6. ayda ER grubu ile MPP3+ER grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Uygulanan adeziv tiplerin kendi içindeki kıyaslamalarının aylara göre dağılımı Şekil 4.17. ve Şekil 4.18.'de gösterilmiştir.

İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen MPP3+SE ve MPP3+ER gruplarında adeziv kırıklarda empirik olarak bir düşüş görülmektedir. Bu gruplarda 6. ayda yalnızca miks tipte kırılma gözlenmektedir.



Şekil 4.17. SE ve MPP3+SE gruplarında kırık tiplerinin aylara göre dağılımı.



Şekil 4.18. ER ve MPP3+ER gruplarında kırık tiplerinin aylara göre dağılımı.

5. TARTIŞMA

İn vitro olarak gerçekleştirilen bu tez çalışmasında süt dişlerinde asitle aşındırılıp minerali tamamen çözünmüş dentin dokusu self etch ve etch&rinse adeziv sistem kullanımı öncesinde mineralizasyonu desteklediği bilinen bir peptit olan MPP3 muamelesi sonrası 10 dk boyunca mineralizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Dişler 0, 3 ve 6 ay boyunca 37°C'lik nemli etüvde bekletilerek MPP3'ün demineralize olmuş dentini, adeziv uygulanmasından önce remineralize edilerek dentindeki mineral kaybının olumsuz sonuçlarının azaltılmasına uzun dönem etkileri incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda istatistiksel olarak bir fark olmamasına rağmen gerek SE gerekse de ER gruplarında MPP3 eklenen gruplarda olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Günümüzde estetik kaygıların artmasıyla birlikte son zamanlarda adezyon ile diş sert dokularına bağlanabilen restorasyon materyallerinde hızlı bir ilerleme gözlemlenmektedir. İdeal restoratif materyal; estetik olmalı, mine ve dentin dokusuna adezyon ile iyi bağlanmalı düzgün bir yüzeye sahip olmalı, pulpada irritasyona sebep olmamalı, renk değişikliğine yol açmamalı, mikrosızıntı yaratmamalıdır (208). Son dönemdeki diş biyomalzemelerindeki ilerlemeler bu özellikleri mümkün kılmaktadır. Bununla birlikte materyalin başarısındaki en önemli etkenlerden biri de diş dokularıyla başarılı bir bağlanma gerçekleştirebilmeleridir. Dentine adezyon, özel bir doku mühendisliği formu olarak kabul edilir ve burada hibrit bir adeziv-dentin doku oluşturulur (118). İlk olarak Nakabayashi ve ark. (209) tarafından tanımlanan “hibrit tabaka” ile asitlenmiş dentinde açığa çıkan kolajen fibrillerin rezin infiltrasyonu ile desteklendiği gösterilmiştir. Dentine adezyon işlemi için başarısızlık sebeplerinin başında smear tabakası gelmektedir. Smear tabakasını ortadan kaldırmak için adezyon öncesinde dentin yüzeyine asit uygulaması uzun yıllardır kullanılan bir yöntemdir. Fakat asitleme sonucunda smear tabakası ile birlikte dentin dokusunun üst yüzeyi de demineralize olmaktadır. Bu da kolajenlerin çökmesi veya yıkımına sebep olarak adezyonu olumsuz yönde etkileyen bir başka sebeptir.

Bu olumsuzluklardan kolajenlerin çökmesine çözüm önerilerinden biri Kanca adlı araştırmacının bulduğu “ıslak bağlanma tekniği”dir (122). Bu teknik ile etanol veya aseton gibi organik bir çözücüde çözünmüş hidrofilik ve hidrofobik monomerler

tek şişede birleştirilmiştir. Çözücü dentin yüzeyinden ve nemli kollajen ağından su ile yer değiştirerek rezinin kolajen içine penetrasyonunu sağlamaktadır (94). Daha sonra bu teknikle ortaya çıkan bağlanma sorunlarını gidermek amacıyla “etanol wet bonding” tekniği geliştirilerek hidrofobik monomerlerin ıslak dentin yüzeyine daha iyi penetre olması ve adezivin kolajen yapıyı daha iyi sarması beklenmiştir (210). Fakat bu tekniğin de dentine bağlanmayı güçlendirdiği düşünülse de uygulama süresinin azaltılmaya çalışıldığı günümüz adeziv sistemlerinin tersine uygulama süresinin uzadığı ve klinik olarak uygun olmadığı ortaya konulmuştur (65,211). Kolajen çökmesini engellemek amacıyla kolajenleri çapraz bağlama tekniği geliştirilmiştir (126). Hibrit tabakadaki bozulmadan asitlenmiş dentindeki MMP’lerin ve katepsinlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Demineralize dentin aktif olarak MMP 2-3-8-9-20 ve katepsinler içermektedir (135,212). Çapraz bağlayıcı ajanlar ile dentin kolajeninin mekanik özellikleri arttırılmakta ve fibrillerin bozunmaya karşı daha dirençli hale gelmesi amaçlanmaktadır (213). Ancak bu yöntemin de uzun dönem etkinliği henüz gösterilmemiştir (127). Bir başka çözüm önerileri olarak da self-etch adezivler (128) ve self-adeziv simanlar (129) geliştirilmiştir. Self etch adezivler ayrıca bir asitleme-yıkama işlemine gerek duymazlar, teknik hassasiyeti total etch sistemlere göre daha azdır ve bir diğer avantaj olarak demineralizasyon derinliği ve rezin infiltrasyon derinliği arasında fark olmamasıdır (214). Fakat self etch adezivler de total etch adezivler gibi smear tabakası ile birlikte dentini de demineralize etmektedirler. Kolajen çökmesini azaltması ve hızlı bir uygulama açısından avantaj sağlasa bile demineralize dentin konusundaki sorunlar için kalıcı bir çözüm sunmamaktadır (214). Holderegger ve ark.’nın yaptıkları çalışmada bir self adeziv rezin simanın dentin dokusuna bağlanmasını konvansiyonel rezin simanlarla karşılaştırılmışlar ve sonuçlara istatistiksel olarak bakıldığında self adeziv rezin simanların bağlanma dirençleri arasında fark bulunmuşlardır. Ancak konvansiyonel rezin simanlar ile karşılaştırıldıklarında önemli derecede düşük bağlanma direnci gösterdikleri ortaya konulmuştur (215). Kolajen yıkımına çözüm önerileri olarak proteaz inhibitörü veya antimikrobiyal ajan içeren ürünler (137) ve biyoaktif partikül içeren ürünler (140) geliştirilmiştir. Fakat bu çözüm önerilerinin uzun vadeli başarılarında istenilen sonuca tam olarak ulaşamamış olmakla birlikte geliştirilmesi gerekmektedir. İlgili tez çalışmasında açığa çıkan kolajenlerin yıkılmaması amacıyla MMP3 ve kalsiyum/fosfat

konsantrasyonu kullanılarak 10 dk'lık mineralizasyon işlemi ile kolajenlerin desteklenmesine çalışılmıştır.

Gelişen teknolojiler altında remineralizasyon uygulamaları, non invaziv ve terapötik önemi kabul görmüş, yaygın kullanılan bir uygulamadır (216). Biyomimetik remineralizasyon, demineralize veya çürük dentin dokusunda inorganik mineral benzeri materyaller ile minerallerin geri kazanılması olarak tanımlanmaktadır (217). Avantajı, demineralize dentinin radikal uygulamalar olmadan kaybettiği mineral kristallerinin doğal oluşum süreci taklit edilerek dentin yapısının tekrar oluşturulmasıdır (218). Dentin remineralizasyonunda, intrafibriler hidroksiapatit kristallerinin oluşturulmasıyla kolajen matriksinin remineralize edilmesi, açık dentin tübüllerinin tıkanması ve dentin yapısının yeniden organize edilmesi beklenmektedir (219). Demineralize dentinin biyomimetik remineralizasyonu inorganik minerallerin uygun koşullarda lezyon bölgesine çökmesinden farklı olarak gerçekleşen organik matriks aracılı bir remineralizasyondur.

Biyomimetik peptitler ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan bir meta analizde farklı biyomimetik ajanların dentini remineralize etme yöntemleri incelenmiş, fosforile PAMAM dendrimerlerinin, nonkolajen proteinlerin biyomimetik analogları olarak işlev görebileceği ve demineralize olmuş dentin kolajeninin remineralizasyonunda kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (220). Zhang ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada demineralize edilmiş dentini sodyum trimetafosfat ile fosforile ederek demineralize dentinin remineralizasyonunu sağlamış ve umut verici bir sonuca ulaşmışlardır (221).

Mukherjee ve ark. yaptıkları çalışmada periferik dentindeki mineral kaybını yeniden sağlamak için P26 adlı bir peptit tasarlayıp dentin dokusuna uygulanmışlardır. Örnekleri SEM, X-ışını kırınımı (XRD) gibi analiz yöntemleri ile incelediklerinde P26'nın dentin tübülleri etrafında hidroksiapatit kristallerinin oluşumu sağlayarak tübülleri yavaşça tıkadığını, kolajen mineralizasyonunu kolaylaştırdığını ve demineralize dentin dokusunda mineral yoğunluğunda önemli bir artışa yol açtığı sonucuna varmışlardır (222). Biyomimetik bir peptit olan amelogeninin hidroksiapatit kristallerinin oluşum mekanizmalarını daha iyi anlama ve kalsiyum fosfat mineralizasyonunun belirli yönlerini kontrol etme yeteneğini göstermek için çeşitli sayıda in vitro çalışmalar yapılmıştır (223–225).

Yapılan bir çalışmada PAMAM dendrimerleri ile muamele edilen demineralize mine yapısı SEM, XRD ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile incelenmiş ve demineralize mine yüzeyinde sağlam mine kristallerinin mikro yapısı, morfolojisi ve kompozisyonu ile benzerlik gösteren kristal yapının oluştuğu gösterilmiştir (226).

Güngörmüş ve ark.'nın yaptıkları çalışmada amelogeninden türetilmiş, 22 aminoasit uzunluğundaki amelogenin türevli peptit 5'in (ADP5), demineralize edilmiş insan dişi kök dentininde sement benzeri bir hidroksiapatit mineral tabakasının hücresiz oluşumunu kolaylaştırdığı ve bunun sonucunda in vitro ortamda periodontal bağ doku hücrelerinin tutunmasını desteklediği gösterilmiştir (7). Güngörmüş ve ark.'nın 2020 yılında yaptığı çalışmada, bitişik zıt yüklü aminoasitlerin bulunduğu peptitler tasarlanmış ve daha kısa ve mineral oluşum kinetiğini ADP5'e göre daha fazla arttıran bir peptit olan MPP3 elde edilmiştir (168). Aralarında alanin kalıntıları bulunan 4 zıt yüklü aminoasit çifti içeren MPP3, 14 aminoasit uzunluğunda ve kararsız yapıda sentetik bir peptittir. Mineralizasyon hızını 13 kat arttıran peptidin içerdiği bitişik zıt yüklü aminoasitlerin elektrostatik çekimlerle kalsiyum ve fosfat iyonlarını çekerek mineral oluşumunu hızlandırdığı düşünülmektedir (168). Öztürk ve ark.'nın yaptıkları çalışmada mineral trioksit agregat (MTA) ile ilişkilendirilen bazı dezavantajları ortadan kaldırması amacıyla MTA'ya MPP3 eklenmiş, MPP3'ün MTA için olumsuz etkileri olmadığı, faydalı bir katkı maddesi olduğu kanıtlanmıştır (227). Güngörmüş ve Tulumbacı'nın yaptığı çalışmada daimi diş dentinine bağlanma öncesi remineralizasyon amacıyla mineralizasyonu destekleyen bir peptit olan MPP3 ve yüksek kalsiyum/fosfat konsantrasyonu 10 dk süreyle uygulanmış, bunun sonucunda remineralizasyonu, dentin mikrosertliğini önemli ölçüde artırdığı, dehidratasyona bağlı kollajen büzülmesini azalttığı tespit edilmiştir (5).

Son zamanlarda yapılan bu çalışmalar demineralize olmuş dentinin remineralizasyonunu sağlayarak dentindeki mineral kaybının olumsuz sonuçlarının azaltılmasını sağlamaktadır. Dentin dokusunda oluşan kısmi remineralizasyon bağlanma öncesinde kolajen çökmesini ve bağlanma sonrasında kolajen yıkımını azaltarak bağlanma özelliklerini iyileştirebilmektedir. Bu teknikle dentine bağlanma ile ilgili birçok soruna çözüm sunabilmekle birlikte yöntemsel olarak geliştirilmesi

gerekmektedir (5). Bu tez çalışmasında asitle aşındırılmış ve demineralize olmuş süt dişi dentinine etch&rinse ve self etch adeziv uygulaması öncesi MPP3 muamelesi ile dentin dokusunda kısmi mineralizasyon işlemine tabi tutularak adezyona uzun dönem etkileri incelenmiştir. Bu incelemeler FESEM analizi, raman spektroskopisi analizi, makaslama bağlama dayanımı analizi ve kırılma tiplerinin incelenmesi kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışma ile birlikte ilk kez süt dişi dentininde MPP3'ün adezyona uzun dönem etkileri incelenmektedir.

Diş hekimliğinde hem materyallerin hem de tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesi gönüllü bireyler üzerinde klinik araştırmalar ile yapılabilmektedir. Bu in vivo çalışmalar hastanın yaşı, oral hijyen motivasyonu, oklüzyonu, restorasyonun ağız sıvılarından izolasyonu, diş hekiminin manüplasyonu gibi pek çok faktöre bağlıdır. Bu faktörler de sonucu direkt olarak etkilemektedir (228). Aynı zamanda uzun zaman gerektiren, maliyeti yüksek ve standardizasyonun çok zor sağlandığı çalışmalardır (170,229). Teknolojinin sürekli ilerlemesi ile adeziv materyallerde yaşanan gelişmeler, uzun süreli klinik çalışmalara yeterli zaman ayrılamamasına neden olduğundan üreticiler piyasaya sundukları materyallerin klinik performansını göstermek için daha çok laboratuvar çalışmalarına odaklanmaktadır (230). İn vitro çalışmalarda kişiye bağlı etkenler ve ağız ortamı ortadan kalktığı için standardizasyon daha kolay sağlanabilmekte, uygulanan testler daha hızlı ve ekonomik olabilmektedir (231). Bunun yanı sıra in vitro çalışmaların ağız ortamını taklit edebilmesinde sorunlar yaşanabilmektedir. Bu nedenle yapılan in vitro çalışmaların in vivo çalışmalar ile desteklenmesine ihtiyaç vardır (232). Çeşitli yaşlandırma teknikleri ile yapılan in vitro çalışmalarda dentin-adeziv ara yüzeyindeki değişiklikler ortaya konulmuştur (233,234). Aynı zamanda in vitro çalışmalar klinik performans tahmini için kullanılabilir ve makaslama bağlanma dayanımı testleri in vitro çalışmalar arasında en çok tercih edilen parametrelerden biridir (172). Bu çalışmalardan elde edilen ve yapılan in vivo çalışmaların benzer sonuçlarından da anlaşılabileceği gibi in vitro çalışmalar adeziv sistemler ile ilgili bize bazı fikirler vermektedir (235). Tüm bu bilgiler ışığında yapılan tez çalışması in vitro olarak gerçekleştirilmiştir.

Yapılan in vitro testlerde insan veya sığır dişlerinin kullanılabildiği belirtilmektedir (236,237). Yapılan bazı çalışmalarda insan dişinin yeterli sayıda toplanmasının zor olduğu belirtilerek sığır dişinin kullanılması öne sürülmüştür

(173,238). Fakat yapılan bazı çalışmalarda sığır ve insan dişinin yüzeyel dentine bağlanma açısından anlamlı bir farklılık görülme de derin dentinde bağlanma değerlerinde azalmalar görülmektedir (239). İnsan dişinde dentin kanallarının sığır dişine göre çok daha fazla olması rezin materyalinin insan dişi dentinine daha iyi bağlanmasını sağlamaktadır (240). Yapılan bir çalışmada raman spektroskopisi yöntemi ile her iki diş tipinde inorganik ve organik dentin dokusu yapısında anlamlı düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir. Sığır dişinde oluşan hibrit tabaka ve rezin uzantılarının insan dişi dentinine göre çok daha kısa ve ince olduğu görülmüş, bunun morfolojik farklılıklardan kaynaklandığı belirtilmiştir (238). Rüttermann ve ark. 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada insan ve sığır dişlerine iki aşamalı self etch ve üç aşamalı etch&rinse adeziv sistemleri uygulamışlardır. Bu dişler üzerinde kısa ve uzun dönem makaslama bağlanma dayanımı değerlerine bakıldığında insan dişi dentininden elde edilen değerlerin sığır dişi dentinine göre çok daha yüksek bulunduğu tespit edilmiştir (241). Yapılan çalışmaların bulgularından ve belirtilen yapısal farklılıklardan dolayı bu tez çalışmasında insan dişi kullanılmıştır.

Yapılan iki ayrı çalışmada kullanılacak dişlerin bekletilme sürelerinin deney sonuçlarına etkisi incelenmiş ve dişlerin çekiminden itibaren 30 dk, 1 hafta, 1 ay, 1 yıl, 2 yıl bekletilerek bağlanma dayanımlarına bakılmıştır. Kullanılan dişlerde bağlanma dayanımı değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (242,243). Ancak 2010 yılında yapılan bir çalışmada bekleme süresinin artmasıyla birlikte dişlerde yapısal değişiklikler meydana geldiği ve dentin proteinlerindeki dejeneratif yıkım sebebiyle bağlanma dayanımı değerlerinin olumsuz etkilendiği ortaya konulmuştur. Bu çalışmaya göre dişlerin çekiminden sonra en fazla 6 ay bekletilmesi önerilmiştir (244). Bu nedenle bu tez çalışmasında dişlerin çekiminden sonra en fazla 6 ay beklemiş dişler kullanılmıştır.

İn vitro yapılan çalışmalarda dişlerin çalışma zamanına kadar saklanacağı ortam çeşitlilik göstermektedir. Çekilen dişler kan yoluyla bulaşan patojenler için bir kaynak olduğu için öncelikle dekontamine edilmelidir. Dezenfeksiyon amacıyla timol, formalin, glutraldehit, sodyum hipoklorit veya otoklav kullanılabilir (245,246). Aynı zamanda dişlerin dehidrate olmaması amacıyla distile su, musluk suyu, timol, etanol, kloramin, formalin ve serum fizyolojik gibi uygun bir saklama solüsyonunda bekletilmesi gerekmektedir (247). Dişlerin saklandığı ortam ve

dezenfeksiyon işlemleri yalnızca dişleri dezenfekte etmekle kalmayıp diş yapılarında da değişikliklere sebep olmamalıdır (248). Yapılan bir çalışmada farklı bekletme solüsyonlarının bağlanma dayanımı üzerine etkileri araştırıldığında distile suda beklemiş dişlerin bağlanma dayanımlı değerleri daha yüksek bulunmuştur (247). Yaptığımız tez çalışmasında dişler dezenfekte edildikten sonra çalışma zamanına kadar distile su içerisinde bekletilmiştir ve bu distile su haftada bir zaman aralıklarıyla yenilenmiştir.

Adeziv sistemlerin diş sert dokularına bağlanma dayanımlarının uzun dönem etkilerini incelemek amacıyla çeşitli yaşlandırma tekniklerinden faydalanılmaktadır. Bu yöntemler; suda bekletme, termal siklus uygulaması, NaOCl solüsyonunda bekletme, mekanik yükleme ve pH siklusunda bekletme olarak belirtilmektedir (172). Dentin- adeziv ara yüzeyindeki bağlanma dayanımlarını incelemek amacıyla yapılan in vitro çalışmalarda genellikle suda bekleterek yaşlandırma yöntemi kullanılmaktadır (179). Bu yöntemde örnekler belirli bir zaman diliminde 37°C’de ve genellikle de saklama solüsyonu olarak suyun tercih edildiği bir sıvıda bekletilir. Suda bekletme ve ısıl değişim işlemi, rezin esaslı materyallerde, hidrolitik bozunmayı taklit etmeyi amaçlamaktadır (249). Zaman içerisinde polimer matriks yapının içine giren suyun polimer bağları arasındaki kuvveti azaltarak yapının mekanik olarak zayıflamasına neden olduğu gösterilmiştir (250). Eğer dentin yüzeyindeki su yeteri kadar uzaklaştırılmazsa hibrit tabakanın polimerizasyon derecesi olumsuz yönde etkilenir ve var olan su reaksiyona girmemiş monomerler ile temasa geçerek plastikleşme sürecini artırır. Bunun sonucunda bağlanma dayanımı değerlerinde düşme görülür (81). İn vitro çalışmalarda kullanılan suda bekletme yöntemi, in vivo koşullardaki çalışmalara benzer bulgular ortaya koyması sebebiyle sıklıkla tercih edilmektedir (251). Bu tez çalışmasında uzun dönem bağlanma dayanımı değerlerinin tespit edilmesi amacıyla örnekler sırasıyla 0, 3 ve 6 ay süresince 37°C’de suda bekletilerek yaşlandırma gerçekleştirilmiştir.

Son yıllarda rezin-dentin ara yüzeyinde ve hibrit tabakada bağlanma dayanımını etkileyen faktörlerin incelendiği çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bu faktörlerden en önemlisi dentinin karmaşık histolojik yapısı ve farklı kimyasal içeriğidir. Yüzeyel dentinden derin dentine doğru gittikçe dentinin kimyasal içeriğinin değişmesi, kolajen içeriğin azalması, tübül sayısı ve çapının artması, dentin

nemliliğinin artması ve dentinal geçirgenliğin değişmesi rezin restorasyonların bağlanma dayanımlarında farklılıklara neden olmaktadır (252–254). Şengün ve ark. yaptıkları bir çalışmada dokuz farklı adeziv sistemin dentine bağlanma dayanımlarını incelemişler ve sonucunda merkezi ve perifer dentin bölgeleri arasında bağlanma dayanımları açısından belirgin bir fark görülmediğini bildirmişlerdir (255). Buna karşın yapılan bir başka çalışmada bazı adeziv sistemlerinin dentin derinliğine karşı hassasiyetinin fazla olabileceği ve derin dentindeki bağlanma dayanımının yüzeyel dentine göre daha düşük olabileceği belirtilmiştir (256). Yapılan bu tez çalışmasında süt dişi dentininin merkezi bölgesi esas alınmış ve böylelikle dentinin bölgesel farklılığı ve dentin tübüllerinin bağlanma dayanımına etkisi en aza indirilmiştir.

Rutin klinik uygulamalarda üç aşamalı ER adeziv sistemler “altın standart” olarak kabul edilmektedir (91,257). SE adezivler, asitleme ve yıkama aşamaları olmadığı için uygulama süresinin kısa ve teknik hassasiyetin az olması nedeniyle günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır (77). Yapılan bir çalışmada sınıf 5 restorasyonlara farklı adeziv sistemler ile uygulanan kompozit dolguların retansiyonu incelenmiş ve üç aşamalı ER adeziv sistemler ile iki aşamalı SE adeziv sistemler klinik olarak güvenilir ve öngörülebilir iyi sonuçlar vermişlerdir (257). Eren ve ark.’nın yaptıkları bir çalışmada iki adet SE adeziv Clearfil SE Bond (Kuraray Medical Inc, Kurashiki, Japonya) ve G Bond (GC Corp., Tokyo, Japonya), bir adet ER adeziv Prime&Bond NT (Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya) ile mikro-çekme, mikro-kesme ve bağlanma dayanımı analizleri yapılmıştır. Mikro-çekme testinde Clearfil SE Bond ve Prime&Bond NT, G Bond’a göre önemli ölçüde daha yüksek değerler vermişlerdir. Mikro-kesme bağlanma testinde adezivler arasında anlamlı bir fark bulunamazken, Clearfil SE Bond’un, Prime&Bond NT ve G Bond’a göre anlamlı derecede yüksek bağlanma dayanımına sahip olduğu tespit edilmiştir (258). Yapılan bir başka çalışmada 3 adet tek aşamalı SE adeziv (G-Bond, GC Corp., Tokyo, Japonya; iBond, Heraeus Kulzer, Hanau, Almanya ve Clearfil S(3), Kuraray Medical Inc, Kurashiki, Japonya), 2 adet iki aşamalı SE adeziv (Clearfil SE, Kuraray Medical Inc, Kurashiki, Japonya ve Optibond Solo Plus Self-Etch) ve 1 adet ER (Prime & Bond NT) adeziv kullanılarak mikro-çekme bağlanma dayanımları değerlendirilmiştir. ER adezivin iki aşamalı SE adezivlere göre daha yüksek mikro-çekme bağlanma dayanımı değerleri gösterdiği tespit edilirken, iki aşamalı ve tek aşamalı SE adezivler arasında

anlamlı bir fark bulunamamıştır (259).

Marchesi ve ark. yaptıkları çalışmada dentine uygulanan tek aşamalı ve iki aşamalı SE adezivlerin yaşlandırma sonrası mikro-çekme bağlanma gücü değerlendirilmiş olup çalışmada İki aşamalı SE adeziv olarak Optibond XTR (Kerr, Bolzano, İtalya), Clearfil SE Bond (Kuraray Medical Inc, Kurashiki, Japonya), tek aşamalı SE adeziv olarak Adper Easy Bond (3M ESPE, St. Paul, Amerika) ve Bond Force (Tokuyama, Vicenza, İtalya) kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre Optibond, Clearfil SE Bond ve Adper Easy Bond, Bond Force'a göre daha yüksek mikro-çekme bağlanma değerleri göstermiştir (260). Martos ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada 10-MDP içeren adezivlerin bulk fill kompozitlere bağlanma dayanımı değerlendirilmiş ve 10 MDP içeren adezivlerin (Bond Force II (Tokuyama, Vicenza, İtalya) Scotchbond Universal, 3M ESPE, ST Paul, Amerika; Clearfil Universal Bond Quick, Kuraray Medical Inc, Kurashiki, Japonya ve G-Premio Bond, GC Corp., Tokyo, Japonya), 10-MDP içermeyen adezivlere (Heliobond, Ivoclar Vivadent, Schaan, Lihtenştayn) göre uzun dönemde daha yüksek bağlanma dayanımı değerleri gösterdiği ortaya konulmuştur. Ayrıca 10-MDP içeren adezivlerin kendi içlerinde bağlanma dayanımı değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (261). Sanon ve ark. smear tabakası hipoklorik asit (HOCl) ile deproteinize edilmiş dentin yüzeyine tek aşamalı SE adeziv (Bond Force II, Tokuyama, Vicenza, İtalya; Clearfil Universal Bond Quick, Kuraray Medical Inc, Kurashiki, Japonya) uygulamadan önce bir sülfonat ajanı (Scotchbond Universal Dual Cure Activator, 3M ESPE, ST Paul, Amerika) uygulayıp, dentine bağlanma dayanımını değerlendirmişlerdir. Buna göre sülfonat ajanının HOCl ile deproteinize edilmiş dentin yüzeyine uygulanan tek aşamalı SE adezivlerin bağlanma dayanımını önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir (262).

Beloica ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada çekilmiş azı dişi mine yüzeylerinde ER adeziv olarak Prime&Bond NT (Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya) adeziv, SE adeziv olarak Bond Force (Tokuyama, Vicenza, İtalya), AdheSE One (Ivoclar Vivadent, Schaan, Lihtenştayn) adezivleri kullanılmıştır ve mikro-çekme ve mikro-makaslama bağlanma dayanımları incelenmiştir. Her iki analiz sonucunda da ER sistemi güçlü bağlanma kuvvetine ulaşırken, tüm adeziv sistemler için mikro-kesme bağlanma dayanımı sonuçlarında anlamlı derecede yüksek sonuçlara ulaşılmıştır (263). Yapılan bu tez çalışmasında klinikte rutin olarak kullanılan ER adeziv olarak

Prime&Bond NT (Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya), SE adeziv olarak Bond Force II (Tokuyama, Vicenza, İtalya) kullanılmıştır.

Adezivlerin dentine olan bağlanma dayanımlarının değerlendirilmesi sırasında kompozitlerin farklı yapılarından kaynaklanan etkileri en az indirmek amacıyla tek tip kompozit kullanılması önerilmektedir (264). 2010 yılında yapılan bir çalışmada 6 farklı kompozit rezin materyalinin mikrosertlik ve kürlenme derinliği karşılaştırılmış ve Clearfil Majesty Posterior (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya) ve Estelite 0 (Tokuyama, Vicenza, İtalya) kompozit rezinlerinin toplu veya büyük yüklemeler ile etkili bir şekilde kürlenebileceği tespit edilmiştir. Clearfil Majesty Posterior'un mikrosertlik ve kür derinliği açısından en yüksek değerlere sahip olduğu ortaya konulmuştur (265). Yaptığımız tez çalışmasında standardizasyonu sağlamak amacıyla Clearfil Majesty Posterior A2 kompozit (Kuraray Medical Inc, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır.

Rezin restorasyonlarda dentin-kompozit ara yüzünün ve hibrit tabakanın incelenmesinde alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FESEM) kullanılmaktadır (266). Yaptığımız tez çalışmamızda da SE ve ER adeziv sistemleriyle birlikte mineralizasyonu destekleyen peptit olan MPP3 kullanılmıştır ve x25000 büyütmede FESEM ve EDS analizi ile hibrit tabakanın mineralizasyonu incelenmiştir. Elde edilen FESEM görüntülerinde tüm sonuçlarda hibrit tabakanın bütünlüğünün korunduğu görülmektedir. EDS analizinden elde edilen Ca grafikleri incelendiğinde 0, 3, 6. aylarda Ca elementi miktarının azalma grafiğinin MPP3+SE grubunda, yalnızca SE grubuna göre daha yavaş azalma gösterdiği ve Ca geçişinin daha yumuşak olduğu, MPP3+ER ve ER grupları arasında belirgin bir fark görülmediği ve Ca elementi düşüşünün daha keskin olduğu tespit edilmiştir. Böylelikle FESEM ve EDS analizi sonuçlarının birbiri ile paralellik gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Güngörmüş ve Tulumbacı'nın yapmış olduğu çalışmada bağlanma öncesi MPP3 uygulamasının kısa dönem etkileri incelenmiştir. MPP3 ve yüksek kalsiyum/fosfat daimi diş dentinine 10 dk, 30 dk ve 60 dk muamele edilmiş ve 24 saat 37°C'de bekletildikten sonra 5 - 55 °C'de 5000 döngülük termal siklusa tabi tutulmuştur. Sonrasında FESEM ve EDS analizi ile sonuçlar değerlendirilmiştir. FESEM görüntülerinde MPP3 uygulanan grupta, uygulanmayan gruba kıyasla 10.

dk'dan itibaren dentin tübüllerini tıkayan mineral tabakanın belirgin şekilde oluştuğu gözlemlenmiştir. 30 ve 60. dk'da benzer mineralizasyon oluşumu gözlenmektedir. EDS analizinde de FESEM analizi ile paralellik göstererek spektrumlarda MPP3 uygulanan gruplarda kalsiyum/fosfat piklerinin 10. dk'da belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir (5). 30 ve 60 dk'lık sürelerin klinik uygulama süresi olarak mümkün olmadığı değerlendirilmiş ve bu tez çalışmasında da 10 dk mineralizasyon ve yoğun kalsiyum/fosfat muamelesi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde her iki çalışmanın sonuçları paralellik göstermektedir. Güngörmüş ve Tulumbacı'nın çalışmasında termal siklus yöntemi ile yaşlandırma yapılmıştır fakat en sık kullanılan yaşlandırma yönteminin 37°C'lik suda bekleterek doğal yaşlandırma yöntemi olması ve bu yöntemin zaman içinde polimer matriks yapı içerisine giren suyun polimer bağları arasındaki kuvveti azaltarak yapının mekanik özelliklerinin zayıflamasına neden olduğunun bildirilmesi nedeniyle (250) çalışmamızda suda bekleterek doğal yaşlandırma yöntemi tercih edilmiştir. Yaptığımız tez çalışmasına benzer dentine bağlanma öncesi MPP3 uygulamasının kısa dönem etkilerinin incelendiği tek bir çalışma bulunması (5) ve uzun dönem etkilerinin incelendiği çalışma bulunmaması nedeniyle birebir karşılaştırma yapma olanağı bulunamamıştır.

Biyomimetikler ile mineralizasyona ait diğer çalışmalara bakıldığında; Abuna ve ark.'nın yaptıkları çalışmada kalsiyum/fosfat (Ca/P) mikro doldurucular ve fosfoprotein biyomimetik analoglar (poliakrilik asit, PAA ve/veya sodyum trimetafosfat, TMP) içeren SE primerin dentine bağlanma performansı ve dentinin remineralizasyonu incelenmiştir. Dişler 24 saat ve 6 aylık yaşlandırma yapılarak incelendiğinde Ca/P içeren adeziv ile PAA ve TMP içeren primerin birlikte kullanılması sonucu uzun dönemde istikrarlı bir mikro-çekme kuvveti sağlandığı, rezin-dentin ara yüzeyinde nanosızıntının azaldığı, yapılan SEM incelemelerinde intrafibriler düzeyde iğ şeklinde kristalitlerin birikiminin gözlemlendiği tespit edilmiştir (267).

Bir başka peptit olarak son zamanlarda, hidroksiapatit çekirdeklenmesini indükleyen şablon olarak görev yapmak üzere novo sentetik kalsiyuma yanıt veren kendiliğinden oluşan β tabaka peptit ID8 (Ile-Asp-Ile-Asp-Ile-Asp-Ile-Asp) geliştirilmiştir. Li ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ID8'in kendiliğinden oluşma

yeteneği kullanılarak kolajenin intrafibriler mineralizasyonu değerlendirilmiştir (268). Önceden demineralize edilmiş daimi diş dentin dokuları deiyonize su ve kendiliğinden oluşma yeteneğine sahip ID8 olmak üzere farklı ön işlemlere tabi tutulmuştur. SEM, EDS ve FTIR analizleri sonucunda ID8'in intrafibriler mineralizasyonu önemli ölçüde teşvik ettiği, hem moleküller arası hidrojen bağlanmasını arttırdığı hem de kolajen içinde kalsiyum retansiyonuna katkıda bulunduğu ve kolajenin hidrofiliğini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. EDS analizinde deiyonize su ile ön işlem gören dentin dokularında daha zayıf bir kalsiyum piki görölürken, ID8 ile ön işlem gören dentin dokusunda daha belirgin kalsiyum piki görölümektedir (268).

Biyomimetikler ile mineralizasyon üzerine yapılmış farklı bir çalışmada da, sADP5 olarak adlandırılan biyomimetik bir peptidin dentin üzerindeki kalsiyum-fosfat mineralizasyonu SEM ve EDS analizi ile incelenmiştir. sADP5, 25 aminoasit uzunluğundaki ADP5'in amino ve karboksil uçlarından hidrofobik bölgelerinin çeşitli mutasyonlar ile çıkarılıp, 15 aminoasit uzunluğundaki formudur. Yapılan analiz sonuçlarına göre peptit muamelesinden sonra dentin dokusunda oluşan mineral tabakasının dentin tübüllerine penetrasyonu ile orijinal tüböl çapının yaklaşık üçte birine indirgendiği tespit edilmiştir. EDS analizi sonucu yeni oluşan mineral tabakanın doğal hidroksiapatit ile benzer kalsiyum-fosfat oranına sahip olduğu bulunmuştur. Tüm bu sonuçlar oluşan yeni mineral tabakanın doğal dentin ile fiziksel ve kimyasal olarak uyumlu olduğunu göstermektedir (269). Bu tez çalışmasında da biyoyumluluğu ve sitotoksitesisi bağımsız akreditasyon laboratuvarları tarafından onaylanmış MPP3 isimli sentetik peptit, adezyonu arttırıcı etkisi açısından değerlendirilmiştir.

Raman spektroskopisi işın saçılımına dayalı olması sebebiyle mineralize diş dokularının moleküler yapıları hakkında kapsamlı bilgiler veren bir analiz yöntemidir (199). Yaptığımız tez çalışmasında SE, MPP3+SE, ER ve MPP3+ER gruplarında 0, 3 ve 6. aylarda dentin-adeziv ara yüzeyinden elde edilen raman spektrumlarında 960 cm^{-1} piki üzerinden fosfat mineralinin yoğunluğu hakkında bilgi edinilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda tüm gruplarda her üç zaman diliminde de dentinden adezive doğru ilerledikçe fosfat mineral yoğunluğu azalma görölümektedir. MPP3 eklenmemiş SE ve ER gruplarında fosfat mineral yoğunluğu her üç zaman diliminde de dentin-adeziv ara yüzeyine gelene kadar neredeyse tükenmektedir ve hibrit

tabakada mineral varlığına rastlanamamaktadır. Fakat MPP3+SE ve MPP3+ER gruplarındaki fosfat mineral yoğunluğu azalarak da olsa adeziv-dentin ara yüzeyine kadar varlığını sürdürmektedir ve hibrit tabakada mineral varlığının devam ettiği görülmektedir. Böylelikle MPP3 uygulanan gruplarda kısmi remineralizasyonunhibrit tabakada korunduğu sonucuna varılmaktadır. Bu sonuçlar FESEM ve EDS analiz sonuçları ile paralellik göstermektedir. Yaptığımız tez çalışmasına benzer dentine bağlanma öncesi MPP3 uygulamasının uzun dönem etkilerinin incelendiği başka bir çalışma bulunmaması nedeniyle birebir karşılaştırma yapma olanağı bulunamamıştır.

Wang ve ark.'nın yaptıkları bir in vitro çalışmada dişlerin koronal dentini single bond (SB) adeziv ile tedavi edilmiş ve 24 saat, 25°C'de bekletildikten sonra dentin-adeziv arayüzeylerinin intertübüler bölgesindeki monomer/mineral dağılımı Mikro-Raman spektroskopisi ile incelenmiştir. Elde edilen Mikro-Raman görüntülere göre adeziv monomerlerinin dentin-adeziv arayüzeyine kolaylıkla difüzyonu ve doğrudan dağılımı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte dentinin intertübüler bölgelerine yakın bölgeler ile tübüllere uzak bölgeler arasında adeziv monomerlerinin penetrasyonu arasında belirgin bir fark olduğu tespit edilmiştir (197). Wang ve Spencer'ın yaptıkları bir diğer çalışmada dentin-adeziv arayüzeyinin kimyasal bileşimini ve adezyonun penetrasyonunu nicel olarak ölçmek için total-etch ve wet bonding tekniğine dayanan üç ticari dentin adeziv sistemi (Scotchbond Multipurpose Plus, 3M ESPE, ST Paul, Amerika, (SMMP+); Single Bond, 3M ESPE, ST Paul, Amerika, (SB); Prime&Bond NT, Dentsply Sirona, Konstanz, Almanya, (PBNT)) kullanarak raman spektroskopisi ile incelemişlerdir. Sonuçlar, üç adeziv sistemi için adezyonda kademeli olarak bir azalma olduğunu ve aynı zamanda adeziv konsantrasyon gradyanının SMBP+, SB, PBNT sıralaması ile azaldığını göstermektedir. Ayrıca sonuçlar, raman spektroskopisinin dentin ara yüzeylerinde adezyon penetrasyonunun basit ve hızlı bir şekilde nicel olarak belirlenebilmesi açısından güvenilir bir in situ analitik teknik olduğunu göstermektedir (270). Doku ve biyomalzemelerin biyolojik arayüzeylerindeki etkileşim oldukça önemlidir. Bu teknik ile bu tür kimyasal/fiziksel reaksiyonların kapsamlı karakterizasyonu yapılabilmektedir. Yapılan bir başka çalışmada dekalsifiye olmuş mine ve dentin dokusunun florür içermeyen biyomimetik sistemlerle remineralizasyonu hedeflenmiştir. Bu amaçla yapay olarak demineralize edilmiş mine ve dentine çinko-

karbonat-hidroksiapatit nanopartikül içeren bir diş macunu olan “biorepair”, günde 3 kez 3 dk olacak şekilde uygulanmış ve yapay tükürük içerisinde bekletilmiştir. 15 günlük uygulama sonucunda yapılan Raman spektroskopisi sonuçlarına göre biorepair uygulanan grupta, uygulanmayan kontrol grubuna göre belirgin bir değişiklik görülmemiştir. EDS analizi sonucunda biorepair uygulanan grupta dentin yüzeylerinde kalsiyum/fosfat çökelmeleri görülmüş ve dentin yüzeyindeki demineralizasyonun anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir. Ancak biorepair’ın diş minesine etki etmediği sonucuna varılmıştır. Yaptığımız çalışmada da biyomimetik peptit olan MPP3’ün dentinde 0. ayda bile hibrit tabakada kısmi mineralizasyonu desteklediği sonucunu göz önüne aldığımızda sonuçların birbirini desteklediği söylenebilmektedir (271).

Yapılan bir diğer çalışmada, fitosfingozin (PHS) ile birleştirilen yumurta kabuğu kökenli nanohidroksiapatit (CEnHAp) kullanılarak dentin remineralizasyonuna etkisi Mikro-raman spektroskopisi altında incelenmiştir. Öncesinde demineralize edilmiş koronal dentin örnekleri rastgele olarak yapay tükürük, kazein-fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP), CEnHAp, PHS ve CEnHAp-PHS çözeltilerinde 7, 14, 28 gün boyunca pH döngüsü altında tedavi edilmiştir. Dentin yüzeylerindeki mineral değişimleri EDS ile incelendiğinde Ca, P,

Mg ve Na iyonlarının varlığı tespit edilmiştir. CEnHAp ile tedavi edilen örnekler, CPP-ACP ve ardından PHS ve yapay tükürük ile tedavi edilenlere kıyasla yüksek remineralizasyon değerleri göstermektedir. EDS ve Mikro-raman spektrumlarında da gözlemlendiği gibi mineral zirve yoğunlukları bu sonuçları doğrulamaktadır. CEnHAp-PHS ile tedavi edilen dentinin gelişmiş bir kolajen yapısı ve stabilitesinin olduğu ve bunun yanı sıra en yüksek mineralizasyona sahip olduğu ortaya konulmuştur (272). Chen ve ark. yaptıkları bir çalışmada biyomimetik bir remineralizasyon süreci indüklemek ve demineralize kolajenin mekanik özelliklerini ve biyostabilitesini yeniden yapılandırmak için gluteraldehit (GA) kullanmışlardır. Demineralize edilmiş dentin disklerini 3 dk boyunca %5’lik GA çözeltisi içinde bekletmişler ve sonrasında kalsiyum fosfat remineralizasyon çözeltisine yerleştirmişlerdir. Raman spektroskopisi ve SEM analizi sonucunda GA’nın, dentin kolajenine özel bir bağlanma gösterdiği vereminerlizasyon sürecini 7 günden 2 güne kadar önemli ölçüde kısalttığı tespit edilmiştir. Dentin kolajeninin gelişmiş mekanik

özellikler ve biyostabilite sağlayabileceği ortaya konulmuştur (273). Tüm bu gelişmelerin sonuçları çalışmamız ile paralellik göstererek dentin remineralizasyonu için umut verici doku mühendislik teknolojileri sunmaktadır.

Bağlanma dayanımı testleri, materyal ve diş sert dokuları arasındaki bağlanma dayanımının gücünün, materyalin polimerizasyonu sırasında oluşan kuvvetlere ve ağız içindeki kuvvetlere karşı dayanıklılığının ne seviyede olduğunu ölçme prensibine dayanmaktadır (205). Veriler birçok değişkenden etkilenmekte ve farklı sonuçlar elde edilebilmektedir fakat bağlanma dayanımı testlerinde gerçekleştirilen yapay yaşlandırma yöntemleriyle ağız ortamındaki koşulları laboratuvar ortamına yansıtılarak daha güvenilir sonuçlar sağlanabilmektedir (182). Bağlanma dayanımı testleri için makaslama, gerilme, mikro-çekme testleri sıklıkla kullanılmasına rağmen en fazla kullanılan ve daha tahmin edilebilir sonuçlar veren yöntemin makaslama bağlanma dayanımı testleri olduğu ortaya konulmuştur (274). Makaslama bağlanma dayanımı (SBS) testi oral çevreyi daha iyi yansıtarak bağlanma başarısızlıkları hakkında klinik olarak daha güvenilir sonuçlar vermektedir (274,275). Yapılan bu tez çalışmasında bahsedilen nedenlerden dolayı makaslama bağlanma dayanımı testi tercih edilmiştir. SBS testinde 0.5-5 mm/dk aralığında değişen kuvvetler uygulanırken yaptığımız tez çalışmasında birçok çalışmada olduğu gibi 1 mm/dk 'lık kuvvet uygulanarak örneklerin bağlanma dayanımı değerleri ölçülmüştür (276–279). Sonuçlar yorumlanırken megapaskal (MPa) cinsinden ifade edilmiştir (280). Yaptığımız tez çalışmasında SE, MPP3+SE, ER, MPP3+ER gruplarında 0, 3 ve 6. aylarda bağlanma dayanımının değerlendirilmesi için SBS analizi yapılmıştır. Elde ettiğimiz verilere göre 0. ayda SE ve MPP3+SE grupları arasında yaptığımız karşılaştırma sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0,05$). 3. ve 6. Aylarda SE ve MPP3+SE grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). ER ve MPP3+ER grupları arasında kıyaslama yapıldığında 0, 3 ve 6. aylarda yapılan analiz sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda aralarında istatistiksel olarak bir fark görülmemektedir ($p > 0,05$). Elde edilen veriler tek tek incelendiği zaman MPP3 eklenen gruplar eklenmeyen gruplara kıyasla yüksek sonuçlar vermiştir. MPP3+SE 0. ay grubunda en yüksek değer elde edilirken sonrasında en yüksek değer MPP3+ER 0. ay grubu olarak tespit edilmiş ve sonuçlar birbirine yakın bulunmuştur. MPP3 eklenen gruplar kendi içlerinde

karşılaştırıldığında her üç zaman diliminde de MPP3+SE grubu MPP3+ER grubuna kıyasla daha yüksek değerler göstermektedir. Fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Yalnızca ER grubu 0. ve 3. Ayda yalnızca SE grubuna göre daha yüksek makaslama bağlanma değerleri gösterirken 6. ayda yalnızca SE grubu, yalnızca ER grubuna göre daha yüksek değer göstermektedir. Bu veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Klinik uygulamada, ER adezivler asitleme ve durulama işlemlerinden sonra kullanılırken, SE adezivler asitleme işlemi yapılmadan uygulanmaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında standart yüzey elde edilebilmesi amacıyla hem SE hem de ER gruplarında dentin yüzeyleri asitleme işlemine tabi tutulmuştur. İki farklı adeziv sistemin bağlanma öncesi oluşturulan kısmi minerale etkisini gözlemlemek için standart yüzeyler elde edilebilmiştir. Bu iki adeziv grubun SBS verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamasının her iki grupta da asitleme yapılmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Güngörmüş ve Tulumbacı yaptıkları çalışmada bağlanma öncesi remineralizasyon için MPP3 kullanarak iki farklı adeziv sisteminin 10 dk, 30 dk ve 60 dk'lık dentine bağlanma öncesi mineralizasyon uygulaması sonrası SBS değerlerini incelemişlerdir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi bu çalışmada da hem ER hem de SE adeziv uygulaması öncesi dentin fosforik asit ile demineralize edilmiştir. Elde edilen SBS değerlerinde MPP3 uygulanan gruplar MPP3 uygulanmayan gruplara göre üç zaman diliminde de daha yüksek sonuçlar vermiştir. ER adeziv sistemindeki en yüksek değer MPP3+ER 10 dk grubuna aitken, SE adeziv sistemindeki en yüksek değer MPP3+SE 60 dk grubu olarak bulunmuştur. Bu çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Ayrıca MPP3+SE 60 dk grubunun, SBS değerleri arasındaki en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiş olmasına rağmen 60 dk'lık süre klinik olarak uygulanabilir bulunmamıştır. Genel olarak baktığımızda bağlanma öncesi mineralizasyon işlemine tabi tutulmuş ER adeziv grubundaki kadar yüksek olmasa da bağlanma öncesi mineralizasyon işlemine tabi tutulmuş SE grubu da SBS değerlerinde önemli bir iyileştirmeye yol açmıştır. Yapılan çalışma sonucunda hem SBS'yi arttırmak hem de işlem için gereken süreyi azaltmak için 10 dk'lık MPP3 ile bağlanma öncesi

remineralizasyonun uygulanabilir olduğu sonucuna varılmaktadır (5). Elde edilen sonuçlar, bizim çalışmamıza ait sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda süt dişi dentinine uyguladığımız 10 dk'lık mineralizasyon ve kalsiyum/fosfatın kısmi remineralizasyon için etkili olduğu sonucuna varılmaktadır. Yaptığımız tez çalışmasına benzer dentine bağlanma öncesi MPP3 uygulamasının kısa dönem etkilerinin incelendiği tek bir çalışma bulunması (5) ve uzun dönem etkilerinin incelendiği çalışma bulunmaması nedeniyle birebir karşılaştırma yapma olanağı bulunamamıştır.

Yamauchi ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada, universal adezivlerin hem ER hem de SE yöntemleri ile bağlanma dayanımını incelemişlerdir. Dentin dokusuna dört adet universal adeziv (Adhese Universal, Ivoclar Vivadent, Schaan, Lihtenştayn; All-Bond Universal, (Bisco, Schaumburg, Amerika); G-Premio Band, GC Corp., Tokyo, Japonya ve Scotchbond Universal, 3M ESPE, ST Paul, Amerika) uygulanmış ve rezin kompozit ile restorasyon yapılmıştır. Universal adezivlerin bağlanma dayanımları ER adeziv yöntemiyle uygulandıklarında, SE adeziv yöntemiyle uygulanmalarına kıyasla anlamlı bir fark göstermemiştir. Dentinin asitlenmesi bağlanma dayanımı üzerine güçlü bir etkiye sahip olmamakla birlikte, asitleme ve universal adezivlerin uygulanması dentinin yüzey serbest enerjisini ve parametrelerini anlamlı bir şekilde azaltmıştır. SE adezivlerinin hem asitlenmiş hem de asit uygulanmamış dentinde SBS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu bulgular ışığında yaptığımız tez çalışmasında asit uygulanmış SE adezivinin asitlenmemiş dentine kıyasla herhangi bir sorun teşkil etmediği düşünülmektedir. Asitleme işleminin dahil olduğu koşullarda bu çalışmadan farklı olarak yaptığımız tez çalışmasında MPP3 uygulanan grubun daha yüksek SBS değerleri ile sonuçlandığı görülmektedir (128). İlgili farklılık muhtemelen smear tabakasında uygulanan peptit tarafından oluşturulan mineral arasındaki değişkenliklerden kaynaklanmaktadır. Liang ve ark.'nın yaptıkları bir başka çalışmada da fosforik asit ile demineralize edilmiş dentin lezyonlarını remineralize etmek için poli amido amin (PAMAM) dendrimerleri ile amorf kalsiyum fosfat nanopartikülleri (NACP) içeren bir bonding ajanın döngüsel yapay tükürük/laktik asit ortamında etkileri 0, 5, 10, 15 ve 20. günlerde incelenmiştir. Sonuçlar SEM, EDS ve kesme bağlanma dayanımı analizleri ile ele edilmiştir ve NACP bonding ajanının farklı adezivler ile (Prime&Bond NT, Dentsply Sirona,

Konstanz, Almanya; Scotchbond Multi-purpose, 3M, ESPE, ST Paul, Amerika) dentinde benzer SBS değerleri verdiği tespit edilmiştir ($p>0,1$). Bonding ajandaki NACP yüzdesini %0'den %40'a çıkarmak bağlanma dayanımını etkilememiştir. PAMAM veya NACP bonding ajanı tek başına hafif bir remineralizasyon sağlarken 20 gün sonra PAMAM+NACP grubu demineralize dentini sağlıklı dentin sertliğine ulaştırmış ve en büyük remineralizasyonu sağlamıştır. Bu çalışma PAMAM+NACP bonding ajanının demineralize dentinde üstün remineralizasyon yeteneğine sahip olduğunu gösteren ilk çalışmadır (281). Bu yöntem de bizim çalışmamızda olduğu gibi rezin-dentin bağlantısının ömrünü uzatmak, çürümeyi engellemek ve dişleri korumak adına umut vaat etmektedir. Biyomimetikler ile remineralizasyonun araştırıldığı bir başka çalışmada Portland simanı/fosfat içeren bir sıvı (PCF) sistemi, düşük moleküler ağırlıklı bir poliakrilik asit, polivinilfosfonik asit (PVPA) varlığında sırasıyla kalsiyum ve kolajen bağlayıcı matriks protein analogu kullanılarak, demineralize edilmiş dentinin intrafibriler ve interfibriler remineralizasyonu gösterilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre karboksilik asit ve PVPA içeren elektrolitlerin dahil edilmesiyle birlikte, 5 μ m kalınlığında demineralize edilmiş dentinin intrafibriler ve interfibriler remineralizasyonu çalışılmıştır. Remineralizasyon Portland simanından kalsiyum iyonlarının yavaş salınımı ve bu iyonların PCF ile etkileşimi yoluyla sağlanmaktadır. Ayrıca remineralize kolajen matriksindeki yeni apatit kristallerinin boyutları ve düzeni sağlıklı dentinekinden oldukça yakın bulunmuştur (282).

Biyomineralizasyon, kolajen fibrillerin intrafibriler bölmelerinden suyun aşamalı olarak apatitler ile değiştirildiği bir dehidrasyon sürecidir. Su, rezin-dentin bağlanmasının dayanıklılığını azaltan önemli bir etken olduğundan Kim ve ark. yaşlandırma sonrası rezin-dentin ara yüzeyinin bütünlüğünü koruma ve bağlanma dayanımını sürdürme için ilerleyici dehidrasyon mekanizması olarak biyomimetik bir remineralizasyon ajanının kullanımını incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada ER adeziv olarak aseton bazlı bir adeziv olan One-Step (Bisco Inc., Schamburg, Amerika) ve etanol bazlı bir adeziv olan Single Bond (3M ESPE, St. Paul, Amerika) kullanılmıştır. Dentine adeziv uygulaması sonrası rezin kompozit yerleştirildikten sonra örnekler rastgele olarak simüle edilmiş yapay vücut sıvısında ve biyomimetik remineralizasyon sıvısında bekletilmiştir. Biyomimetik remineralizasyon grubu için, 200-1000 rpm aralığında polikarboksilik ve polifosfonik asitlerin özel karışımı olan

polianyon karışımı (Shandong Taihe Water Treatment Co. Ltd., Shandong, Çin) jelatin kapsüller içerisine önceden paketlenmiştir. Örnekler 24 saat, 1 ay, 2 ay, 3 ay, 6 ay ve 12 aylık yaşlandırma sonrasında sonuçlar TEM (Geçirimli Elektron Mikroskobu) analizi ve gerilme dayanımı testi ile incelenmiştir. Kontrol grubunda rezin-dentin ara yüzeyinde kolajen dokuda çürümeler gözlenirken polianyonik moleküller ile remineralize edilmiş örneklerde rezin-dentin ara yüzeyinde kolajen matrikslerin biyomimetik remineralizasyonu gözlenmiştir. 12 aylık yaşlandırma sonunda bile gerilme dayanımı kuvvetine karşı dayanıklılığı tespit edilmiştir (283). Bağlanma bozulmasını önlemek için geliştirilen bu biyomimetik remineralizasyon stratejisinin klinik açıdan geliştirilmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda kullanılan örneklerin makaslama bağlanma dayanımı testi sonrası kopan yüzeyleri stereomikroskop altında incelenerek kırılma tipleri sınıflandırılmıştır. Bağlanma dayanımı testlerinin güvenilirliği açısından kopma tipi ve analizi önem taşımaktadır. Literatüre göre kopma türleri adeziv, koheziv ve miks şeklinde gruplandırılmaktadır (284). Kopma değerleri yapılan birçok bağlanma kuvveti testinde, bağlanan maddenin kendi iç koheziv kuvvetlerinin çok altındadır. Buna rağmen, çalışmalarda yüksek oranda koheziv kopmalara rastlanmaktadır. Dentin içinde sıklıkla meydana gelen kopma ve elde edilen bağlanma kuvveti değerlerinin, sağlam dentindeki iç koheziv kopma değerlerinden çok az olması, dentinin zayıflamış veya zayıflatılmış bir bölgede kopmanın meydana geldiğini akla getirmektedir. Bağlanma değerleri düşük olduğunda da, dentinde koheziv kopmanın görülebildiği tespit edilmiştir (285). Zayıf bağlantı değerleri gösteren sistemlerde ise kopma tipinin adeziv olduğu ve bu sistemlerde sadece minimal rezin penetrasyonunun gerçekleştiği bilinmektedir (205). Mason ve ark. yüksek bağlanma değerlerinin koheziv tipi kırıklar ile ilişkilendirilebileceğini ve koheziv tipi kırılmanın adeziv sistemin başarısını gösterdiğini vurgulamışlardır (286). Kırılma tiplerinin incelendiği bir çalışmada dentinin kendi içinde kopması veya rezin esaslı dolgu materyalinin koheziv kopmasının, rezin esaslı dolgu materyali ve dentin arasındaki adezyonun iyi olduğunun bir işareti olduğu belirtilmiştir. Yüksek bağlanma kuvvetlerinde daha fazla koheziv kopma ve miks tipte kopma görüldüğü rapor edilmiştir (207). Yapılan çalışmalar doğrultusunda rezin-dentin arasındaki bağlanmanın güvenilir şekilde ölçülebilmesi ve sağlıklı sonuçlar elde edilebilmesi için miks başarısızlık tipinin

yüksek oranda oluşması beklenmektedir (287). Çalışmamızda makaslama bağlanma dayanımı sonrasında stereomikroskop ile kırılma tipleri incelendiğinde bahsedilen çalışmaların sonuçlarıyla paralel olarak en fazla adeziv ve miks tipi kırılmanın olduğu gözlemlenmektedir. SE ve MPP3+SE grupları arasında her üç zaman diliminde de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Aynı şekilde ER ve MPP3+ER grupları arasında her üç zaman diliminde de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. SE ve ER gruplarında 0. ayda adeziv ve miks tip kırılma gözlemlenmiş, 3. ayda SE grubunda adeziv, koheziv, miks tip kırılma gözlenirken ER grubunda yalnızca miks tip kırılma gözlemlenmiş, 6. ayda her iki grupta da adeziv ve miks tip kırılma gözlemlenmiştir. MPP3+SE grubunda 0. Ayda adeziv, koheziv, miks tip kırılma gözlenirken MPP3+ER grubunda adeziv ve miks tip kırılma olduğu bulunmuştur. 3. ayda MPP3+SE grubunda koheziv ve miks kırılma tipi, MPP3+ER grubunda adeziv, koheziv ve miks kırılma tipi gözlemlenmektedir. 6. ayda her iki grupta da yalnızca miks tip kırılma gözlemlenmektedir. Bu da adeziv-dentin bağlanma kuvvetinin arttığının bir göstergesi olarak makaslama bağlanma dayanımı değerleri ile paralellik göstermektedir. Yaptığımız tez çalışmasına benzer dentine bağlanma öncesi MPP3 uygulamasının uzun dönem etkilerinin incelendiği başka bir çalışma bulunmaması nedeniyle makaslama bağlanma dayanımı sonrasında kırılma tiplerinin incelenmesi ile ilgili birebir karşılaştırma yapma olanağı bulunamamıştır.

Atsu ve ark. yaptıkları bir çalışmada bağlanma kuvvetine göre kırılma tiplerini incelemişler ve düşük bağlanma dayanımı gösteren gruplarda adeziv tip kırılmanın daha fazla olduğunu, yüksek bağlanma dayanımı gösteren gruplarda ise koheziv ve miks tip kırılmanın çoğunlukta olduğunu göstermişlerdir (288). Çalışmamızda 6 ayın sonunda özellikle MMP3 uygulanan gruplarda miks tip kırılmanın görülmesi elde ettiğimiz makaslama bağlama dayanımı analiz sonuçlarının güvenilir olduğunu ispat etmektedir. Bu elde ettiğimiz sonuç bununla ilgili literatürleri de kanıtlar niteliktedir (289–291).

Bir sentetik peptit türevi olan Mineralizasyonu Destekleyen Peptit -3 (MPP3)'ün dentin bonding sistemler üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği bu in vitro tez çalışmasında tespit edilen çeşitli limitasyonlar mevcuttur. Bunlar:

- 1- İn vitro koşullarda 37°C etüvde suda bekletme ile yaşlandırma yapılan örneklerde çiğneme simülasyonu yapılamadığı için adeziv sistem üzerindeki okluzal ve insizal, mekanik stresler göz ardı edilmiştir.
- 2- Daha fazla sayıda bonding sistem çalışmaya dahil edilerek, kullanılan materyal sayısının arttırılmasının çalışmanın verileri açısından daha kalitelibulgular sunabileceği değerlendirilmiştir.
- 3- Mevcut in vitro koşullarda MPP3 ile desteklenen SE ve ER adeziv sistemlerinin olumlu sonuçlar vermesine karşın mikrosızıntı testinin yapılamaması bir eksiklik olarak görülmüştür.
- 4- Bu tez çalışmasının öncü çalışması olan Güngörmüş ve Tulumbacı'nın yapmış olduğu daimi diş dentinine bağlanma öncesi 10 dk'lık remineralizasyon işlemi, kıyaslanabilirlik açısından yegane çalışmadır (5).

Bu sebeple yapılan tez çalışmasında süt dişi dentinine bağlanma öncesi 10 dk'lık remineralizasyon işlemi uygulanmıştır. Ancak özellikle çocuk hastalarda klinik koşullarda 10 dk boyunca tükürük izolasyonu sağlanarak ve hasta uyumunu kaybetmeden remineralizasyon elde etmenin zor olması sebebiyle klinik çalışma zamanının daha uygulanabilir sürelerle çekilmesi için süre odaklı ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu bulgular ışığında MPP3 ile desteklenen SE ve ER adeziv sistemlerinin olumlu sonuçlar verdiği tez çalışmasının in vivo koşullarda konakçı cevabını da içine alacak mevcut gen yolakları ortamında geliştirilmesi uygun olacağı sonucuna varılmıştır.



6. SONUÇLAR

Bu çalışma süt dişi dentinine bağlanma öncesi MPP3 uygulamasının hem SE hem de ER adeziv sistemindeki bağlanma dayanımının uzun dönem etkilerinin incelendiği ilk çalışmadır. Çalışma sonuçları şu şekilde özetlenmektedir:

- FESEM sonuçlarına göre MPP3 eklenen gruplarda 0, 3 ve 6. aylarda hibrit tabakanın SE gruplarında daha belirgin gözlemlenirken ER gruplarında net olarak gözlemlenemediği tespit edilmiştir.
- Yapılan EDS sonuçlarından elde edilen Ca grafiklerinde MPP3+SE grubunda dentinden adeziv yüzeye doğru geçişte Ca miktarında yavaş bir düşüş gözlemlendiği ve bu düşüşün SE grubunda daha keskin bir şekilde gözlemlendiği ortaya konulmuştur. MPP3+ER ve ER grupları arasında dentinden adeziv yüzeye doğru geçişte Ca miktarında belirgin bir fark tespit edilmemiştir.
- SBS analizi sonuçlarına göre MPP3 eklenen gruplar her üç zaman diliminde de MPP3 eklenmeyen gruplara göre yüksek değerler göstermektedir. MPP3+SE ve SE grupları arasında 0.ayda anlamlı bir fark tespit edilmiştir. MPP3+SE gruplarında, MPP3+ER gruplarına kıyasla daha yüksek değerler elde edilmiştir.
- Yapılan Raman spektroskopisi incelemelerinde her üç zaman diliminde MPP3 eklenen gruplarda dentinden adeziv yüzeye doğru geçişte fosfat yoğunluğunun ara yüzeye kadar ulaştığı ve mineralizasyonun hibrit tabakada varlığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. MPP3 eklenmeyen gruplarda her üç zaman diliminde de fosfat yoğunluğunun ara yüzeye gelmeden tükendiği belirtilmiştir.
- Çalışmada yaptığımız analiz sonuçlarına göre birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Kullandığımız yöntemlerin sonuçları tek başına yeterli olmazken bu doğrultuda birbirini destekleyen yöntemlerin bir arada kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızın sonuçları ışığında süt dişi dentinine bağlanma öncesi MPP3 ve kalsiyum/fosfat muamelesinin uzun dönemde adeziv sistemlerin bağlanma dayanımını olumlu yönde etkilediği söylenebilmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Smaïl-Faugeron V, Courson F, Durieux P, Muller-Bolla M, Glenney A-M, Fron Chabouis H. Pulp treatment for extensive decay in primary teeth. Cochrane database Syst Rev. 2014 Aug 6;2014(8):CD003220.
2. Dean J, Avery D, McDonald R. McDonald and Avery Dentistry for the Child and Adolescent. McDonald and Avery Dentistry for the Child and Adolescent. Elsevier; 2011.
3. Küçükeşmen Ç, Erdoğan Y. Süt ve daimi dişlerde bağlayıcı ajanların etkinliği, biyouyumluluğu ve sitotoksitesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg. 2009;16(1).
4. Bonilla E, Stevenson R, Yashar M, Caputo A. Effect of application technique and dentin bonding agent interaction on shear bond strength. Oper Dent. 2003;
5. Gungormus M, Tulumbaci F. Peptide-assisted pre-bonding remineralization of dentin to improve bonding. J Mech Behav Biomed Mater [Internet]. 2021;113(September 2020):104119. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.104119>
6. Gajjeraman S, Narayanan K, Hao J, Qin C, George A. Matrix Macromolecules in Hard Tissues Control the Nucleation and Hierarchical Assembly of Hydroxyapatite. J Biol Chem. 2007 Jan 12;282(2):1193–204.
7. Gungormus M, Oren EE, Horst JA, Fong H, Hnilova M, Somerman MJ, et al. Cementomimetics-constructing a cementum-like biomineralized microlayer via amelogenin-derived peptides. Int J Oral Sci. 2012 Jun;4(2):69–77.
8. Ling Z, He Y, Huang H, Xie X, Li QL, Cao CY. Effects of oligopeptide simulating DMP-1/mineral trioxide aggregate/agarose hydrogel biomimetic mineralisation model for the treatment of dentine hypersensitivity. J Mater Chem B. 2019;7(38):5825–33.
9. Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. Crit Rev Oral Biol Med. 1993;4(5):679–728.
10. Ata P. Konservatif Diş Tedavisi. İstanbul, Yenilik Basımevi, 1979; 2.
11. Ritter AV, Boushell LW, Walter R. Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry, 7th ed. Missouri, Elsevier, 2019.
12. Pashley, D. H., Tay FR. Pulpodentin complex. In: Seltzer and Bender's Dental Pulp. Chicago, USA: Quintessence Publishing Co, Inc; 2002. p. 63–95.
13. Pashley DH, Pashley EL, Carvalho RM, Tay FR. The effects of dentin permeability on restorative dentistry. Dent Clin North Am. 2002 Apr 1;46(2):211–45.

14. Pashley, D.H., Liewehr F. Structure and Functions of the Dentin and Pulp Complex. In: S. Cohen KMH, editor. *Pathways of the Pulp*. 9th ed. St.Louis: Mosby C; 2006. p. 460–512.
15. Sturdevant J.R., Lundeen T.F. ST. Clinical Significance of Dental Anatomy, Histology, Physiology and Occlusion. In: T.M. Roberson, H.O. Heymann E., editor. *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002. p. 22–31.
16. Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* [Internet]. 1976;21(6):355–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1066114>
17. Pashley DH. Dynamics of the Pulpo-Dentin Complex. *Crit Rev Oral Biol Med Biol Med* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2023 Jan 12];7(2):104–33. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/10454411960070020101>
18. Avery J.K., Chiego DJ. Dentin. In: *Essentials of Oral Histolgy and Embryology*. 3rd ed. St. Louis: Mosby C; 2006. p. 107–36.
19. Sardella TN, de Castro FLA, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent*. 2005 May;33(5):355–62.
20. Ruschel HC, Chevitaresh O. Density and diameter of dentinal tubules of first and second primary human molars--comparative scanning electron microscopy study. *J Clin Pediatr Dent*. 2002;26(3):297–304.
21. Cengiz T. Bölüm 4: Biyokimyasal yapı. In: *Endodonti*. 3rd ed. İzmir: Barış Yayınları; 1990. p. 43–6.
22. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent*. 1999;21(7):439–44.
23. *Br Dent J*. About the cover. Volume 204 Issue 8, 26 April 2008 [Internet]. [cited 2023 Jan 9]. Available from: <https://www.nature.com/bdj/volumes/204/issues/8>
24. Boushell LW, Sturdevant JR. Clinical Significance of Dental Anatomy, Histology, Physiology, and Occlusion. *Sturdevant's Art Sci Oper Dent*. 2019 Jan 1;1–39.
25. Sano H, Ciucchi B, Matthews WG. Tensile properties of mineralized and demineralized human and bovine dentin. *J Dent Res* [Internet]. 1994 [cited 2023 Jan 9];73(6):1205–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8046110/>

26. Milan AM, Sugars R V., Embery G, Waddington RJ. Dentinal proteoglycans demonstrate an increasing order of affinity for hydroxyapatite crystals during the transition of predentine to dentine. *Calcif Tissue Int.* 2004 Sep 27;75(3):197–204.
27. Hargreaves KM, Goodis HE. *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. China, Quintessence Publishing Co, Inc, 2002; 63-93.
28. Pashley DKM. Pulpodentin Complex. In: Goodis H& HE, editor. *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Quintessence Publishing Co, Inc.; 2022. p. 63–85.
29. Fox AG, Heeley JD. Histological study of pulps of human primary teeth. *Arch Oral Biol.* 1980;25(2):103–10.
30. Kawasaki K, Tanaka S, Ishikawa T. On the daily incremental lines in human dentine. *Arch Oral Biol.* 1979 Jan 1;24(12):939–43.
31. Jansen van Rensburg B. Dentine. Rensburg BJ van, editor. Quintessence Publishing Co, Inc; 1995. 271–280 p.
32. Smith A. Dentin formation and repair. In: K. Hargreaves & H. Goodis, editor. *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Quintessence Publishing Co, Inc; 2002. p. 41–62.
33. Murray PE, About I, Lumley PJ, Franquin JC, Remusat M, Smith AJ. Human odontoblast cell numbers after dental injury. *J Dent.* 2000 May 1;28(4):277–85.
34. Kusunoki M, Itoh K, Hisamitsu H, Wakumoto S. The efficacy of dentine adhesive to sclerotic dentine. *J Dent.* 2002 Feb 1;30(2–3):91–7.
35. Murray PE, About I, Lumley PJ, Smith G, Franquin JC, Smith AJ. Postoperative Pulpal And Repair Responses. *J Am Dent Assoc.* 2000 Mar 1;131(3):321–9.
36. Smith, A., Sloan, A., Matthews, J., Murray, P., Lumley P. Reperative processes in dentine and pulp. In: M. Addy, G. Embry WE&, Orchardson R, editors. *Tooth Wear and Sensitivity*. London: Ma. 2000. p. 53–66.
37. Akino, K., Okada, T., Fujii, H., Machida Y. Study on changes in the pulp chamber and coronal dentin thickness in deciduous teeth. In: M., Shimono, T. Maeda HS& KT, editors. *Dentin/Pulp Complex*. Quintessen. 1996. p. 289–90.
38. Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod.* 1984 Oct 1;10(10):477–83.
39. Pashley DH. Consideration of dentine permeability in cytotoxicity testing. *Int Endod J [Internet]*. 1988 Mar 1 [cited 2023 Jan 18];21(2):143–54. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2591.1988.tb00968.x>

40. Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent* [Internet]. 1994;16(1):29–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8015939>
41. Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability, and bond strength of adhesive resins. *Dent Mater* [Internet]. 1990 Jan;6(1):45–50. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/010956419090044F>
42. Michelich V, Pashley DH, Whitford GM. Dentin Permeability: A Comparison of Functional Versus Anatomical Tubular Radii. *J Dent Res* [Internet]. 1978 Nov 9;57(11–12):1019–24. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/002203457805701110301>
43. Ritter AV, Boushell LW WR. *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry*. 7th ed. Missouri: Elsevier; 2019.
44. NHF W. *Minimally Invasive Dentistry*. 1th ed. London: Quintessence Publishing Co In; 2013.
45. Dayangac B. *Kompozit Restorasyonlar*. Quintessence Yayıncılık. 2011.
46. Kiremitçi A. GS. Dentinin ıslanma kritik yüzey gerilimi üzerine dört adeziv sisteminin etkisi. *H Ü Dis Hek Fak Derg*. 1998;2:47–52.
47. Roberson TM, Heymann HO, Swift EJ Jr. *Sturdevant's Art and science of operative dentistry*. Fifth Edition. St. Louis, Missouri, Elsevier Mosby, 2005.
48. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* [Internet]. 1955 Dec;34(6):849–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13271655>
49. Burke FJ, McCaughey AD. The four generations of dentin bonding. *Am J Dent* [Internet]. 1995 Apr;8(2):88–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7546485>
50. Retief DH. Standardizing laboratory adhesion tests. *Am J Dent* [Internet]. 1991 Oct;4(5):231–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1810333>
51. Swift EJ. Dentin/enamel adhesives: review of the literature. *Pediatr Dent* [Internet]. 2002;24(5):456–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12412960>
52. Nakabayashi N. Bonding of restorative materials to dentine: the present status in Japan. *Int Dent J* [Internet]. 1985 Jun;35(2):145–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3894241>

53. Hosoya Y, Kawada E, Ushigome T, Oda Y, Garcia-Godoy F. Micro-tensile bond strength of sound and caries-affected primary tooth dentin measured with original designed jig. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2006 May;77(2):241–8.
54. Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int*. 1993 Sep;24(9):618–31.
55. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J Dent Res*. 1996 Jun;75(6):1396–403.
56. Kaaden C, Schmalz G, Powers JM. Morphological characterization of the resin-dentin interface in primary teeth. *Clin Oral Investig*. 2003 Dec;7(4):235–40.
57. Feilzer AJ, De Gee AJ, Davidson CL. Setting stress in composite resin in relation to configuration of the restoration. *J Dent Res* [Internet]. 1987 Nov;66(11):1636–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10872397>
58. Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Braem M, Yildiz E, Yücel T, et al. The interaction of adhesive systems with human dentin. *Am J Dent* [Internet]. 1996 Aug;9(4):167–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9002793>
59. Gonçalves F, Kawano Y, Braga RR. Contraction stress related to composite inorganic content. *Dent Mater* [Internet]. 2010 Jul;26(7):704–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20378161>
60. Son S-A, Park J-K, Seo D-G, Ko C-C, Kwon YH. How light attenuation and filler content affect the microhardness and polymerization shrinkage and translucency of bulk-fill composites? *Clin Oral Investig* [Internet]. 2017 Mar;21(2):559–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27475636>
61. Mantri SP, Mantri SS. Management of shrinkage stresses in direct restorative light-cured composites: a review. *J Esthet Restor Dent* [Internet]. 2013 Oct;25(5):305–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24148979>
62. Park J, Chang J, Ferracane J, Lee IB. How should composite be layered to reduce shrinkage stress: incremental or bulk filling? *Dent Mater* [Internet]. 2008 Nov;24(11):1501–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18433857>

63. Soares CJ, Bicalho AA, Tantbirojn D, Versluis A. Polymerization shrinkage stresses in a premolar restored with different composite resins and different incremental techniques. *J Adhes Dent* [Internet]. 2013 Aug;15(4):341–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23560252>
64. Leinfelder KF. Dentin adhesives for the twenty-first century. *Dent Clin North Am* [Internet]. 2001 Jan;45(1):1–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11210688>
65. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* [Internet]. 2003;28(3):215–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12760693>
66. İdil Dikbaş, Temel Köksal NÇ. Seramik İnley ve Onley Restorasyonlar/ Ceramic Inlay and Restorations. 2007;41(1–2):71–82.
67. F B, Buonocore M, Wileman W. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. *J Dent Res* [Internet]. 1956 Dec;35(6):846–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13376790>
68. Eick JD, Cobb CM, Chappell RP, Spencer P, Robinson SJ. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. Part I. *Quintessence Int* [Internet]. 1991 Dec;22(12):967–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1813914>
69. Van Dijken JW, Hörstedt P. In vivo adaptation of restorative materials to dentin. *J Prosthet Dent* [Internet]. 1986 Dec;56(6):677–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3534236>
70. Prati C, Nucci C, Montanari G. Shear bond strength and microleakage of dentin bonding systems. *J Prosthet Dent* [Internet]. 1991 Mar;65(3):401–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1829112>
71. Swift EJ. Microleakage of dentin adhesive systems. *J Esthet Dent* [Internet]. 1991;3(3):91–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1888552>
72. Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res*. 1992 Aug;71(8):1530–40.
73. Inokoshi S, Hosoda H, Harnirattisai C, Shimada Y. Interfacial structure between dentin and seven dentin bonding systems revealed using argon ion beam etching. *Oper Dent* [Internet]. 1993;18(1):8–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8332541>
74. Swift EJ, Triolo PT. Bond strengths of Scotchbond Multi-Purpose to moist dentin and enamel. *Am J Dent* [Internet]. 1992 Dec;5(6):318–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1304180>

75. Swift EJ. Bonding systems for restorative materials-a comprehensive review. *Pediatr Dent* [Internet]. 1998;20(2):80–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9566010>
76. Ferrari M, Mannocci F, Vichi A, Davidson CL. Effect of two etching times on the sealing ability of Clearfil Liner Bond 2 in Class V restorations. *Am J Dent*. 1997 Apr;10(2):66–70.
77. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003;28(3):215–35.
78. Vicente A, Bravo LA, Romero M. Self-etching primer and a non-rinse conditioner versus phosphoric acid: alternative methods for bonding brackets. *Eur J Orthod*. 2006 Apr;28(2):173–8.
79. Abraham S, Ghonmode WN, Saujanya KP, Jaju N, Tambe VH, Yawalikar PP. Effect of grape seed extracts on bond strength of bleached enamel using fifth and seventh generation bonding agents. *J Int oral Heal JIOH*. 2013 Dec;5(6):101–7.
80. Abo T, Uno S, Sano H. Comparison of bonding efficacy of an all-in-one adhesive with a self-etching primer system. *Eur J Oral Sci*. 2004 Jun;112(3):286–92.
81. De Munck J, Van Landuyt K, Coutinho E, Poitevin A, Peumans M, Lambrechts P, et al. Micro-tensile bond strength of adhesives bonded to class-I cavity-bottom dentin after thermo-cycling. *Dent Mater*. 2005 Nov 1;21(11):999–1007.
82. Vermelho PM, Reis AF, Ambrosano GMB, Giannini M. Adhesion of multimode adhesives to enamel and dentin after one year of water storage. *Clin Oral Investig*. 2017 Jun;21(5):1707–15.
83. Peumans M, De Munck J, Van Landuyt KL, Poitevin A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. A 13-year clinical evaluation of two three-step etch-and-rinse adhesives in non-carious class-V lesions. *Clin Oral Investig*. 2012 Feb;16(1):129–37.
84. Wilder AD, Swift EJ, Heymann HO, Ritter A V, Sturdevant JR, Bayne SC. A 12-year clinical evaluation of a three-step dentin adhesive in noncarious cervical lesions. *J Am Dent Assoc*. 2009 May;140(5):526–35.
85. Roberson, T. M., Heymann, H. O., Swift EJ. *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry*. Missouri: Mosby; 2012.
86. Azad E, Atai M, Zandi M, Shokrollahi P, Solhi L. Structure-properties relationships in dental adhesives: Effect of initiator, matrix monomer structure, and nano-filler incorporation. *Dent Mater*. 2018 Sep;34(9):1263–70.

87. Becker TD, Agee KA, Joyce AP, Rueggeberg FA, Borke JL, Waller JL, et al. Infiltration/evaporation-induced shrinkage of demineralized dentin by solvated model adhesives. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007 Jan;80(1):156–65.
88. Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent*. 1998 Jan;26(1):1–20.
89. Perdigão J, Walter R, Miguez A SE. Fundamental Concepts of Enamel and Dentin Adhesion. In: Ritter AV, Boushell LW WR, editor. *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry*. 7th ed. Missouri: Elsevier; 2019.
90. Cardoso M V, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, et al. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J*. 2011 Jun;56 Suppl 1:31–44.
91. Perdigão J. New developments in dental adhesion. *Dent Clin North Am*. 2007 Apr;51(2):333–57, viii.
92. Brenna F. Biological aspects: Protection of the pulp and dentin adhesion. In: Pansecchi D, Brenna F, Ferrari P, Breschi L, Dondi dall'Orologico G et al, editor. *Restorative Dentistry*. St. Louis: Elsevier; 2012. p. 135–221.
93. Kanca J. Effect of resin primer solvents and surface wetness on resin composite bond strength to dentin. *Am J Dent*. 1992 Aug;5(4):213–5.
94. Kanca J. Resin bonding to wet substrate. 1. Bonding to dentin. *Quintessence Int*. 1992 Jan;23(1):39–41.
95. Fukuoka A, Koshiro K, Inoue S, Yoshida Y, Tanaka T, Ikeda T, et al. Hydrolytic stability of one-step self-etching adhesives bonded to dentin. *J Adhes Dent*. 2011 Jun;13(3):243–8.
96. Perdigão J, Gomes G, Gondo R, Fundingsland JW. In vitro bonding performance of all-in-one adhesives. Part I--microtensile bond strengths. *J Adhes Dent*. 2006 Dec;8(6):367–73.
97. Perdigão J, Lopes MM, Gomes G. In vitro bonding performance of self-etch adhesives: II--ultramorphological evaluation. *Oper Dent*. 2008;33(5):534–49.
98. Suyama Y, Lührs A-K, De Munck J, Mine A, Poitevin A, Yamada T, et al. Potential smear layer interference with bonding of self-etching adhesives to dentin. *J Adhes Dent*. 2013 Aug;15(4):317–24.
99. Bruniera Anchietà R, Silveira Machado L, Herman Sundfeld R, Figueiredo Reis A, Giannini M, Luersen MA, et al. Effect of partially demineralized dentin beneath the hybrid layer on dentin-adhesive interface micromechanics. *J Biomech*. 2015 Feb 26;48(4):701–7.

100. Tay FR, Sano H, Carvalho R, Pashley EL, Pashley DH. An ultrastructural study of the influence of acidity of self-etching primers and smear layer thickness on bonding to intact dentin. *J Adhes Dent*. 2000;2(2):83–98.
101. Browning WD, Blalock JS, Callan RS, Brackett WW, Schull GF, Davenport MB, et al. Postoperative sensitivity: a comparison of two bonding agents. *Oper Dent*. 2007;32(2):112–7.
102. Burrow MF, Banomyong D, Harnirattisai C, Messer HH. Effect of glass-ionomer cement lining on postoperative sensitivity in occlusal cavities restored with resin composite--a randomized clinical trial. *Oper Dent*. 2009;34(6):648–55.
103. Reis A, Dourado Loguercio A, Schroeder M, Luque-Martinez I, Masterson D, Cople Maia L. Does the adhesive strategy influence the post-operative sensitivity in adult patients with posterior resin composite restorations?: A systematic review and meta-analysis. *Dent Mater*. 2015 Sep;31(9):1052–67.
104. Wegehaupt F, Betke H, Solloch N, Musch U, Wiegand A, Attin T. Influence of cavity lining and remaining dentin thickness on the occurrence of postoperative hypersensitivity of composite restorations. *J Adhes Dent*. 2009 Apr;11(2):137–41.
105. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent*. 2002;30(7–8):371–82.
106. Ito S, Tay FR, Hashimoto M, Yoshiyama M, Saito T, Brackett WW, et al. Effects of multiple coatings of two all-in-one adhesives on dentin bonding. *J Adhes Dent*. 2005;7(2):133–41.
107. Reis A, Leite TM, Matte K, Michels R, Amaral RC, Geraldeli S, et al. Improving clinical retention of one-step self-etching adhesive systems with an additional hydrophobic adhesive layer. *J Am Dent Assoc*. 2009 Jul;140(7):877–85.
108. Reis A, Albuquerque M, Pegoraro M, Mattei G, Bauer JR de O, Grande RHM, et al. Can the durability of one-step self-etch adhesives be improved by double application or by an extra layer of hydrophobic resin? *J Dent*. 2008 May;36(5):309–15.
109. Sofan E, Sofan A, Palaia G, Tenore G, Romeo U, Migliau G. Classification review of dental adhesive systems: from the IV generation to the universal type. *Ann Stomatol (Roma)*. 2017;8(1):1–17.
110. Rotta M, Bresciani P, Moura SK, Grande RHM, Hilgert LA, Baratieri LN, et al. Effects of phosphoric acid pretreatment and substitution of bonding resin on bonding effectiveness of self-etching systems to enamel. *J Adhes Dent*. 2007 Dec;9(6):537–45.

111. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2011 Jan;27(1):17–28.
112. Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, Szesz AL, Reis A, Loguercio AD, et al. Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *J Dent.* 2014 May;42(5):595–602.
113. Yoshida Y, Yoshihara K, Hayakawa S, Nagaoka N, Okihara T, Matsumoto T, et al. HEMA inhibits interfacial nano-layering of the functional monomer MDP. *J Dent Res.* 2012 Nov;91(11):1060–5.
114. Loguercio AD, Muñoz MA, Luque-Martinez I, Hass V, Reis A, Perdigão J. Does active application of universal adhesives to enamel in self-etch mode improve their performance? *J Dent.* 2015 Sep;43(9):1060–70.
115. Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, et al. Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater.* 2011 Aug;7(8):3187–95.
116. Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosà M, Cadenaro M, et al. Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. *J Dent.* 2014 May;42(5):603–12.
117. Chen C, Niu L-N, Xie H, Zhang Z-Y, Zhou L-Q, Jiao K, et al. Bonding of universal adhesives to dentine--Old wine in new bottles? *J Dent.* 2015 May;43(5):525–36.
118. Watanabe LG, Marshall GW, Marshall SJ. Dentin shear strength: effects of tubule orientation and intratooth location. *Dent Mater.* 1996;12(2):109–15.
119. Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent.* 1981 Nov;46(5):531–7.
120. Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid Layer as a Dentin-Bonding Mechanism. *J Esthet Restor Dent.* 1991 Jul;3(4):133–8.
121. Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM, Rueggeberg FA, Agee KA, Carrilho M, et al. From dry bonding to water-wet bonding to ethanol-wet bonding. A review of the interactions between dentin matrix and solvated resins using a macromodel of the hybrid layer. *Am J Dent [Internet].* 2007 Feb;20(1):7–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17380802>
122. Kanca J. Improving bond strength through acid etching of dentin and bonding to wet dentin surfaces. *J Am Dent Assoc.* 1992 Sep;123(9):35–43.
123. Abedin F, Ye Q, Good HJ, Parthasarathy R, Spencer P. Polymerization- and solvent-induced phase separation in hydrophilic-rich dentin adhesive mimic. *Acta Biomater.* 2014 Jul;10(7):3038–47.

124. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res*. 2002 Dec 5;62(3):447–56.
125. Bedran-Russo AKB, Pereira PNR, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*. 2007 Jan;80B(1):268–72.
126. Scheffel DLS, Hebling J, Scheffel RH, Agee KA, Cadenaro M, Turco G, et al. Stabilization of dentin matrix after cross-linking treatments, in vitro. *Dent Mater*. 2014 Feb;30(2):227–33.
127. Cai J, Palamara JEA, Burrow MF. Effects of Collagen Crosslinkers on Dentine: A Literature Review. *Calcif Tissue Int*. 2018 Mar;102(3):265–79.
128. Yamauchi K, Tsujimoto A, Jurado CA, Shimatani Y, Nagura Y, Takamizawa T, et al. Etch-and-rinse vs self-etch mode for dentin bonding effectiveness of universal adhesives. *J Oral Sci*. 2019 Nov 27;61(4):549–53.
129. De Munck J, Vargas M, Van Landuyt K, Hikita K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bonding of an auto-adhesive luting material to enamel and dentin. *Dent Mater*. 2004 Dec;20(10):963–71.
130. Monticelli F, Osorio R, Mazzitelli C, Ferrari M, Toledano M. Limited decalcification/diffusion of self-adhesive cements into dentin. *J Dent Res*. 2008 Oct;87(10):974–9.
131. Turkistani A, Islam S, Shimada Y, Tagami J, Sadr A. Dental cements: Bioactivity, bond strength and demineralization progression around restorations. *Am J Dent*. 2018 Nov 15;31(Sp Is B):24B-31B.
132. Mazzitelli C, Monticelli F, Toledano M, Ferrari M, Osorio R. Dentin treatment effects on the bonding performance of self-adhesive resin cements. *Eur J Oral Sci*. 2010 Feb;118(1):80–6.
133. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*. 2004 Mar;83(3):216–21.
134. Kermanshahi S, Santerre JP, Cvitkovitch DG, Finer Y. Biodegradation of resin-dentin interfaces increases bacterial microleakage. *J Dent Res*. 2010 Sep;89(9):996–1001.
135. Tersariol IL, Geraldeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Pääkkönen V, Martins MT, et al. Cysteine cathepsins in human dentin-pulp complex. *J Endod*. 2010 Mar;36(3):475–81.
136. da Rosa Rodolpho PA, Cenci MS, Donassollo TA, Loguercio AD, Demarco FF. A clinical evaluation of posterior composite restorations: 17-year findings. *J Dent*. 2006 Aug;34(7):427–35.

137. Simmer FS, da Silva EM, Bezerra R da SG, Miranda ME da SNG, Noronha Filho JD, Amaral CM. Bond stability of conventional adhesive system with MMP inhibitors to superficial and deep dentin. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019 Dec;100:103402.
138. Stewart CA, Hong JH, Hatton BD, Finer Y. Responsive antimicrobial dental adhesive based on drug-silica co-assembled particles. *Acta Biomater*. 2018 Aug;76:283–94.
139. Jun S-K, Yang S-A, Kim Y-J, El-Fiqi A, Mandakhbayar N, Kim D-S, et al. Multi-functional nano-adhesive releasing therapeutic ions for MMP-deactivation and remineralization. *Sci Rep*. 2018 Apr 4;8(1):5663.
140. Jang J-H, Lee MG, Ferracane JL, Davis H, Bae HE, Choi D, et al. Effect of bioactive glass-containing resin composite on dentin remineralization. *J Dent*. 2018 Aug;75:58–64.
141. Huang C-T, Blatz MB, Arce C, Lawson NC. Inhibition of root dentin demineralization by ion releasing cements. *J Esthet Restor Dent*. 2020 Dec;32(8):791–6.
142. Solhi L, Atai M, Nodehi A, Imani M. Poly (methacrylic acid) modified spherical and platelet hybrid nanoparticles as reinforcing fillers for dentin bonding systems: Synthesis and properties. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020 Sep;109:103840.
143. Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res*. 2011 Aug;90(8):953–68.
144. Gungormus M, Fong H, Kim IW, Evans JS, Tamerler C, Sarikaya M. Regulation of in vitro calcium phosphate mineralization by combinatorially selected hydroxyapatite-binding peptides. *Biomacromolecules*. 2008 Mar;9(3):966–73.
145. Rao, A.; Cölfen, H., Morphology control and molecular templates in biomineralization. In *Biomineralization and Biomaterials*, Aparicio, C.; Ginebra, M.-P., Eds. Woodhead Publishing: Boston, 2016, pp 51-93. In.
146. Semino CE. Self-assembling peptides: from bio-inspired materials to bone regeneration. *J Dent Res*. 2008 Jul;87(7):606–16.
147. Khatayevich D, Gungormus M, Yazici H, So C, Cetinel S, Ma H, et al. Biofunctionalization of materials for implants using engineered peptides. *Acta Biomater*. 2010 Dec;6(12):4634–41.
148. Kind L, Stevanovic S, Wuttig S, Wimberger S, Hofer J, Müller B, et al. Biomimetic Remineralization of Carious Lesions by Self-Assembling Peptide. *J Dent Res*. 2017 Jul;96(7):790–7.

149. Demir GB. Current Overview of Remineralization Materials and Technologies. *Yeditepe Dent J.* 2020;16(1):81–94.
150. Savaş S, Küçükylmaz E. Diş Hekimliğinde Kullanılan Remineralizasyon Ajanları ve Çürük Önleyici Ajanlar. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekim Fakültesi Derg.* 2015 Feb 12;9(9).
151. Kirkham J, Firth A, Vernals D, Boden N, Robinson C, Shore RC, et al. Self-assembling peptide scaffolds promote enamel remineralization. *J Dent Res.* 2007 May;86(5):426–30.
152. Carneiro KMM, Zhai H, Zhu L, Horst JA, Sitlin M, Nguyen M, et al. Amyloid-like ribbons of amelogenins in enamel mineralization. 2016 [cited 2023 Feb 21]; Available from: www.nature.com/scientificreports/
153. Ruan Q, Moradian-Oldak J. Amelogenin and Enamel Biomimetics. *J Mater Chem B.* 2015;3:3112–29.
154. Fan Y, Sun Z, Moradian-Oldak J. Controlled remineralization of enamel in the presence of amelogenin and fluoride. *Biomaterials.* 2009 Feb;30(4):478–83.
155. Yang Y, Lv XP, Shi W, Li JY, Li DX, Zhou XD, et al. 8DSS-promoted remineralization of initial enamel caries in vitro. *J Dent Res.* 2014 May;93(5):520–4.
156. Chen L, Yuan H, Tang B, Liang K, Li J. Biomimetic remineralization of human enamel in the presence of polyamidoamine dendrimers in vitro. *Caries Res.* 2015;49(3):282–90.
157. Yarbrough DK, Hagerman E, Eckert R, He J, Choi H, Cao N, et al. Specific binding and mineralization of calcified surfaces by small peptides. *Calcif Tissue Int.* 2010 Jan;86(1):58–66.
158. Hsu CC, Chung HY, Yang J-M, Shi W, Wu B. Influence of 8DSS peptide on nano-mechanical behavior of human enamel. *J Dent Res.* 2011 Jan;90(1):88–92.
159. Yang Y, Lv X, Shi W, Zhou X, Li J, Zhang L. Synergistic Inhibition of Enamel Demineralization by Peptide 8DSS and Fluoride. *Caries Res.* 2016;50(1):32–9.
160. Whitesides GM, Mathias JP, Seto CT. Molecular self-assembly and nanochemistry: a chemical strategy for the synthesis of nanostructures. *Science.* 1991 Nov 29;254(5036):1312–9.
161. Brunton PA, Davies RPW, Burke JL, Smith A, Aggeli A, Brookes SJ, et al. Treatment of early caries lesions using biomimetic self-assembling peptides--a clinical safety trial. *Br Dent J.* 2013 Aug;215(4):E6.

162. Takahashi F, Kurokawa H, Shibasaki S, Kawamoto R, Murayama R, Miyazaki M. Ultrasonic assessment of the effects of self-assembling peptide scaffolds on preventing enamel demineralization. *Acta Odontol Scand*. 2016;74(2):142–7.
163. Mittal HC, Goyal A, Gauba K, Kapur A. Clinical Performance of Indirect Composite Onlays as Esthetic Alternative Clinical Performance of Indirect Composite Onlays as Esthetic Alternative to Stainless Steel Crowns for Rehabilitation of a Large Carious Primary Molar. Vol. 40, *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2016.
164. Nayebi N, Cetinel S, Omar SI, Tuszynski JA, Montemagno C. A computational method for selecting short peptide sequences for inorganic material binding. *Proteins*. 2017 Nov;85(11):2024–35.
165. Gaskin DJH, Starck K, Turner NA, Vulfson EN. Phage display combinatorial libraries of short peptides: ligand selection for protein purification. *Enzyme Microb Technol*. 2001 Jun 7;28(9–10):766–72.
166. Gaskin DJH, Starck K, Vulfson EN. Identification of inorganic crystal-specific sequences using phage display combinatorial library of short peptides: A feasibility study. *Biotechnol Lett*. 2000;22:1211–6.
167. Axelrad TW, Einhorn TA. Bone morphogenetic proteins in orthopaedic surgery. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009;20(5–6):481–8.
168. Gungormus M, Ozdogan MS, Ertem SY, Tulumbaci F, Kara H, Orhan M. Accelerated Calcium Phosphate Mineralization by Peptides with Adjacent Oppositely Charged Residues. *ACS Biomater Sci Eng*. 2020 Jul 13;6(7):3791–8.
169. Tulumbaci F, Gungormus M. In vitro remineralization of primary teeth with a mineralization-promoting peptide containing dental varnish. *J Appl Oral Sci*. 2020;28:1–9.
170. Heintze SD, Ruffieux C, Rousson V. Clinical performance of cervical restorations--a meta-analysis. *Dent Mater*. 2010 Oct;26(10):993–1000.
171. Mitsui FHO, Peris AR, Cavalcanti AN, Marchi GM, Pimenta LAF. Influence of thermal and mechanical load cycling on microtensile bond strengths of total and self-etching adhesive systems. *Oper Dent*. 2006;31(2):240–7.
172. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e100-21.
173. Burrow MF, Sano H, Nakajima M, Harada N, Tagami J. Bond strength to crown and root dentin. *Am J Dent*. 1996 Oct;9(5):223–9.

174. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res*. 2003 Feb;82(2):136–40.
175. Shono Y, Terashita M, Shimada J, Kozono Y, Carvalho RM, Russell CM, et al. Durability of resin-dentin bonds. *J Adhes Dent*. 1999;1(3):211–8.
176. Hosaka K, Nakajima M, Takahashi M, Itoh S, Ikeda M, Tagami J, et al. Relationship between mechanical properties of one-step self-etch adhesives and water sorption. *Dent Mater*. 2010 Apr;26(4):360–7.
177. Van Landuyt KL, De Munck J, Mine A, Cardoso M V, Peumans M, Van Meerbeek B. Filler debonding & subhybrid-layer failures in self-etch adhesives. *J Dent Res*. 2010 Oct;89(10):1045–50.
178. Torkabadi S, Nakajima M, Ikeda M, Foxton RM, Tagami J. Influence of bonded enamel margins on dentin bonding stability of one-step self-etching adhesives. *J Adhes Dent*. 2009 Oct;11(5):347–53.
179. Amaral FLB, Colucci V, Palma-Dibb RG, Corona SAM. Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review. *J Esthet Restor Dent*. 2007;19(6):340–53; discussion 354.
180. Chersoni S, Suppa P, Breschi L, Ferrari M, Tay FR, Pashley DH, et al. Water movement in the hybrid layer after different dentin treatments. *Dent Mater*. 2004 Nov;20(9):796–803.
181. Cenci MS, Demarco FF, Pereira CL, Lund RG, de Carvalho RM. One-year comparison of metallic and translucent matrices in Class II composite resin restorations. *Am J Dent*. 2007 Feb;20(1):41–5.
182. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 2005 Feb;84(2):118–32.
183. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent*. 1999 Feb;27(2):89–99.
184. Miyazaki M, Sato M, Onose H, Moore BK. Influence of thermal cycling on dentin bond strength of two-step bonding systems. *Am J Dent*. 1998 Jun;11(3):118–22.
185. Morresi AL, D’Amario M, Capogreco M, Gatto R, Marzo G, D’Arcangelo C, et al. Thermal cycling for restorative materials: does a standardized protocol exist in laboratory testing? A literature review. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014 Jan;29:295–308.
186. Yamauti M, Hashimoto M, Sano H, Ohno H, Carvalho RM, Kaga M, et al. Degradation of resin-dentin bonds using NaOCl storage. *Dent Mater*. 2003 Jul;19(5):399–405.

187. Krejci I, Häusler T, Sägesser, Lutz F. New adhesives in Class V restorations under combined load and simulated dentinal fluid. *Dent Mater.* 1994 Sep;10(5):331–5.
188. McMullan D. Scanning electron microscopy 1928–1965. *Scanning* 1995, 17: 175–85.
189. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res.* 1992 Apr;71 Spec No:924–8.
190. Dunlap M, JE A. Introduction to the scanning electron microscope: Theory, practise & procedures. . In: Facility for Advance Instrumentation 1997, 52.
191. Asena K, Kapakin T. Scanning- Elektron Mikroskobu. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet Fakültesi Derg.* 2006;17(1):55–8.
192. Joshi M, Joshi N, Kathariya R, Angadi P, Raikar S. Techniques to Evaluate Dental Erosion: A Systematic Review of Literature. *J Clin Diagn Res.* 2016 Oct;10(10):ZE01–7.
193. Karan K, Yao X, Xu C, Wang Y. Chemical profile of the dentin substrate in non-carious cervical lesions. *Dent Mater.* 2009 Oct;25(10):1205–12.
194. Gilchrist F, Santini A, Harley K, Deery C. The use of micro-Raman spectroscopy to differentiate between sound and eroded primary enamel. *Int J Paediatr Dent.* 2007 Jul;17(4):274–80.
195. Ko AC-T, Choo-Smith L-P, Hewko M, Sowa MG, Dong CCS, Cleghorn B. Detection of early dental caries using polarized Raman spectroscopy. *Opt Express.* 2006 Jan 9;14(1):203–15.
196. Petry R, Schmitt M, Popp J. Raman spectroscopy--a prospective tool in the life sciences. *Chemphyschem.* 2003 Jan 13;4(1):14–30.
197. Wang Y, Spencer P, Yao X. Micro-Raman imaging analysis of monomer/mineral distribution in intertubular region of adhesive/dentin interfaces. *J Biomed Opt.* 2006;11(2):024005.
198. Santini A, Miletic V. Quantitative micro-Raman assessment of dentine demineralization, adhesive penetration, and degree of conversion of three dentine bonding systems. *Eur J Oral Sci.* 2008 Apr;116(2):177–83.
199. Tramini P, Péliissier B, Valcarcel J, Bonnet B, Maury L. A Raman spectroscopic investigation of dentin and enamel structures modified by lactic acid. *Caries Res.* 2000;34(3):233–40.
200. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res.* 2003 Feb;82(2):141–5.

201. Al-Dohan HM, Yaman P, Dennison JB, Razzoog ME, Lang BR. Shear strength of core-veneer interface in bi-layered ceramics. *J Prosthet Dent*. 2004 Apr;91(4):349–55.
202. Saito A, Komine F, Blatz MB, Matsumura H. A comparison of bond strength of layered veneering porcelains to zirconia and metal. *J Prosthet Dent*. 2010 Oct;104(4):247–57.
203. Blatz MB, Sadan A, Kern M. Resin-ceramic bonding: a review of the literature. *J Prosthet Dent*. 2003 Mar;89(3):268–74.
204. Braga RR, Meira JBC, Boaro LCC, Xavier TA. Adhesion to tooth structure: a critical review of “macro” test methods. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e38–49.
205. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater*. 1995 Mar;11(2):117–25.
206. Sur UK. Surface-enhanced Raman spectroscopy. *Resonance*. 2010 Feb 2;15(2):154–64.
207. Scherrer SS, Cesar PF, Swain M V. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: A critical literature review. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e78–93.
208. Agents. JMC 3: D bonding, Aschheim KW DBED/ A clinical, approach to techniques and materials 2nd ed. St. Louis, Mosby-Year Book Inc 2001:41-3. No Title.
209. Nakabayashi N. The hybrid layer: a resin-dentin composite. *Proc Finn Dent Soc*. 1992;88 Suppl 1:321–9.
210. Hosaka K, Nishitani Y, Tagami J, Yoshiyama M, Brackett WW, Agee KA, et al. Durability of resin-dentin bonds to water- vs. ethanol-saturated dentin. *J Dent Res*. 2009 Feb;88(2):146–51.
211. Sadek FT, Mazzoni A, Breschi L, Tay FR, Braga RR. Six-month evaluation of adhesives interface created by a hydrophobic adhesive to acid-etched ethanol-wet bonded dentine with simplified dehydration protocols. *J Dent*. 2010 Apr;38(4):276–83.
212. Zhang S, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci*. 2009 Dec;1(4):163–76.
213. Bedran-Russo AKB, Vidal CMP, Dos Santos PH, Castellan CS. Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010 Jul;94(1):250–5.

214. Proença JP, Polido M, Osorio E, Erhardt MCG, Aguilera FS, García-Godoy F, et al. Dentin regional bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems. *Dent Mater.* 2007 Dec;23(12):1542–8.
215. Holderegger C, Sailer I, Schuhmacher C, Schlöpfer R, Hämmerle C, Fischer J. Shear bond strength of resin cements to human dentin. *Dent Mater.* 2008 Jul;24(7):944–50.
216. EKİZ E, ODABAŞ ME. Başlangıç lezyonlarının tedavisinde rezin infiltrasyon tekniğinin etkinliğinin değerlendirilmesi. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekim Fakültesi Derg.* 2015 Nov 24;12(12).
217. Bertassoni LE, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW. Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. *Caries Res.* 2009;43(1):70–7.
218. Xu Z, Neoh KG, Lin CC, Kishen A. Biomimetic deposition of calcium phosphate minerals on the surface of partially demineralized dentine modified with phosphorylated chitosan. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011 Jul;98(1):150–9.
219. Han M, Li Q-L, Cao Y, Fang H, Xia R, Zhang Z-H. In vivo remineralization of dentin using an agarose hydrogel biomimetic mineralization system. *Sci Rep.* 2017 Feb 7;7:41955.
220. Dawasaz AA, Togoo RA, Mahmood Z, Ahmad A, Thirumulu Ponnuraj K. Remineralization of Dentinal Lesions Using Biomimetic Agents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomimetics (Basel, Switzerland).* 2023 Apr 15;8(2).
221. Zhang X, Neoh KG, Lin CC, Kishen A. Remineralization of partially demineralized dentine substrate based on a biomimetic strategy. *J Mater Sci Mater Med.* 2012 Mar;23(3):733–42.
222. Mukherjee K, Visakan G, Phark J-H, Moradian-Oldak J. Enhancing Collagen Mineralization with Amelogenin Peptide: Towards the Restoration of Dentin. *ACS Biomater Sci Eng.* 2020 Apr 13;6(4):2251–62.
223. Iijima M, Moradian-Oldak J. Control of octacalcium phosphate and apatite crystal growth by amelogenin matrices. *J Mater Chem.* 2004;14(14):2189.
224. Beniash E, Simmer JP, Margolis HC. The effect of recombinant mouse amelogenins on the formation and organization of hydroxyapatite crystals in vitro. *J Struct Biol.* 2005 Feb;149(2):182–90.
225. Fan Y, Sun Z, Wang R, Abbott C, Moradian-Oldak J. Enamel inspired nanocomposite fabrication through amelogenin supramolecular assembly. *Biomaterials.* 2007 Jul;28(19):3034–42.

226. Chen L, Liang K, Li J, Wu D, Zhou X, Li J. Regeneration of biomimetic hydroxyapatite on etched human enamel by anionic PAMAM template in vitro. *Arch Oral Biol*. 2013 Aug;58(8):975–80.
227. Öztürk Z, Bal C, Güngörmüş M, Aksoy M. Effects of a mineralization-promoting peptide on the physical and chemical properties of mineral trioxide aggregate. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2023 Feb;138:105570.
228. Heintze SD, Rousson V, Mahn E. Bond strength tests of dental adhesive systems and their correlation with clinical results - A meta-analysis. *Dent Mater*. 2015 Apr;31(4):423–34.
229. Hickel R, Roulet J-F, Bayne S, Heintze SD, Mjör IA, Peters M, et al. Recommendations for conducting controlled clinical studies of dental restorative materials. *Clin Oral Investig*. 2007 Mar;11(1):5–33.
230. Perdigão J. Dentin bonding as a function of dentin structure. *Dent Clin North Am*. 2002 Apr;46(2):277–301, vi.
231. Hatibovic-Kofman, S., El-Kassem, M., Inocencio, F., Selimovic, M., Raimundo, L. (2008). Evidence based effectiveness of pit and fissure sealants applied by students and paediatric dentists after five years. *Acta Stomatol Croat*, 42, 218-228.
232. Salz U, Bock T. Testing adhesion of direct restoratives to dental hard tissue - a review. *J Adhes Dent*. 2010 Oct;12(5):343–71.
233. Peumans M, De Munck J, Van Landuyt KL, Poitevin A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Eight-year clinical evaluation of a 2-step self-etch adhesive with and without selective enamel etching. *Dent Mater*. 2010 Dec;26(12):1176–84.
234. Araújo MSRG, Souza LC, Apolonio FM, Barros LO, Reis A, Loguercio AD, et al. Two-year clinical evaluation of chlorhexidine incorporation in two-step self-etch adhesive. *J Dent*. 2015 Jan;43(1):140–8.
235. Sadek FT, Goracci C, Cardoso PEC, Tay FR, Ferrari M. Microtensile bond strength of current dentin adhesives measured immediately and 24 hours after application. *J Adhes Dent*. 2005;7(4):297–302.
236. Sharafeddin F, Nouri H, Koohpeima F. The Effect of Temperature on Shear Bond Strength of Clearfil SE Bond and Adper Single Bond Adhesive Systems to Dentin. *J Dent (Shiraz, Iran)*. 2015 Mar;16(1):10–6.
237. Campos EA, Ardu S, Lefever D, Jassé FF, Bortolotto T, Krejci I. Marginal adaptation of class II cavities restored with bulk-fill composites. *J Dent*. 2014 May;42(5):575–81.
238. Soares LES, Campos ADF, Martin AA. Human and Bovine Dentin Composition and Its Hybridization Mechanism Assessed by FT-Raman Spectroscopy. *J Spectrosc*. 2013;2013:1–7.

239. Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. *J Dent Res*. 1983 Oct;62(10):1076–81.
240. Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A, Attin T. Is bovine dentine an appropriate substitute for human dentine in erosion/abrasion tests? *J Oral Rehabil*. 2008 May;35(5):390–4.
241. Rüttermann S, Braun A, Janda R. Shear bond strength and fracture analysis of human vs. bovine teeth. *PLoS One*. 2013;8(3):e59181.
242. Mitchem JC, Gronas DG. Effects of time after extraction and depth of dentin on resin dentin adhesives. *J Am Dent Assoc*. 1986 Aug;113(2):285–7.
243. Pashley EL, Tao L, Mackert JR, Pashley DH. Comparison of in vivo vs. in vitro bonding of composite resin to the dentin of canine teeth. *J Dent Res*. 1988 Feb;67(2):467–70.
244. Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e24-37.
245. Mobarak EH, El-Badrawy W, Pashley DH, Jamjoom H. Effect of pretest storage conditions of extracted teeth on their dentin bond strengths. *J Prosthet Dent*. 2010 Aug;104(2):92–7.
246. Titley KC, Chernecky R, Rossouw PE, Kulkarni G V. The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. *Arch Oral Biol*. 1998 Apr;43(4):305–11.
247. Tosun G, Şener Y, Şengün A. Kompozit rezinin mineye bağlanma dayanımı üzerine farklı saklama solüsyonlarının etkisi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2005;29(3):2-6.
248. Sandhu S V, Tiwari R, Bhullar RK, Bansal H, Bhandari R, Kakkar T, et al. Sterilization of extracted human teeth: A comparative analysis. *J oral Biol craniofacial Res*. 2012;2(3):170–5.
249. Ghavami-Lahiji M, Firouzmanesh M, Bagheri H, Jafarzadeh Kashi TS, Razazpour F, Behroozibakhsh M. The effect of thermocycling on the degree of conversion and mechanical properties of a microhybrid dental resin composite. *Restor Dent Endod*. 2018 May;43(2):e26.
250. Santerre JP, Shajii L, Leung BW. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2001;12(2):136–51.
251. Feitosa VP, Pomacóndor-Hernández C, Ogliari FA, Leal F, Correr AB, Sauro S. Chemical interaction of 10-MDP (methacryloyloxy-decyl-dihydrogen-phosphate) in zinc-doped self-etch adhesives. *J Dent*. 2014 Mar;42(3):359–65.

252. Van Meerbeek B, Vargas S, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P et al. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Operative Dentistry* 2001;6:119-144.
253. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent.* 1997 Sep;25(5):355–72.
254. Torneck C.D. Dentin Pulp Complex. In: Ten Cate, A.R. *Oral Histology. Development, Structure and Function.* Mosby, St. Louis, 1998; 150-196. In.
255. Şengün A, Yalçın M, Kocabaşoğlu A. Yedinci Jenerasyon Adeziv Sistemlerin Dentine Makaslama Bağlanma Dayanımlarının Karşılaştırılması. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekim Fakültesi Derg.* 2009;19(3):156-160.
256. Yoshikawa T, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Pashley DH. Effects of dentin depth and cavity configuration on bond strength. *J Dent Res.* 1999 Apr;78(4):898–905.
257. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater.* 2005 Sep;21(9):864–81.
258. Eren D, Bektaş ÖÖ, Siso SH. Three different adhesive systems; three different bond strength test methods. *Acta Odontol Scand.* 2013;71(3–4):978–83.
259. Knobloch LA, Gailey D, Azer S, Johnston WM, Clelland N, Kerby RE. Bond strengths of one- and two-step self-etch adhesive systems. *J Prosthet Dent.* 2007 Apr;97(4):216–22.
260. Marchesi G, Frassetto A, Visintini E, Diolosà M, Turco G, Salgarello S, et al. Influence of ageing on self-etch adhesives: one-step vs. two-step systems. *Eur J Oral Sci.* 2013 Feb;121(1):43–9.
261. Martos R, Szalóki M, Gáll J, Csík A, Hegedűs C. Comparative Analysis of Bond Strength Durability of 10-Methacryloyloxydecyl Dihydrogen Phosphate-Containing Adhesives on a Low-Viscosity Bulk-Fill Composite Surface. *J Adhes Dent.* 2022 Nov 28;24(1):427–34.
262. Sanon K, Tichy A, Thanatvarakorn O, Prasansuttiorn T, Yonekura K, Hosaka K, et al. Application of Sulfinate Agent in Conjunction with HOCl Smear-Layer Deproteinization Improves Dentin Bonding Durability of One-step Self-etch Adhesives. *J Adhes Dent.* 2022 Apr 14;24(1):223–32.
263. Beloica M, Goracci C, Carvalho CA, Radovic I, Margvelashvili M, Vulicevic ZR, et al. Microtensile vs microshear bond strength of all-in-one adhesives to unground enamel. *J Adhes Dent.* 2010 Dec;12(6):427–33.
264. Soares CJ, Pereira CA, Pereira JC, Santana FR, do Prado CJ. Effect of chlorhexidine application on microtensile bond strength to dentin. *Oper Dent.* 2008;33(2):183–8.

265. Arigbede AO, Baroudi K, Watts DC. Microhardness and depth of cure of a spectrum of light-cure composite resins: a comparative study. *Niger Postgrad Med J*. 2010 Dec;17(4):277–82.
266. Sharma V, Rampal P, Kumar S. Shear bond strength of composite resin to dentin after application of cavity disinfectants - SEM study. *Contemp Clin Dent*. 2011 Jul;2(3):155–9.
267. Abuna G, Feitosa VP, Correr AB, Cama G, Giannini M, Sinhoreti MA, et al. Bonding performance of experimental bioactive/biomimetic self-etch adhesives doped with calcium-phosphate fillers and biomimetic analogs of phosphoproteins. *J Dent*. 2016 Sep;52:79–86.
268. Li Z, Ren Q, Han S, Ding L, Qin X, Hu D, et al. Promoting effect of a calcium-responsive self-assembly β -sheet peptide on collagen intrafibrillar mineralization. *Regen Biomater*. 2022;9:rbac059.
269. Yucesoy DT, Fong H, Hamann J, Hall E, Dogan S, Sarikaya M. Biomimetic Dentin Repair: Amelogenin-Derived Peptide Guides Occlusion and Peritubular Mineralization of Human Teeth. *ACS Biomater Sci Eng*. 2023 Mar 13;9(3):1486–95.
270. Wang Y, Spencer P. Quantifying adhesive penetration in adhesive/dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res*. 2002 Jan;59(1):46–55.
271. Kranz S, Heyder M, Mueller S, Guellmar A, Krafft C, Nietzsche S, et al. Remineralization of Artificially Demineralized Human Enamel and Dentin Samples by Zinc-Carbonate Hydroxyapatite Nanocrystals. *Mater (Basel, Switzerland)*. 2022 Oct 14;15(20).
272. Aruna Rani SV, Rajkumar K, Saravana Karthikeyan B, Mahalaxmi S, Rajkumar G, Dhivya V. Micro-Raman spectroscopy analysis of dentin remineralization using eggshell derived nanohydroxyapatite combined with phytosphingosine. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2023 May;141:105748.
273. Chen C, Mao C, Sun J, Chen Y, Wang W, Pan H, et al. Glutaraldehyde-induced remineralization improves the mechanical properties and biostability of dentin collagen. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016 Oct 1;67:657–65.
274. Van Noort R, Noroozi S, Howard IC, Cardew G. A critique of bond strength measurements. *J Dent*. 1989 Apr;17(2):61–7.
275. Fowler CS, Swartz ML, Moore BK, Rhodes BF. Influence of selected variables on adhesion testing. *Dent Mater*. 1992 Jul;8(4):265–9.
276. McDonough WG, Antonucci JM, He J, Shimada Y, Chiang MYM, Schumacher GE, et al. A microshear test to measure bond strengths of dentin-polymer interfaces. *Biomaterials*. 2002 Sep;23(17):3603–8.

277. Perinka L, Sano H, Hosoda H. Dentin thickness, hardness, and Ca-concentration vs bond strength of dentin adhesives. *Dent Mater.* 1992 Jul;8(4):229–33.
278. Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Oper Dent.* 1994;19(2):59–64.
279. Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. The influence of cross-sectional shape and surface area on the microtensile bond test. *Dent Mater.* 1998 Jun;14(3):212–21.
280. ISO Standards. Technical specification ISO/TS 11405. Dental materials – testing of adhesion to tooth structure. Switzerland: 2015.
281. Liang K, Weir MD, Reynolds MA, Zhou X, Li J, Xu HHK. Poly (amido amine) and nano-calcium phosphate bonding agent to remineralize tooth dentin in cyclic artificial saliva/lactic acid. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017 Mar 1;72:7–17.
282. Tay FR, Pashley DH. Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine. *Biomaterials.* 2008 Mar;29(8):1127–37.
283. Kim YK, Mai S, Mazzoni A, Liu Y, Tezvergil-Mutluay A, Takahashi K, et al. Biomimetic remineralization as a progressive dehydration mechanism of collagen matrices – Implications in the aging of resin–dentin bonds. *Acta Biomater.* 2010 Sep;6(9):3729–39.
284. Reis A, Grandi V, Carlotto L, Bortoli G, Patzlaff R, Rodrigues Accorinte M de L, et al. Effect of smear layer thickness and acidity of self-etching solutions on early and long-term bond strength to dentin. *J Dent.* 2005 Aug;33(7):549–59.
285. Triolo PT, Swift EJ. Shear bond strengths of ten dentin adhesive systems. *Dent Mater.* 1992 Nov;8(6):370–4.
286. Mason PN, Ferrari M, Cagidiaco MC, Davidson CL. Shear bond strength of four dentinal adhesives applied in vivo and in vitro. *J Dent.* 1996 May;24(3):217–22.
287. Ünlü, N., Ali, R. Ç., Mehmet, A. C., Özgür, G. (2010). Güncel self etch ve total etch adezivlerin çürükten etkilenmiş dentine bağlanma dayanımları. *J Dent Fac Atatürk Uni*, 20(3), 162-169.
288. Atsu SS, Kilicarslan MA, Kucukesmen HC, Aka PS. Effect of zirconium-oxide ceramic surface treatments on the bond strength to adhesive resin. *J Prosthet Dent.* 2006 Jun;95(6):430–6.
289. Zheng P, Zaruba M, Attin T, Wiegand A. Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin. *Oper Dent.* 2015;40(1):80–6.

290. Francisconi-dos-Rios LF, Calabria MP, Casas-Apayco LC, Honório HM, Carrilho MRDO, Pereira JC, et al. Chlorhexidine does not improve but preserves bond strength to eroded dentin. *Am J Dent*. 2015 Feb;28(1):28–32.
291. Gunaydin Z, Yazici AR, Cehreli ZC. In Vivo and In Vitro Effects of Chlorhexidine Pretreatment on Immediate and Aged Dentin Bond Strengths. *Oper Dent*. 2016;41(3):258–67.



8. EKLER

EK 1. ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 46418926
Konu : Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Kararları

28.12.2022

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

TOPLANTI TARİHİ : 28.12.2022
TOPLANTI SAATİ : 13:30 (Covid-19 tedbirleri kapsamında toplantı online yapılmıştır.)
TOPLANTI NO : 2022/11
PROJE/ KARAR NO : 2022-336 (Değerlendirilme Tarihi: 22.11.2022-28.12.2022)

Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalında görevli Dr. Öğr. Üyesi Cenkhan BAL'ın sorumlu araştırmacı, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa GÜNGÖRMÜŞ ve Dt. Ezgi AYDIN VAROL'un yardımcı araştırmacı oldukları, 2022/336 kayıt numaralı, **"Süt Dişi Dentinine Bağlanma Öncesi Peptit Uygulanmasının Adezyona Uzun Dönem Etkilerinin İn Vitro Ortamda İncelenmesi"** başlıklı doktora tezi proje önerisi, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur. Rica ederim.

Sıra No	Unvanı ve Adı/Soyadı	Kuruldaki Görevi	İmza
1	Prof. Dr. Ahmet COŞAR	Başkan	
2	Prof. Dr. Alper GÖZÜBÜYÜK	Başkan Yardımcısı	
3	Prof. Dr. Selahattin BEDİR	Üye	
4	Prof. Dr. Levent KENAR	Üye	
5	Prof. Dr. Yusuf İZCI	Üye	
6	Prof. Dr. Ali Kağan COŞKUN	Üye	
7	Prof. Dr. Cantürk TAŞCI	Üye	
8	Prof. Dr. Necmiye Ün YILDIRIM	Üye	
9	Prof. Dr. Fulya TOKSOY	Üye	
10	Prof. Dr. Ayten TÜRKKANI	Sekreter	
11	Prof. Dr. Gülten GÜVENÇ	Üye	
12	Prof. Dr. Dilek YILDIZ	Üye	
13	Prof. Dr. Türkan YILDIRIM	Üye	
14	Prof. Dr. Eda PURUTÇUOĞLU	Üye	
15	Doç. Dr. Mehmet Erhan YUMUŞAK	Üye	
16	Doç. Dr. Umut BEYLİK	Üye	
17	Doç. Dr. Serkan PEKÇETİN	Üye	
18	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa GÜNEY	Üye	
19	Dr. Öğr. Üyesi Emay Serdar YURDAKUL	Üye	

EK 2. ETİK GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır. Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar (Dt. Ezgi AYDIN) tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** Süt Dişi Dentinine Bağlanma Öncesi Peptit Uygulanmasının Adezyona Uzun Dönem Etkilerinin İn Vitro Ortamda İncelenmesi
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Dolgunun dişe tutunabilmesi için çekilmiş süt dişlerinin üzerinde yapılacak klinik prosedür.
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Dr. Öğr. Üyesi Cenkhan Bal – Gülhane Sağlık Bilimleri Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı
- **Araştırmanın amacı:** Süt dişlerinde bağlanma öncesi remineralizasyon ajanları ve peptit uygulaması ile bağlanmanın uzun dönem değerlendirilmesi
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Laboratuvar çalışması
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** 21.12.2022 – 6 ay
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 120
- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Çalışmanın çekim endikasyonu konulan süt dişleri üzerinde yapılması planlanması nedeniyle katılımcılar çalışmaya dahil edilmektedir.
- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** “Süt dişi dentinine bağlanma öncesi peptit uygulanmasının adezyona uzun dönem etkilerinin in vitro ortamda incelenmesi” isimli çalışmanın değerlendirilmesi ile süt dişlerinde kullanılan bağlanma öncesi uygulanan peptit ajanının etkinliği araştırılmış olacaktır.
- **Gönüllünün sorumlulukları:** Gönüllünün herhangi bir sorumluluğu bulunmamaktadır.
- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Çalışmaya katılmanın herhangi bir olası riski bulunmamaktadır.
- **Risklere karşı alınan önlemler:** Çalışmaya katılmanın herhangi bir olası riski bulunmamaktadır
- **Gönüllüye alternatif olarak uygulanabilecek olan diğer yöntemler ve bunların olası yarar ve zararları:** Gönüllüye alternatif olarak başka bir yöntem uygulanmayacaktır ve çalışmaya katılmanın herhangi bir olası riski bulunmamaktadır.
- **Araştırmaya bağlı olarak bir zarar oluştuğunda verilecek tazminat ve sağlanacak tedaviler:** Araştırmaya bağlı herhangi bir zarar oluşmayacaktır.
- **Gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler:** Gönüllülere herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Gönüllünün rızası olmaması durumunda gerekçe belirtmeksizin çalışmaya katılımı sona erdirilebilir.
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilmeyecektir.
- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:** Ezgi Aydın, SBÜ Gülhane Dış Hekimliği Fakültesi Çocuk Dış Hekimliği AD Telefon: 0312 304 60 45
- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** Gönüllülerden elde edilecek biyolojik materyaller çalışmamızda bağlanma öncesi peptit uygulamasının bağlanmaya etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılacaktır.
- **Gönüllülerden elde edilecek biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için onay:**

“Süt Dişi Dentinine Bağlanma Öncesi Peptit Uygulanmasının Adezyona Uzun Dönem Etkilerinin İn Vitro Ortamda İncelenmesi” araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar, vb...);

- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ Hiçbirkoşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya dabağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum. Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediyimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.

Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu’nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanmayacağı; araştırma sonuçlarının bilimsel toplantılarda sunulabileceği yada yayınlanabileceği, ancak, bu tür durumlarda kimliğimin kesin olarak gizli tutulacağı bana açıklandı.

Araştırma konusuyla ilgili olarak, çalışmaya devam etme isteğimi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde bana ya da yasal temsilcime zamanında bilgilendirme yapılacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

• **Gönüllünün; (El yazısı ile)**

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

Tarih:

• **Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)**

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

Tarih:

• **Açıklamaları yapan araştırmacının**

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:İmzası:Tarih:

8. ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Ezgi AYDIN VAROL

II. Eğitimi

2020-2023 : SBÜ Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi

2013-2018 : Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

2009-2012 : Kırkkonaklar Anadolu Lisesi

2000-2008 : Ziraat Mühendisleri İlköğretim Okulu

III. Ünvanları

Diş Hekimi : 2018-2023

IV. Mesleki Deneyimi

2018-2023 : Diş Hekimi

2020-2023 : Doktora Öğrencisi