

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

ÇEŞİTLİ HASSASİYET GİDERİCİ YÖNTEMLERİN
UYGULANDIĞI DENTİN YÜZEYLERİNİN
PÜRÜZLÜLÜĞÜNÜN, GEÇİRGENLİĞİNİN VE BAKTERİ
ADEZYONUNUN İNCELENMESİ

Kaan YILMAZ

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ayşe DÜNDAR

2021-ANTALYA

ONAY SAYFASI

Kaan YILMAZ tarafından sunulan bu çalışma jürimiz tarafından **oy birliği/oy çokluğu** ile Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

.../...../.....

İmza

Üye : Doç. Dr. Ayşe DÜNDAR

(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

Üye : Doç. Dr. Osman Tolga HARORLI

(Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

Üye : Doç. Dr. Nazmiye DÖNMEZ

(Bezmialem Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

Bu tez, .../...../..... tarih ve/..... sayılı Yönetim Kurulu kararıyla belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Diş Hekimliği Fakültesi

Kurum Yöneticisi

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Kaan YILMAZ

İmza

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Ayşe DÜNDAR

İmza

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, tez çalışmamda ve eğitimimde büyük emeği bulunan, anlayış ve hoşgörüsünü daima hissettiğim değerli danışman hocam Doç. Dr. Ayşe DÜNDAR'a,

Değerli bilgilerini her zaman benimle paylaşan, tez çalışmamın planlanmasında ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Çağatay BARUTÇUGİL'e,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgisi, mesleki tecrübeleri ve insani değerlerinden yararlanma fırsatı bulduğum değerli hocam Doç. Dr. Osman Tolga HARORLI'ya,

Yürütülen çalışmanın mikrobiyolojik değerlendirme kısmının gerçekleştirilmesindeki yardımlarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Özlem KOYUNCU ÖZYURT'a,

Burada olmaktan mutluluk duyduğum ve birlikte çok güzel bir asistanlık dönemi geçirdiğimiz çalışma arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında ve her konuda destekleriyle yanımda olan ve bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

ÇEŞİTLİ HASSASİYET GİDERİCİ YÖNTEMLERİN UYGULANDIĞI DENTİN YÜZEYLERİNİN PÜRÜZLÜLÜĞÜNÜN, GEÇİRGENLİĞİNİN VE BAKTERİ ADEZYONUNUN İNCELENMESİ

Amaç: Bu çalışmanın amacı çeşitli hassasiyet giderici yöntemlerin uygulandığı dentin yüzeylerinin pürüzlülüğünü, geçirgenliğini ve bakteri adezyonunu *in vitro* olarak değerlendirmektir.

Yöntem: Bu çalışmada %5 NaF (NaF, Enamelast fluoride vernik, Ultradent, ABD), CPP-ACP (MI Paste plus, GC Corporation, Tokyo, Japonya), Er,Cr:YSGG lazer (Waterlase, Biolase, Kaliforniya, ABD) ve diod lazer (Biolase, Kaliforniya, ABD) kombine şekillerde kullanılmıştır. Yeni çekilmiş sıgır kesici dişlerinin kök dentinlerinin bukkal kısımlarından yüz sekiz adet 5×5×3 mm büyüklüğünde dentin blokları hazırlanmış ve bu bloklar uygulanan hassasiyet giderici yönteme göre dokuz gruba ayrılmıştır. Yüzey pürüzlülüğü (SR) bir profilometre ile ölçülmüştür. Pelikül elde etmek için dentin örnekleri yapay tükürük ve müsin ile kaplanmıştır. Pelikül ile kaplanmış numunelere *S. mutans* ve *S. mitis* süspansiyonları ilave edilmiştir. Bakteriyel süspansiyonlar, 37°C'de %5 CO₂ atmosferinde 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Bakteri sayıları ×10⁸ ml CFU/ml olarak belirlenmiştir. Konfokal lazer taramalı mikroskop kullanılarak bakteri adezyonları görüntülenmiştir. Dentin geçirgenliği ise SEM ile görüntülemenin ardından Image J programı kullanılarak belirlenmiştir. İstatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve Tukey HSD çoklu karşılaştırmaları kullanılarak yapılmıştır (p = 0,05).

Bulgular: Herhangi bir hassasiyet giderici yöntem uygulanmayan kontrol grubu en düşük SR değerlerini göstermiştir (p<0,05). CPP-ACP+Er,Cr:YSGG ve CPP-ACP+Diod grupları hariç, bütün grupların yüzey pürüzlülüğü değişimi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazladır (p<0,05). Fakat bakteri adezyonu açısından numuneler üzerindeki hem *S. mutans* hem de *S. mitis* sayısında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (p<0,05). Bütün gruplar açık dentin tübülü sayısı ve çapını anlamlı derecede azaltmıştır (p<0,05).

Sonuç: CPP-ACP+Er,Cr:YSGG ve CPP-ACP+Diod grupları hariç hassasiyet giderici bütün yöntemlerin daha fazla yüzey pürüzlülüğü oluşturduğu, bununla birlikte yüzey pürüzlülük

değişiminin fazla olmasının *S. mutans* ve *S. mitis* adezyonunda gruplar arasında anlamlı bir farklılık oluşturmadığı gözlenmiştir. Ayrıca uygulanan bütün hassasiyet giderici yöntemler açık dentin tübülü sayısı ve çapı bakımından kontrol grubuna kıyasla farklılıklar göstererek, dentin geçirgenliği konusunda etkinlik göstermişlerdir.

Anahtar Kelimeler: dentin hassasiyeti, yüzey pürüzlülüğü, bakteri adezyonu, dentin geçirgenliği.



ABSTRACT

INVESTIGATION OF ROUGHNESS, PERMEABILITY, AND BACTERIAL ADHESION OF DENTIN SURFACES TREATED WITH DIFFERENT DESENSITIZATION METHODS

Objective: The aim of this study is to evaluate the roughness, permeability and bacterial adhesion of dentin surfaces on which various desensitizing methods are applied *in vitro*.

Method: In this study, 5% NaF (NaF, Enamelast fluoride varnish, Ultradent, USA), CPP-ACP (MI Paste plus, GC Corporation, Tokyo, Japan), Er,Cr:YSGG laser (Waterlase, Biolase, California, USA) and diode laser (Biolase, California, USA) were used in combined forms. One hundred and eight dentin blocks of 5×5×3 mm were prepared from the buccal parts of the root dentin of newly extracted bovine incisors, and these blocks were divided into nine groups according to the desensitization method applied. Surface roughness (SR) was measured with a profilometer. To produce pellicle, dentin samples were coated with artificial saliva and mucin. *S. mutans* and *S. mitis* suspensions were added to the samples coated with pellicle. Bacterial suspensions were incubated at 37°C in an atmosphere of 5% CO₂ for 24 hours. Bacterial counts were determined as ×10⁸ ml CFU/ml. Bacterial adhesions were visualized using a confocal laser scanning microscope. Dentin permeability was determined using Image J program after imaging with SEM. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA and Tukey HSD multiple comparisons ($p = 0.05$).

Results: The control group, which did not apply any desensitizing method, showed the lowest SR values ($p < 0.05$). Except for the CPP-ACP+Er,Cr:YSGG and CPP ACP+Diode groups, the surface roughness change of all groups was statistically significantly higher than the control group ($p < 0.05$). However, in terms of bacterial adhesion, there was no significant difference between the groups in the numbers of both *S. mutans* and *S. mitis* on the samples ($p < 0.05$). All groups significantly reduced the number and diameter of open dentinal tubules ($p < 0.05$).

Conclusion: Except for the CPP-ACP+Er,Cr:YSGG and CPP-ACP+Diode groups, it was observed that all groups have significantly higher surface roughness, however, higher surface roughness did not create a significant difference between the groups in the adhesion of *S. mutans* and *S. mitis*. In addition, all desensitizing methods applied showed differences in the

number and diameter of open dentinal tubules compared to the control group, and showed effectiveness in dentin permeability.

Key words: dentin sensitivity, surface roughness, bacterial adhesion, dentin permeability.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Dentinin Histolojik ve Fizyolojik Yapısı	2
2.2. Dentin Hassasiyeti	3
2.3. Dentin Hassasiyetinin Oluşum Teorileri	4
2.4. Dentin Hassasiyetinde Kullanılan Tedavi Yöntemleri	6
2.4.1. Sinir iletiminin durdurulması	7
2.4.2. Antienflamatuvar ajanlar	7
2.4.3. Dentin tübüllerini tıkayan ajanlar	8
2.4.4. Dentin tübüllerinin örtülmesi	11
2.4.5. Lazerler	11
2.5. Dentinin Yüzey Özelliklerinin Değerlendirilmesi	12
2.5.1. Yüzey pürüzlülüğü	12
2.5.2. Serbest yüzey enerjisi ve temas açısı	14
2.5.3. Elementel Analiz	15
2.6. Bakteri Adezyonu	16

2.6.1. Mikrobiyal Dental Plak	16
2.6.2. Biyofilm Analizleri	21
2.7. Tükürük	25
2.7.1. Tükürüğü Oluşturan Bileşenler	25
2.7.2. Yapay (Sentetik) Tükürük	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Dentin Örneklerinin Hazırlanması	28
3.2. Başlangıçtaki Yüzey Pürüzlülüklerinin Ölçülmesi	28
3.3. Deneysel Gruplar	29
3.4. Son Yüzey Pürüzlülüklerinin Ölçülmesi	31
3.5. Örnekler <i>S. mutans</i> ve <i>S. mitis</i> Bakterilerinin Adezyonunun Sağlanması	32
3.5.1. Yapay Tükürük Elde Edilmesi	32
3.5.2. Bakteri Süspansiyonu için Kullanılacak Karışımların Hazırlanması	33
3.5.3. Bakteri Süspansiyonun Hazırlanması	35
3.5.4. Örnekler Bakteri Adezyonunun Sağlanması	36
3.5.5. Örnekler Üzerindeki Bakteri Sayımının Yapılması	37
3.6. Örneklerin Üzerine Tutunan Bakterilerin Konfokal Lazer Taramalı Mikroskobu ile Görüntülenmesi	38
3.6.1. Floresan Boyanın Hazırlanması ve Örneklerin Boyanmasının Sağlanması	39
3.6.2. Görüntü Analizinin Yapılması	40
3.7. Örneklerin Dentin Geçirgenliklerinin Ölçülmesi	40
3.8. Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi İçin İstatistiksel Analizlerin Yapılması	41
4. BULGULAR	41
4.1. Yüzey Pürüzlülüğü Bulguları	41
4.2. Bakteri Adezyonu Bulguları	43

4.3. Dentin Geçirgenliği Bulguları	45
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ	60
KAYNAKLAR	61



SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklama
cm ²	Santimetre kare
°C	Santigrat derece
kV	Kilovolt
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mmol	Milimol
nm	Nanometre
s	Saniye
W	Watt
μ	Mikron
μl	Mikrolitre
θ	Temas açısı
%	Yüzde
γ^{tot}	Total serbest yüzey enerjisi
γ^{d}	Dispersive bileşen
γ^{p}	Polar bileşen
Kısaltmalar	Açıklama
A-δ	A delta
A-β	A beta

AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
ark.	Arkadaşları
ATP	Adenosin trifosfat
BHI	Brain heart infüsiön
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
CFU	Koloni oluşturma birimi
CLSM	Konfokal lazer taramalı mikroskop
CO ₂	Karbondioksit
CPP-ACP	Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ECM	Ekstrasellüler matriks
EDS	Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EPS	Ekstrasellüler polisakkarit
Er,Cr:YSGG Garnet	Erbium Chromium Doped: Yttrium Scandium
Er:YAG	Erbium-Doped Yttrium Aluminium Garnet
FTIR	Fourier Transform Infra-Red
H ₃ PO ₄	Fosforik asit
Ho:YAG	Holmium Yttrium Aluminium Garnet
Ig A	İmmunoglobulin A
KCl	Potasyum klorür
MgCl ₂ (6H ₂ O)	Magnezyum klorit hekhahidrat
NaCl	Sodyum klorür

NaF	Sodyum florür
NaOH	Sodyum hidroksit
Nd:YAG	Neodymum: Yttrium-Aluminum-Garnet
NMR	Nükleer manyetik rezonans
PBS	Fosfat tamponlu tuz
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asid
rRNA	Ribozomal Ribonükleik asid
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SFE	Serbest yüzey enerjisi
SR	Yüzey pürüzlülüğü
S. anginosus	Streptococcus anginosus
S. bovis	Streptococcus bovis
S. downei	Streptococcus downei
S. mitis	Streptococcus mitis
S. mutans	Streptococcus mutans
S. oralis	Streptococcus oralis
S. salivarius	Streptococcus salivarius
S. sanguis	Streptococcus sanguis
XPS	X-ışını fotoelektron spektroskopisi

ŞEKİLLER

Şekil 3.2.1. Çalışmada kullanılan EDTA jel

Şekil 3.2.2. Çalışmada kullanılan profilometre cihazı ile yüzey pürüzlülüklerinin ölçülmesi

Şekil 3.3.1 A) Çalışmada kullanılan NaF verniği

Şekil 3.3.1 B) Çalışmada kullanılan CPP-ACP ajan

Şekil 3.3.1 C) Çalışmada kullanılan Er,Cr:YSGG lazer

Şekil 3.3.1 D) Çalışmada kullanılan diod lazer

Şekil 3.5.1. Yapay tükürüğün manyetik karıştırıcıda karıştırılması

Şekil 3.5.2. Hazırlanan yapay tükürüğün otoklavda steril edilmesi

Şekil 3.5.3. Hazırlanan PBS Süspansiyonu

Şekil 3.5.4. Hazırlanan BHI Süspansiyonu

Şekil 3.5.5. Hazırlanan koyun kanlı agar ve bakteri süspansiyonları

Şekil 3.5.6. BHI besiyeri ilave edilen örnekler

Şekil 3.5.7. Etüvde bekletilen örnekler

Şekil 3.5.8. Örneklerin vortekslenmesi

Şekil 3.5.9. Mikroplatelere bakteri eklenmesi

Şekil 3.5.10. Mikroplatelerin okuyucuya yerleştirilmeleri

Şekil 3.6.1. Örneklerin steril serum fizyolojik ile yıkanması

Şekil 3.6.2. Görüntülemeye kullanılan konfokal lazer taramalı mikroskobu

Şekil 3.7.1. Dentin tübül açıklıklarındaki morfolojik değişiklikleri incelemek için her bir grubun dentin örneğinden $\times 2000$ büyütmede alınan SEM görüntüleri üzerinden, açık dentin tübülü sayısı ve açık dentin tübülü çaplarının Image J programıyla analizinin temsili bir görüntüsü.

Şekil 4.1.1. Yüzey pürüzlülüğü değişiminin (Ra) ortalama değerleri

Şekil 4.2.1. *S. mutans* adezyonu yapılmış her bir grubun dentin örneğinden alınan temsili CLSM görüntüleri. Görüntüler kontrol (A), NaF (B), CPP-ACP (C), Er,Cr:YSGG (D), Diod

(E), NaF+Er,Cr:YSGG (F), CPP-ACP+ Er,Cr:YSGG (G), NaF+Diod (H) ve CPP-ACP+Diod (I) gruplarını temsil etmektedir.

Şekil 4.2.2. *S. mitis* adezyonu yapılmış her bir grubun dentin örneğinden alınan temsili CLSM görüntüleri. Görüntüler kontrol (A), NaF (B), CPP-ACP (C), Er,Cr:YSGG (D), Diod (E), NaF+Er,Cr:YSGG (F), CPP-ACP+ Er,Cr:YSGG (G), NaF+Diod (H) ve CPP-ACP+Diod (I) gruplarını temsil etmektedir.

Şekil 4.3.1. Image J programıyla açık dentin tübülü sayıları ve tübül çapları hesaplanan numunelerin temsili SEM görüntüleri. Görüntüler; kontrol (A), NaF (B), CPP-ACP (C), Er,Cr:YSGG (D), Diod (E), NaF+Er,Cr:YSGG (F), CPP-ACP+ Er,Cr:YSGG (G), NaF+Diod (H) ve CPP-ACP+Diod (I) gruplarını temsil etmektedir.

Şekil 4.3.2. Açık dentin tübülü sayısının ortalama değerleri

Şekil 4.3.3. Açık dentin tübülü çapının ortalama değerleri

TABLÖLAR

Tablo 2.5.1. Yüzey ölçümünde kullanılan parametreler

Tablo 4.1.1. Yüzey pürüzlülüğü değişiminin (Ra) ortalama ve standart sapma değerleri

Tablo 4.1.2. Yüzey pürüzlülüğü değişiminin (Ra) ortalama ve standart sapma değerleri

Tablo 4.2.1. *S. mutans* ve *S. mitis* adezyonu ortalama ve standart sapma değerleri

Tablo 4.3.1. Açık dentin tübülü sayısı ile açık dentin tübülü çapı ortalama ve standart sapma değerleri



1. GİRİŞ

Dentin hassasiyeti fiziksel, kimyasal ve termal uyarılara karşı kısa süreli, keskin bir ağrı ile karakterize klinik bir durumdur ^(1,2). Dentin hassasiyetine genellikle dişeti çekilmeleriyle açıkta kalan sement tabakasının kaybı ve mine erozyonu neden olmaktadır ⁽³⁾. Dentin hassasiyetine neden olan temel faktör dişeti çekilmesidir ⁽³⁻⁶⁾.

Dişeti çekilmesinin etiyolojisinde yaş, alveol kemiğindeki dehisens ve fenestrasyonlar, dişlerin malpozisyonu ve periodontal cerrahi gibi etkenler rol oynamaktadır ⁽⁷⁾. Dişeti dokusu çekildiğinde, fiziksel kuvvetler ve/veya kimyasal yollar ile sement tabakası kolaylıkla uzaklaşarak alttaki dentin tabakasının açığa çıkmasına neden olur ⁽⁵⁾.

Bunların dışında parafonksiyonel aktiviteyle ilişkili atrizyon, besin maddelerine bağlı abrazyon, sert ve hatalı fırçalama, çevresel nedenler ya da asitli besinlerin neden olduğu mine erozyonu hassasiyet meydana getirebilmektedir ⁽⁸⁾.

Hassasiyet oluşum mekanizmaları arasında günümüzde kabul gören hidrodinamik teoridir ⁽⁹⁾. Bu teoriye göre dentin tübülleri içindeki sıvının hareketi ile dentin hassasiyeti meydana gelir ⁽⁹⁾. Dentin tübüllerindeki sıvı akış hızı termal, ozmotik, kimyasal herhangi bir uyarı sonrası değişerek, pulpanın dış sınırında yer alan ve ani basınç değişikliklerine duyarlı olan sinir liflerinin uyarılmasına neden olur ve keskin bir ağrı oluşur ⁽⁹⁾.

Dentin hassasiyeti tedavisinde kullanılan hassasiyet giderici ajanların etki mekanizması iki farklı şekilde özetlenebilir. Bunlar; dentin tübüllerinin tıkanarak sıvı hareketinin engellenmesinin sağlanması ve duyu sinirlerinin duyarlılığının azaltılarak uyarana verilen cevabın değiştirilmesidir ⁽¹⁰⁾. Sıklıkla dentin hassasiyeti tedavisinde kullanılan ajanlar: Dentin tübüllerini tıkayan ajanlar (kalsiyum hidroksit, sodyum florür, formaldehit, gluteraldehit) ve antienflamatuvar ajanlar (kortikosteroidler) gibi kimyasal ajanların yanı sıra dentin tübüllerini örten ajanlar (kompozitler, rezinler, cilalar, simanlar) ile lazerler gibi fiziksel ajanlardır ⁽⁷⁾.

Grossman ⁽¹¹⁾ 1935 yılında, dentin hassasiyeti tedavisinde kullanılan ajanların taşınması gereken özellikleri belirtmiştir. Günümüzde de geçerliliğini koruyan bu özelliklere göre: tedavi ajanı pulpayı irrite etmemeli, uygulama sırasında ağrıya neden olmamalı, kolay uygulanabilir olmalı, hızlı etki edebilmeli, etkisi uzun sürebilmeli, çevre dokuları boyayıcı etkisi olmamalı ve tedavi etkinliğini korumalıdır ⁽¹²⁾. Günümüzde pek çok tedavi ajanı bu özelliklerin tamamını veya birkaçını dahi yerine getirmekte yetersiz kalmıştır ⁽¹²⁾. Ancak lazerler dentin hassasiyeti tedavisinde umut vadeden tedavi metodları olarak karşımıza çıkmaktadır. Helium-Neon (He-

Ne), Diod, Neodymum: Yttrium-Aluminum-Garnet (Nd:YAG), Karbon dioksit (CO₂), Er:YAG, Erbium Chromium Doped: Yttrium Scandium and Garnet (Er,Cr:YSGG) gibi lazer sistemleri dentin hassasiyeti tedavisinde literatürde sıklıkla kullanılan yöntemlerden olmuştur ⁽¹²⁾.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dentinin Histolojik ve Fizyolojik Yapısı

Dentin, kron yüzeyinde mineyle kök yüzeyinde ise sement dokusu ile pulpa dokusu arasında bulunan ve dişin temel kütlesini oluşturan, dişe şeklini veren mineralize, elastik, sarı-beyaz renkte, avasküler, sert ve ışığı yarı geçirgen özelliğe sahip mezoderm kökenli bir dokudur. Diş kronu bölgesinde inorganik bileşen oranı yüksek olmasına rağmen kırılabilirliği yüksek olan ve gelen kuvvetlere karşı direnç gösteremeyen mine tabakasının deformasyonlara karşı koyabilmesi amacıyla destek görevi görmektedir ⁽¹³⁾. Dentin dokusu ağırlıkça %70 inorganik, %20 organik bileşenlerden ve %10 sudan meydana gelir. İnorganik bileşenler temel olarak hidroksiapatitten, organik bileşenler ise tip I kollajen, glikoproteinler, proteoglikanlar ve fosfoproteinlerden oluşur. Dişin gelişimi sırasında ‘primer dentin’ oluşur, kök gelişimi tamamlandıktan sonra ise ‘sekonder dentin’ oluşumu devam eder ⁽¹⁴⁾.

Dentin dokusunu meydana getiren odontoblast hücrelerinin gövdeleri pulpa-dentin sınırında bulunur. Tomes lifleri adı verilen hücre uzantıları ise mineralize dentin boyunca mine tabakasına doğru uzanan dentin tübülleri içerisinde devam eder ^(15, 16). Odontoblast uzantılarının içinde bulunduğu tübüller 2-3 µm genişliğindedir ve pulpadan başlayarak dentin-sement ve dentin-mine birleşimine doğru uzanırlar. Tübüllerin çapları pulpaya yaklaştıkça artarken, pulpadan uzaklaştıkça azalır ve 1 µm’a kadar incelir. Dentin tübülleri mine-dentin birleşiminden pulpaya doğru ‘S’ şeklinde uzanır ⁽¹⁴⁾.

Tübüllerin arasını dolduran dentin ‘intertübüler dentin’, tübüllerin iç duvarını oluşturan dentin ise ‘peritübüler dentin’ veya ‘intratübüler dentin’ olarak adlandırılır ⁽¹⁴⁾. Intertübüler dentin esas olarak 50 ile 100 nm çapında, tübüllere dik şekilde konumlanmış, gerilme direnci sağlayan mineralize kollajen fibrillerden oluşur ⁽¹⁴⁾.

Peritübüler dentin matriksi, intertübüler dentinden daha az sayıda kollajen fibril ve daha yoğun olarak sülfatlanmış proteoglikan ve mineral içerir. Bu yapısı asit atağı karşısında daha çabuk çözülmesine neden olmaktadır. Ayrıca restoratif işlemlerde uygulanan asitleme işlemi ve endodontik tedavi sırasında kullanılan etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), dentin tübül

ağızlarını genişleterek daha geçişgen bir dentin oluşturulmasına imkân sağlar ⁽¹⁴⁾. Bununla birlikte peritübüler dentin, intertübüler dentinden daha mineralize ve dolayısıyla daha serttir.

Dentin tübülleri pulpa içinde var olan kapiller damarlardan kaynaklanan dentin sıvısı içerir. Fish ⁽¹⁷⁾, 1927 yılında pulpa ve dentinin içinde var olan sıvıyı gözlemleyerek ‘dentin lenfi’ olarak isimlendirmiştir. Ishikawa ⁽¹⁸⁾, köpek dişlerinde dentin lenfi bulamamış fakat bu sıvının dentin tübül sıvısı ile devam ettiğini öne sürmüştür. Mineye yakın kısımlarda bu sıvı hacimsel olarak dentinin %1’ini oluştururken pulpaya yakın olan derin tabakalarda ise %22’ye kadar çıkabilmektedir.

Diş kronunun farklı bölgelerinde ve mine-dentin sınırından pulpaya doğru gidildikçe dentin tübüllerinin sayısı ve çapları değişir ⁽¹⁹⁾. Örneğin tübül sayısı mine-sement birleşiminin (MSB) dentine komşu yüzeyinde yaklaşık olarak 10.000 tübül/mm² iken pulpaya komşu kısımda 48.000 tübül/mm²’ye ulaşmaktadır ⁽²⁰⁾. Tübül çapları ise pulpal yüzeyde 2-3 µm iken mine-dentin birleşimine doğru 0,5-0,9 µm’ye iner ⁽²¹⁾. Hassasiyet olmayan dişlerle kıyaslandığında hassasiyet bulunan dişlerde bukkal servikal kısımdaki tübül sayısı 8 kat, tübül çapı 2 kat daha fazla bulunmuştur ⁽²²⁾. Bununla birlikte mine-sement bağlantısında sementin minenin üzerinde olması %60, uç uca yerleşimi %30, arada açıklık olması ise %10 oranındadır ⁽²³⁾. Sement ve mine tabakasının birleşmediği durumlarda anatomik olarak dentin hassasiyeti oluşma riski artabilmektedir ⁽²⁴⁾.

2.2. Dentin Hassasiyeti

Dentin hassasiyeti, dişte herhangi bir defekt ya da patoloji bulunmamasına rağmen tipik olarak termal, buharlaşma, dokunma, osmotik veya kimyasal uyarılara karşı artan ve uyaran geçtiğinde ortadan kalkan kısa süreli, keskin ve lokalize ağrıdır ^(1,2). Dentin hassasiyeti, benzer semptomlar gösteren diğer dental defektler veya patolojiler sonucu oluşan ağrılarla karıştırılmaması gereken bir durumdur. Görülme sıklığının %4-69 oranında değiştiği bildirilmektedir ⁽²⁵⁾. Kanin, I. premolar, anterior, II. premolar dişler sırasıyla en çok etkilenen dişlerdir ⁽²⁶⁾. Dentin, pulpaya yakın yapısal ve fonksiyonel ilişkisi nedeniyle doğal olarak belirli düzeyde hassasiyete sahiptir. Fakat diğer dokuların dentini örtmesi nedeniyle bu durum çoğunlukla problem oluşturmaz ⁽²⁷⁾. Dentin hassasiyetine çoğu zaman dişeti çekilmesi nedeniyle açığa çıkan sementin kaybı ve mine erozyonu neden olur. Dişeti çekilmesi, dentin hassasiyetinin en sık gözlenen nedenidir ^(4,6).

Ayrıca minerde madde kaybına ve buna bağlı olarak dentin tübüllerinin açığa çıkmasına sebep olan diğer nedenler ise:

Hatalı diş fırçalamadan kaynaklı abrazyon,

Parafonksiyonel alışkanlıklar,

Asitlerin neden olduğu erozyon,

Dişlerin köle bölgesindeki kama şeklinde defektler,

Vital pulpalı dişte yapılan kavite preparasyonu,

Yanlış uygulanan asitleme işlemidir ⁽²⁸⁾.

Dentin tabakası açığa çıkmış her hastada hassasiyet oluşmaz. Çünkü açığa çıkmış dentin alanının yüzeyi, periferdeki dentin oluşumu, dentin tabakasının kalınlığı hassasiyette önemli rol oynar. Aynı zamanda açığa çıkmış dentin kanallarının sayısı ve büyüklüğü de önemlidir. Hassasiyet olan dişlerde açığa çıkan tübül sayısı, hassasiyet olmayan dişlere göre 8 kat fazla; tübül çapı ise 2 kat daha geniştir ^(22,29). Hassasiyet semptomlarına sahip dişlerin %68'inde dişeti çekilmesi olduğu ve %25'inde atrizyon, abrazyon veya erozyon görüldüğü belirtilmiştir ⁽³⁰⁾. Dentin hassasiyeti ayrıca periodontal yumuşak doku kaybı, sement kaybı veya dişeti çekilmesi; kronik periodontitis, periodontal cerrahi, kötü alışkanlıklar (dişetini tırnakla itme vb.), ortodontik travma, dişlerin dental arktaki hatalı pozisyonları, hareketli parsiyel protez kroşeleri, yüksek frenulum ataçmanları, kötü kron ve dolgular ve yaşla birlikte artan dişeti çekilmeleri gibi nedenlerle de görülebilmektedir ⁽³¹⁾.

2.3. Dentin Hassasiyetinin Oluşum Teorileri

Dentin hassasiyetinde, uyarının dentin yolu ile aktarımını açıklamak üzere 3 farklı hipotez öne sürülmüştür ⁽³²⁾. Bunlar;

Odontoblastik Transdüksiyon Teorisi,

Nöral Teori,

Hidrodinamik Teori 'dir.

Odontoblastik Transdüksiyon Teorisi

Bu teoriye göre odontoblastların dentin tübülleri içerisindeki odontoblastik uzantılarının dentinde reseptör mekanizması olarak çalıştıkları kabul edilmektedir ^(31, 33). Odontoblastların uzantıları dentin yüzeyine açılmaktadır ve birçok kimyasal ve mekanik uyarıdan etkilenmektedir ^(34, 35). Bu teori “dental reseptör mekanizması” olarak da adlandırılır ⁽³¹⁾. Odontoblastik Transdüksiyon Teorisine göre kimyasal veya mekanik uyarılar nörotransmitterlerin salınımına neden olur ve uyarılar sinir uçlarına iletilir.

Günümüzde ise odontoblastik uzantıların nörotransmitter salınımı yaptığına dair hiçbir kanıt bulunamamıştır ⁽³³⁾. Bu teoriye göre dentin içindeki odontoblastlar uzaklaştırıldığında dentinin de hissizleşmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalar dentinin odontoblast tabakası uzaklaştırıldığında dentinin hissizleşmediğini, hassasiyetin daha da arttığını göstermiştir ⁽³⁶⁾. Elektron mikroskobu incelemelerinde de odontoblastların reseptör görevi görmesi için gerekli özelliklere sahip olmadıkları belirtilmiştir ⁽³⁷⁾.

Nöral Teori

Odontoblast aktarım teorisinin bir uzantısı olarak kabul gören bu teoriye göre termal, kimyasal veya mekanik uyarılara karşı, doğrudan pulpa içerisindeki sinir lifleriyle ilişkili olan ve dentin tübüllerinin içinde yer alan afferent (uyarı getirici) sinir uçlarının uyarılması sonucu ağrı oluştuğu öne sürülmüştür ⁽³³⁾.

Kök dentininin dış tabakalarında miyelinsiz sinir liflerinin olduğunun gösterilmesi ⁽³⁸⁾ ve bu sinir sonlanma alanlarında nörojenik polipeptitlerin bulunması ⁽³⁹⁾ bu teoriyi desteklese de konuyla alakalı kesin sonuçlar yoktur ve bu teori günümüzde kabul görmemektedir.

Hidrodinamik Teori

Dentin hassasiyetini açıklamada en çok kabul gören hipotez hidrodinamik teoridir. Bu teori ilk kez 1900 yılında Gysi ⁽⁴⁰⁾ tarafından öne sürülmüştür. 1960’lı yıllarda Brannstrom ve ark. ⁽⁹⁾ Gysi’nin hipotezi üzerinde çalışmış ve dentin hassasiyetinin hidrodinamik mekanizma ile oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Bu teoriye göre farklı uyarılar dentin tübülleri içerisindeki dentin sıvısının hidrodinamik hareketi ile pulpaya iletilir. Isısal, fiziksel veya ozmotik değişimler dentin sıvısı hacminin değişimine veya hareketine neden olarak bir basınç reseptörünü uyarır ve bu da geniş miyelinli sinir fibrilleri olan A delta (A-δ) ve A beta (A-β)’nin üzerinde impuls oluşturur ⁽³³⁾.

Pulpadaki açık sinir uçları bu sıvının hareketi ile uyarılır ve ağrı meydana gelir. Tübüllerdeki sıvı hareketi ister pulpaya doğru ister pulpadan dışa doğru olsun artan sıvı akışı dentin boyunca basınç değişikliğine neden olmakta ve mekanoreseptör etki ile A-δ sinir liflerini uyarmakta ve sonuç olarak da kısa, keskin ve birkaç saniye içerisinde ortadan kalkan tipte bir ağrı meydana gelmektedir ⁽⁴¹⁾.

Tüm bu teoriler içerisinde en geçerli olanı yukarıda açıklandığı gibi dentin tübüllerindeki sıvı hareketine dayanan hidrodinamik teoridir. Birçok araştırmacının gerek *in vivo* gerekse *in vitro* olarak yaptığı deneyler bu teoriyi desteklemektedir ^(33, 42, 43).

2.4. Dentin Hassasiyetinde Kullanılan Tedavi Yöntemleri

Geçmişten günümüze dentin hassasiyetinin tedavisinde, hekimin uygulayabileceği pek çok materyal ve yöntem mevcuttur. Hidrodinamik teori esas alındığında dentin tübüllerini tıkayan, dentin tübülleri içindeki sıvının hareketini azaltan veya bu harekete karşı gelişen pulpaya ait sinirsel cevabı baskılayan tedavi yaklaşımları uygulanmaktadır ^(44, 45). Söz konusu uygulamaların etkinliklerini ortaya koymak için sayısız çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların sistematik derlemesini ve meta analizini yapan güncel bir makalede farklı uygulamaların farklı etkinlik dereceleri ve farklı etkin kalma süreleri olduğu ve her aktif tedavinin plasebo ile karşılaştırıldığında daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir ⁽⁴⁶⁾.

Dentin hassasiyetinin giderilmesinde öncelikle hastanın ev bakımı ve uygulamaları kritik bir öneme sahiptir ⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾. Ev bakımı ve uygulamaları ile kontrol altına alınamayan dentin hassasiyetleri, hekimin profesyonel müdahalesini gerektirir. Ev kullanımına uygun olarak geliştirilen farklı oranlarda potasyum tuzları, NaF, stronsiyum klorür ve kalsiyum fosfat gibi etken maddeler içeren diş macunları ve ağız gargaralarının yanında, profesyonel kullanım için kortikosteroidler, topikal uygulanan iyon ve tuzlar içeren kimyasal uygulamalar, dentin yüzeyine sürülen dentin bağlayıcılar ve yüzey örtücüler, ayrıca lazerler ve lazerlerin kimyasal uygulamalar ile kombinasyonları hassasiyet tedavisi için kullanılan tedavi yaklaşımlarıdır ^(3, 7, 11, 47, 50-56).

Grossman ⁽¹¹⁾ 1935 yılında ideal hassasiyet giderici ajanın özelliklerini tanımlamıştır. Bu tanımlamaya göre hassasiyet tedavisinde kullanılan ajanlar, pulpayı irrite etmemeli, uygulama sırasında ağrıya sebebiyet vermemeli, etkisi hızlı başlayıp uzun sürmeli, dokularda boyanma yapmamalıdır. Günümüzde kullanılan tedavi seçeneklerinden hiçbirisi Grossman'ın tanımladığı kriterleri tümüyle karşılamamaktadır.

Dentin hassasiyeti tedavisinde kullanılan pek çok materyal ve yöntem, söz konusu bu kriterlerin tümünü sağlayabilmeleri için araştırmacılar tarafından geliştirilmeye çalışılmakta ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir. Son yıllarda hassasiyet tedavisinin biyolojik yaklaşımları üzerine merak artmış ve klinik hassasiyetin, tükürüğün dentin duyarlılığını azaltıcı doğal etkisinin taklidi yoluyla tedavi edilebilmesi gibi fikirler gündeme gelmiştir.

2.4.1. Sinir iletiminin durdurulması

Potasyum tuzları

Pulpal sinir lifleri üzerine direkt olarak etkisi olduğu düşünülen potasyum tuzları, dentin hassasiyeti tedavisinde kullanılan bileşiklerdir ⁽⁵⁷⁻⁶¹⁾. Dentine ait duyu sinirleri üzerine potasyum iyonunun depolarizasyon etkisi yoluyla çalışır ⁽⁶²⁾. Bu etkinin görülebilmesi için pulpaya komşu dentin dokusunun içinde bulunan sinir aksonlarının etrafında en az 8 mmol/L potasyum iyonu bulunmalı ve ulaşılan bu iyon miktarı korunmalıdır ⁽⁶³⁾.

Daha çok diş macunlarının içeriğinde kullanılan potasyum tuzlarının fırçalama boyunca diş yüzeyinde potasyum iyon konsantrasyonunu arttırabildiği ileri sürülmüştür ⁽⁶²⁾. Hodosh ⁽⁶⁴⁾, potasyum nitratın %1-15'lik konsantrasyonlarda etkili olduğunu belirtmiş ve çalışmasında elde edilen etkinliğin oksidasyon veya tübüllerin kristalleştirilmesi ile meydana gelen sinir blokajı şeklinde gerçekleştiğini bildirmiştir. Ancak Poulsen'in ⁽⁴⁸⁾ meta-analiz ile birlikte yaptığı sistematik derlemede, potasyum içerikli macunların dentin hassasiyetinin giderilmesinde kullanımlarını destekleyen kanıtların yeterli olmadığı sonucu bildirilmiştir.

2.4.2. Antienflamatuvar ajanlar

Kortikosteroidler

Antienflamatuvar ajanlardan biri olan kortikosteroidlerin dentin hassasiyeti tedavisinde kullanılması tavsiye edilmiş, yapılan çalışmalarda tam olarak etkili olmasa da dentin tübüllerinin tıkanmasında mineralizasyonu arttırarak hassasiyeti azaltacakları düşünülmüştür ⁽⁶⁵⁾. Günümüzde kullanılmayan bu etken maddenin peritübüler dentin mineralizasyon mekanizması net olarak açıklanamamıştır. Etkinliğini değerlendirmek için çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.4.3. Dentin tübüllerini tıkayan ajanlar

Kalsiyum hidroksit

Dentin hassasiyetinin tedavisinde kalsiyum hidroksitin etkili olduğunu belirten çalışmalar vardır ^(66, 67). Etki mekanizmasının, kalsiyum iyonlarıyla gevşek protein radikallerinin bağlanması sonucu dentin tübüllerinin tıkanması şeklinde olduğu ileri sürülmüştür. Böylece açığa çıkmış olan dentinde mineralizasyon artmaktadır ⁽⁶⁷⁾. Kalsiyum hidroksitin etkisinin, uygulanmasından hemen sonra başladığı ve 6 ay süreyle devam ettiği, materyalin yüksek pH'a sahip olması nedeniyle dikkatli kullanılması gerektiği bildirilmiştir ⁽⁶⁶⁾.

Formaldehit veya Gluteraldehit

Formaldehit ve gluteraldehitin, tükürük proteinlerinin dentin tübüllerine çökmesini sağlayarak dentin hassasiyetinde etki gösterdiği ileri sürülmüştür. Gluteraldehitin, dentin hassasiyeti belirtilerini belirgin bir şekilde azalttığı belirtilmiş ancak formaldehitin dentin hassasiyetinin tedavisinde anlamlı bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir ⁽⁶⁸⁾. Gluteraldehitin dentin sıvısı içerisindeki serum albümini ile reaksiyona girerek pıhtılaşmaya sebep olduğu ve dentin tübüllerinin içinde bir tıkaç oluşturarak dentin hassasiyetine yol açan hidrodinamik mekanizmayı yok ettiği bildirilmiştir ⁽⁶⁹⁾. Fakat bu etki, farklı formülasyonların az ya da hiç etkisi olmadığı tespit edildiğinden beri sorgulanmaktadır ^(70, 71). Bununla beraber formaldehit ve gluteraldehit çok güçlü doku fiksatifleri olmaları sebebiyle kullanımları aşırı dikkat gerektirmektedir ve dişeti ile çevre dokulara temas edilmediğinden emin olunmalıdır ⁽⁷²⁾.

Sodyum Florür (NaF)

Florür, ilk kez Lukomsky ⁽⁷³⁾, tarafından hassasiyet ajanı olarak öne sürülmüş, Hoyt ve Bibby ⁽⁷⁴⁾, tarafından yapılmış diğer bir çalışmada da bu etki desteklenmiştir. Sodyum florür ve stanoz florür gibi florür bileşiklerin dentin tübüllerinin tıkanmasında ve klinik olarak hassasiyetin azaltılmasında pozitif etkileri olduğu bildirilmektedir ⁽⁷⁵⁾. 1992'de Amerikan Diş Hekimleri Birliği %5'lik potasyum nitrat ve florür içeren macunları kategori I denilen en güvenilir sınıfta tanımlamıştır. Açığa çıkmış dentin yüzeylerine Sodyum florür (NaF) uygulanması dentin sıvısını kalsiyum ve fosfat iyonlarına doyurarak kalsiyum florür kristallerinin çökelti oluşturmaya ve dentin kanallarının mekanik olarak tıkanması nedeniyle de kanal çaplarının daralmasına ve uyarı iletiminin durmasına imkân sağlamaktadır. Birçok klinik çalışmada açığa çıkmış kök yüzeylerinde, florürlü diş macunları ve konsantre florür solüsyonlarının dentin hassasiyeti tedavisinde etkili ajanlar olduğu gösterilmiştir ⁽⁷⁶⁻⁷⁸⁾. NaF uygulamasından sonra

florürün ağız sıvılarıyla hızlıca çözülerek kaybolması nedeniyle topikal uygulamanın sınırlı etkiye sahip olduğu için tek seferde dentin kanallarını tıkamaya yeterli olmadıkları için birkaç defa uygulanmaları gerektiği belirtilmiştir ⁽⁷⁹⁾. Florür verniğin etkili bir şekilde dentin hassasiyetini azalttığı ve bu etkinin 6 ay devam ettiğini bildirmiştir ⁽⁸⁰⁾. Fakat yapılan bir diğer çalışmada ise NaF'ün vernik olarak uygulanması diş yüzeyine tutunma süresinin arttırması açısından alternatif bir yaklaşım olarak kullanılsa da bu etkinin oldukça kısa süreli olduğu belirtilmiştir ⁽⁸¹⁾.

Flor iyontoforezi

İyontoforez işlemi, sodyum florürle birlikte elektrik akımı kullanılarak sağlanan iyon sal hareketlilikle hassasiyetin giderilmesidir ⁽⁸²⁾. İyontoforez yöntemi düşük amperli elektrik akımından yararlanarak iyonların doku içerisine girmelerini sağlar. Bu şekilde dentin tübüllerinde florür iyon konsantrasyonu artırılmaktadır. Artan florür konsantrasyonu, CaF₂ çökmesini sağlayarak dentin tübüllerini tıkamakta ve aşırı hassasiyet şikâyeti kaybolmaktadır ^(83, 84). Gangarosa ⁽⁸³⁾ iyontoforez ile florür uygulanan dişlerde hassasiyetin hemen azaldığını gözlemiştir. Kern ve arkadaşları ⁽⁸⁵⁾ ise çalışmalarında iyontoforez kullanılarak yapılan dentin aşırı hassasiyeti tedavisi sonucunda hassasiyette hemen bir azalma saptamışlar ancak 6 ay sonra tedavinin etkisini yitirdiğini bildirmişlerdir. Bu yöntemin yaygınlaşması için daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır ⁽⁷⁸⁾.

Kazein fosfopeptit

Kalsiyum ve fosfat dişin temel yapısını oluşturan minerallerdir. Kalsiyum ve fosfat iyonları ağız ortamında bulundukları zaman içerisinde minede remineralizasyon sağlarlar ⁽⁸⁶⁾. Yapılan çalışmalar bu bileşiğin hassasiyeti önlemede etkili olduğunu bildirmiştir ⁽⁸⁷⁾. Kalsiyum ve fosfatın etkileşime girmeden iki fazlı salınım yoluyla kullanılmasıyla amorf kalsiyum fosfat geliştirilmiştir ⁽⁸⁸⁾. Amorf kalsiyum fosfatın ağız ortamına taşınması amacıyla yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda amorf kalsiyum fosfat ile kazein fosfopeptit bileşimi ortaya çıkmıştır. Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) diş yüzeyine uygulandığında biyofilme, bakterilere, hidroksiapatite ve çevredeki yumuşak dokulara bağlanır, kalsiyum ve fosfat rezervuarı olarak görev yapar ⁽⁸⁹⁾. Bununla birlikte, florür varlığında sinerjik bir etkiye sahiptir ⁽⁹⁰⁾. Amorf kalsiyum fosfat suda çözünerek kalsiyum fosfat iyonlarına ayrışır ve etraftaki dokular tarafından kullanılabilir hale gelir. Kalsiyum fosfat dentin tübüllerinin ağzını kapatır ve geçirgenliklerini azaltır ⁽⁹¹⁻⁹³⁾.

Güncel çalışmalardaki bulgular Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)'ın floridli diş macunundan sonra kullanımını tavsiye etmektedir ⁽⁹⁴⁾. GC firması tarafından 2012 yılında vernik formülasyonu (MI Varnish™) piyasaya sürülmüştür. Diş beyazlatma tedavileri sonucunda gelişen hassasiyetlere karşı da kullanılabilir. Karbonat solüsyonundaki ACP kristalize olur ve hidroksiapatit oluşturur. Bu kristaller mikroskobik yüzey defektlerini doldurur, erken çürük defektlerini onarır ve dişleri daha pürüzsüz, kuvvetli hale getirir ve hassasiyeti azaltır ⁽⁹⁴⁾. Kalsiyum fosfat dentin tübüllerinin ağzını kapatır ve geçirgenliğini azaltır ⁽⁹¹⁻⁹³⁾.

Arginin ve kalsiyum karbonat içerikli hassasiyet patı

Kleinberg ve ark. tarafından 2002 yılında ev ve ofis kullanımı için, tükürükte doğal olarak bulunan bir amino asit olan arginin ile kalsiyum karbonat birleştirilerek pro-Argin teknolojisi geliştirilmiştir ⁽⁹⁵⁾. Arginin tükürükte bulunan, fizyolojik pH'da (6.5-7.5) pozitif yüklü bir amino asittir. Yapılan çalışmalarda arginin ve kalsiyum karbonatın fizyolojik pH derecesinde etkileşime girerek, dentinin negatif yüklü yüzeyine bağlandıkları ve gerek dentin yüzeyinde gerekse dentin kanallarının içerisinde kalsiyum bakımından zengin bir tabaka oluşturarak kanalların tıkanması yoluyla etki gösterdiği ve sıvı hareketinin engellendiği belirtilmiştir ^(95, 96). %2'lik potasyum iyonu içeren diş macunu ile %8'lik arginin kalsiyum karbonat florür içeren diş macununun karşılaştırıldığı 8 haftalık bir çalışmada arginin içeren diş macunu daha iyi sonuçlar göstermiştir ^(97, 98). Arginin içeren diş bakım ürünleri topikal olarak uygulandıktan hemen sonra dentin hassasiyetinde bir azalma sağlama avantajına sahiptirler ⁽⁹⁹⁾.

Biyoaktif cam

Biyomateryal olarak biyoaktif cam diş hekimliğinde son 40 yıldır kullanılmaktadır. Bu cam seramik bileşikler, kemik tamiri ve rejenerasyon materyali olarak geliştirilmiştir ⁽¹⁰⁰⁾. Bu biyoaktif materyalin dentin hassasiyetindeki etki mekanizması hidroksikarbonat apatitlerin çökmesi yoluyla açık dentin tübüllerinin tıkanmasıdır. Novamin (Dentsply, ABD) markası adı altında profilaksi patları ve diş macunları bulunmaktadır ⁽¹⁰¹⁾. *In vitro* olarak yapılan çalışmada, biyoaktif cam içeren diş macununun dentinin sıvı iletkenliğini azalttığı bildirilmiştir ⁽¹⁰²⁾.

2.4.4. Dentin tübüllerinin örtülmesi

Rezinler ve adezivler

Brännström ⁽¹⁰³⁾ tarafından yüzeye daha iyi bağlanan adeziv ve rezinler hassasiyet tedavisinde kullanılmaya başlanmış, uygulandıkları hastalarda hemen rahatlama sağladıkları ve etkinliklerinin 2-12 ay sürdüğü bildirilmiştir. Kompozitler, adeziv sistemler ve cam iyonomer simanlarda bu amaçla kullanılmaktadır ⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁷⁾.

Yüzey örtücü sistemlerin kullanımı, madde kaybının az olduğu dişlerde zordur ve restorasyon sonucunda meydana gelen taşkın alanlar plak birikimi ve dişeti enflamasyonuna neden olabilmektedir ⁽¹⁰⁸⁾. Tübüllerin tıkanması ve asit ataklarına karşı dirençli bir yapı oluşması için uygulama öncesinde smear tabakası uzaklaştırılmalı ya da modifiye edilmelidir. Materyalin polimerizasyonu tam olarak sağlandığında ⁽³²⁾, kırık oluşmazsa ⁽¹⁰⁹⁾ veya ağız hijyen işlemleri sırasında herhangi bir aşınma görülmez ise etkilerinin yeterli olduğu savunulmaktadır ⁽³²⁾. Ancak literatürdeki mevcut çalışmalarda uygulanan yöntemlerin hassasiyeti azaltma konusundaki etkinlikleri, takip süreleri ve etkinliklerinin uzun dönem sonuçlarını ortaya koyan veriler yetersizdir.

2.4.5. Lazerler

Görünebilir veya görünemeyen dalga boyunda (500 nm ile 10600 nm arasında) monokromatik bir ışık olan, ismini “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation” kelimelerinin baş harflerinden alan lazerin fiziksel prensibi Einstein’ın 1900’lü yılların başında geliştirdiği teorilere dayanmaktadır ⁽¹¹⁰⁻¹¹²⁾.

İlk kez 1960 yılında Maiman ⁽¹¹³⁾ tarafından geliştirilen yakut lazerden sonra 1964 yılında Goldman ve ark. ⁽¹¹⁴⁾ çekilmiş dişlerde çürük dokuların temizliği için yine yakut lazeri kullanarak diş hekimliğinde ilk lazer uygulamasını gerçekleştirmişlerdir.

Lazerlerin dentin hassasiyeti tedavisindeki etkinlikleri birbirinden farklı 2 mekanizmayla açıklanmaktadır. Bunlardan ilki lazer ışığının pulpaya ait sinir liflerinin elektrik aktivitesini doğrudan etkilemesi; ikincisi ise dentinin tübüler yapısında bir erime meydana getirerek dentin tübüllerinde tıkanmanın sağlanması esasına dayanır ^(115, 116).

Lazerlerle yapılan dentin hassasiyeti tedavisinin etkinliğinin lazer tipi ve parametresine bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir ⁽¹²⁾. Günümüzde CO₂, Nd:YAG, Er:YAG, Erbium Chromium Doped: Yttrium Scandium Garnet (Er,Cr:YSGG), Holmium Yttrium Aluminium Garnet (Ho:YAG) ve diyet lazerler diş hekimliğinde sıklıkla kullanılmaktadır ⁽¹¹⁷⁾. Güçlü ablasyon,

hemostaz, detoksifikasyon ve bakterisidal kabiliyetleri nedeniyle son yıllarda kullanımı artan lazerler, dentin hassasiyeti tedavisi için güvenilir ve tekrarlanabilir bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır ^(7, 51, 52, 54).

2.5. Dentinin Yüzey Özelliklerinin Değerlendirilmesi

2.5.1. Yüzey pürüzlülüğü

Yüzey pürüzlülüğü (SR) ölçümü, biyofilm oluşumunda rol oynayan yüzey özelliklerinin belirlenmesi açısından önemlidir. Bu parametreyi değerlendirmek amacıyla farklı teknikler kullanılabilir ⁽¹¹⁸⁾. Uluslararası standartların 1984'te yayınlanmasından itibaren, pürüzlülüğü ölçmek amacıyla 100'den fazla varyasyon geliştirilmiştir ve bunlardan bazıları Tablo 2.5.1'de gösterilmektedir

Tablo 2.5.1. Yüzey ölçümünde kullanılan parametreler

Parametre	Tanımlaması
Ra	Profilin merkezi hattından tüm sapmalarının aritmetik ortalaması
Rq	Profilin merkezi hattından tüm sapmalarının geometrik ortalaması
Rz	Profilin beş ardışık numunenin uzunluğunun 5 pürüzlülük derinliği ortalaması
Rmax	5 pürüzlülük derinliğinin en büyüğü
Rp	Profilin uzunluğu içinde merkez çizgisinin üzerindeki en yüksek noktanın yüksekliği
Rv	Profilin uzunluğu içinde merkez çizgisinin altındaki en alçak nokta derinliği
Rpm	Rp'nin ardışık beş örnek uzunluktaki ortalama değeri
Rt	Değerlendirme uzunluğu içindeki profilin en yüksek ve en düşük noktaları arasındaki dikey yükseklik
Rtm	Beş ardışık numunenin uzunluğunda ortalama değer veya Rmax
R3z	Bireysel pürüzlülük derinliği hariç, Rz'ye benzer şekilde, örnek uzunluğu içindeki en yüksek pikten üçüncü en düşük vadiye kadar olan derinliktir.

Konvansiyonel Profilometreler

Yüzey pürüzlülüğünün değerlendirmesi amacıyla farklı yöntemler olmasına rağmen, kabul gören ve en yaygın olan yöntem profilometre ile yapılan ölçümdür. Ra, evrensel olarak tanınan ve en çok kullanılan uluslararası pürüzlülük parametresidir ⁽¹¹⁹⁾. Konvansiyonel mekanik profilometre, yüzeyindeki elmas bir uçla her iki yöne de hareket ederek ilerler. Uç genellikle 1,5–2,5 µm'luk sabit bir yarıçapa sahiptir. Ve bu uç, 0,05 ila 100 mg arasında yük uygulayabilir ⁽¹²⁰⁾. Profimetrenin ucu, dikey hareketle yüzey boyunca sürüklenirken analog/dijital sinyale dönüşür. Profilometrenin ucu ölçülmekte olan yüzey ile neredeyse devamlı olarak temas halindedir ve elmas ucun numuneye zarar verme olasılığı da mevcuttur. Bu elmas ucun kayıt hızı yaklaşık olarak 1 mm/s veya daha düşük bir seviyede tutulur. Dikey çözünürlük pürüzsüz

yüzeyler için 0,1 nm'ye kadar düşebilir, pürüzlü yüzeyler veya büyük adımlar içinse 1 nm'ye kadar artabilir. Doğru olduğundan emin olmak için kontak profilometrenin periyodik aralıklarla kalibrasyonu sağlanmalıdır. Bu, bir referans standardı aracılığıyla gerçekleştirilir ⁽¹²¹⁾.

Lazer Profilometresi

Lazer veya bir diğer ismiyle beyaz ışık profilometresi, yüzeye teması olmadan örneklerin üç boyutlu bir alanda çalışmasına imkân tanır. Yani üç boyutlu olarak yüzey topografisini ölçerek, gerçeğe daha yakın bir yüzey analizi yapar ve yüzey topografyasının tam bir tanımını sunar ⁽¹²²⁾.

Yüzeye direkt olarak temas etmedikleri için kontak profilometrisinin dezavantajlarının çoğuna sahip değildir. Genellikle yüzeye 100 µm'den daha az bir ışık spotu yönlendirilir ⁽¹²³⁾. Lazer profilometresi, lazer ışınının sapmasını ölçerek ya da (beyaz ışıkla) konfokal prensibi kullanarak iki farklı şekilde yüzey topografisini profilleyebilir ⁽¹²⁴⁾. Sonuçların renk ve saydamlıktan etkilenebilmesi durumu ise lazer profilometrenin dezavantajıdır ^(123, 124).

Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) örneklerin yüzey topoğrafyasının görsel ve yüksek çözünürlüklü kalitatif analizi amacıyla kullanılan bir tekniktir ⁽¹¹⁸⁾. AFM bir atomun 1 nm kadar olan yükseklik değişimlerini ölçebilir yani, bu durum nanometre çözünürlüğünde üç boyutlu bir yüzey analizi sağlayan daha ayrıntılı yüzey topografisi sunabilmesi anlamına gelir. Çok yüksek çözünürlüklü bir mikroskopi türü olan AFM'de, numune yüzeyini taramak amacıyla kullanılan bir kantilever (destek, dirsek) mevcuttur. Yüzey topografyasının kaydedilebilmesi için sabit kuvvet modu faydalıdır. Bu durum burulma bükülmesine (torsional flexion) bağlı olarak bir yüzeyin sürtünme özellikleriyle ilgili bilgi sağlar ⁽¹²⁵⁾. SR, topografik görüntülerin ortalama karekökü olarak değerlendirilebilir ⁽¹¹⁸⁾.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), günümüzde halen yaygın şekilde kullanılan, dental sert dokuların *in vitro* rezorpsiyonunu değerlendirmedeki ilk tekniklerden biridir ⁽¹²⁵⁾. Genellikle materyal yüzeyindeki çizikleri ve kusurları kalitatif olarak değerlendirmek amacıyla kullanılan SEM'in örnek yüzeyinin yalnızca morfolojik bir değerlendirmesine izin vermesi nedeniyle yüzey topografisinin tanımlanmasında bir sınırlama getirmektedir ⁽¹²⁶⁾.

Numune yüzeyindeki elektronları saçan SEM ve aldığı sinyali, yüzey topografisi ve kompozisyonu hakkında bilgi vermek amacıyla kullanır. Geniş bir alan derinliğine sahip olan

SEM görüntüleri (farklı derinliklere rağmen görüntünün tüm parçalarına odaklanır), bunun bir sonucu olarak yüksek çözünürlüklü 3 boyutlu görüntüler elde edebilir. Geleneksel SEM için, yüzey elektrostatik yük birikiminin önüne geçmek amacıyla elektriksel olarak iletken bir materyal ile kaplanmalıdır ve bu materyal ise sıklıkla altındır. Örnekler, kurutma ve püskürtme işlemleri esnasında örnekler, geri dönüşü olmayan bir şekilde değiştirilir ⁽¹²⁶⁾.

2.5.2. Serbest Yüzey Enerjisi ve Temas Açısı

Bir sıvının yüzey gerilimine eşdeğer bir katı yüzeyin enerjisi serbest yüzey enerjisi (SFE)'dir. 'Maddenin alanını 1 cm² arttırmak için gerekli olan iş' olarak tanımlanır. Ve serbest yüzey enerjisi, bir yüzeyin reaktivitesini belirleyen önemli bir faktördür. Hidrofobiklik ile farklılık gösteren bir dizi sıvının belirli bir yüzeyde oluşturduğu temas açısının (θ) ölçülmesiyle belirlenir. Katı bir yüzeyin veya sıvının toplam SFE'si polar, asit/baz ve dispersif (Van der Waals) etkileşimleri gibi farklı moleküler etkileşimlerle ilişkilidir ⁽¹¹⁸⁾.

Bir katının SFE'si temel olarak şu basit formülle hesaplanabilir:

$$\gamma^{\text{tot}} = \gamma^{\text{d}} + \gamma^{\text{p}}$$

γ^{tot} : Toplam serbest yüzey enerjisi

γ^{d} : Serbest yüzey enerjisinin dispersif bileşeni

γ^{p} : Serbest yüzey enerjisinin polar bileşeni

Formülde üst simge olan 'd', dispersif bileşeni ve 'p' polar bileşenini temsil etmektedir ⁽¹¹⁸⁾.

Bununla yanında, SFE'yi değerlendirmek amacıyla farklı yöntemler de araştırılmıştır. SFE'yi değerlendirmek amacıyla yapılan ilk yaklaşım 1964 yılında tanıtılmıştır ⁽¹¹⁸⁾. Tek bir bileşeni değerlendiren bu yöntem, test edilen yüzeyin SFE'sinin, test edilen yüzeyi tamamen ıslatabilecek en yüksek SFE'ye sahip sıvı ile eşdeğer olduğu sonucuna varmıştır ve farklı sıvılarla bir yüzeyin temas açısının ölçülmesi sağlanmıştır. Kolay olan bu yöntem, SFE'nin farklı bileşenlerinin değerlendirilmesine imkân tanımaz. Owens & Wendt yaklaşımı, SFE'yi dispersif ve polar olarak ayırır ve iki bileşenli teoriler arasında en çok kullanılanlardan biridir ⁽¹²⁷⁾.

Son olarak, katı ve sıvı SFE'yi üç bileşenden ayıran van Oss tarafından sunulan yaklaşım: dağınık bileşen, asidik etkileşimlerden (σ^+) ve bazik (σ^-) etkileşimlerden kaynaklanan yüzey enerjisi. (σ^+) ve (σ^-) birlikte SFE'nin polar bileşenini belirler ⁽¹²⁸⁾.

SFE, genellikle temas açısının değerlendirilmesi ile pratik şekilde uygulanır. Farklı materyallerin ıslanabilirliğini değerlendirmek amacıyla yapılan temas açısı ölçümleri, sıvının yüzey gerilimi ve katının yüzey enerjisi nedeniyle materyallerin yüzey özelliğini belirtir ⁽¹²⁹⁾.

Temas açısı ölçümünde; her sıvı için 10 damla, test edilen yüzeye konulan her sıvı için 10 damla ile sol ve sağ temas açıları ortalaması alınır. Farklı sıvılar da bu analizde kullanılabilir. Örneğin, Carlén ve arkadaşları çalışmalarında ⁽¹³⁰⁾; su, formamid ve diiyodometan kullanırken, Sipahi ve arkadaşları ⁽¹²⁹⁾ ise; etilen glikol, formamid ve diiyodometan kullanmıştır.

Katı yüzey ile sıvı yüzey arasındaki temas açısı ile katı materyalin ıslanabilirliği ters orantılıdır. Yani katı bir materyalin bir sıvı tarafından ıslanabilirliğinde temas açısı 90°'nin üzerinde ise kötü, 0°'ye yakınsa iyi olarak nitelendirilmektedir. Katı materyalin tam olarak ıslandığını gösteren temas açısının 0° olması ise ideal olan durumdur ⁽¹³¹⁻¹³³⁾.

2.5.3. Elementel Analiz

Rezin içerikli bir materyalin yüzeyinin elemental analizi için kullanılan iki yöntem; enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDS veya EDX) ve x-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS)'dir.

Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDS)

Kimyasal mikroanaliz olan elektron dağılım spektroskopisi (Electron Dispersive X Ray Spectroscopy-EDS), materyallerin elemental analizlerini belirlemek amacıyla kullanılan bir tekniktir. Materyalin kimyasal karakterizasyonunu belirlemek amacıyla SEM ile beraber kullanılır. Analizi yapılan numunenin elemental kompozisyonunu karakterize etmek amacıyla EDS tekniğinde, bir elektron ışını ile bombardımanı sırasında numuneden yayılan x-ışınları tespit edilir. SEM'de ise elektron ışını numuneyi bombaladığı zaman, elektronlar numune yüzeyini meydana getiren atomlardan dışarı atılır ⁽¹¹⁸⁾.

Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDS) tekniğinde, hızlandırılmış elektronlar moleküllere veya atomlara çarparak atomun çekirdeğine yakın olan tabakalardan elektronu koparırlar. Daha üst tabakalarda bulunan elektronlar ise kopan elektronun yerine geçer. Bunun sonucunda da o elemente yani atoma özgü x ışınlarının yayılımı gerçekleşir. Yayılan x ışınlarının varlığı yarı iletken bir dedektörle tespit edilir ⁽¹¹⁸⁾.

Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDS), boyutu 1-2 mikrona kadar olan materyallerin kimyasal bileşimini bulmak ve daha geniş bir tarama alanı üzerinde elemental kompozisyon haritaları meydana getirmek amacıyla kullanılabilir ⁽¹¹⁸⁾.

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS)

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) tekniği, değerlendirilen yüzeyin kimyasal durumunun tanımlamasını ve elementel dağılımının analiz edilmesini sağlar ^(134, 135).

Bir materyalden yayılan karakteristik fotoelektronlar x-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ile belirlenir ⁽¹³⁶⁾. Değerlendirilen materyalin yüzeyindeki atom veya moleküllerin ışın bombardımanına tutulur. Ardından bu yüzeyden saçılan elektronların kinetik enerjisi bulunur ⁽¹³⁷⁾. XPS tipik olarak, düşük enerjili, monokromatik bir ışın kaynağına sahip ve numunenin yüzeyinden fotoelektronların yayılmasına neden olan bir yüzeyle gerçekleştirilir. Yayılan fotoelektronların enerjisini ölçmek için ve yüzey kompozisyonunu temsil eden bir spektrum elde etmek amacıyla bir elektron enerji analizörü kullanılır ⁽¹¹⁸⁾. Materyalin yüzey kısmına gelen ışınların açısının değiştirilmesiyle XPS'in yüzey hassasiyeti artırılabilir ⁽¹³⁷⁾.

XPS, yalnızca yüzeye yakın olarak üretilen elektronları tespit edebilmesi nedeniyle yüzeye duyarlı bir tekniktir. Ortalama analiz derinliği bir XPS ölçümü için yaklaşık olarak 10 nm'dir. Bu sebeple, sürekli geniş saha değerlendirmelerinin gerçekleştirilmesi önyargıdan kaçınmak için faydalı olacaktır ⁽¹¹⁸⁾.

2.6. Bakteri Adezyonu

2.6.1. Mikrobiyal Dental Plak

Dişlerin yüzeyinde biriken yumuşak, inatçı film tabakası dental plak olarak tanımlanır ⁽¹³⁸⁾. Dental plak daha yakın zamanda bir plak biyofilmi veya basitçe biyofilm olarak adlandırılmıştır. Biyofilm çoğunlukla bakteriler, yan ürünleri, hücre dışı matriks ve sudan meydana gelir ⁽¹³⁸⁾.

Biyofilmin dişler üzerinde birikmesi, oldukça organize ve düzenli bir dizi olay sonucunda olur. Ağızda bulunan organizmaların çoğu doğada başka yerde bulunmaz. Oral ortamda mikroorganizmaların hayatta kalması, bir yüzeye yapışma kabiliyetlerine bağlıdır. Serbest olan organizmalar, tükürük akışı ve sık yutkunma yoluyla ağızdan hızla temizlenir. Sadece birkaç özelleşmiş organizma, özellikle streptokoklar, mukoza ve diş yapısı gibi ağız yüzeylerine yapışabilirler ⁽¹³⁸⁾.

Mikrobiyal dental plak veya biyofilmler yaygın diş hastalıklarının başlıca nedenleridir ve diş sert ve yumuşak dokulara ve aynı zamanda restoratif biyomateryallere mikrobiyal adezyonu sağlarlar ⁽¹³⁶⁾.

Mikrobiyal Dental Plak Oluşumu

Profesyonel diş temizliği biyofilmi (plak) kontrol altına almak amacıyla dizayn edilmiştir. Tüm organik materyalin ve bakterilerin diş yüzeyinden profesyonel olarak uzaklaştırılmasının hemen ardından, yeni bir organik materyal birikimi oluşmaya başlar ⁽¹³⁸⁾. Hücresiz, yapısal olmayan organik bir film tabakası, önceden temizlenmiş olan alanı 2 saat içinde tamamen kaplayabilir. Bu tabaka pelikül olarak adlandırılır. Pelikül, temel olarak farklı tükürük bileşenlerinin (albümin, prolinden zengin proteinler, glikoproteinler, müsinler ve sialik asit) seçici olarak çökmesinden oluşur. Pelikülün işlevleri aşağıda sıralandığı gibidir ⁽¹³⁸⁾:

- 1) Mineyi korumak (çoğunlukla prolinden zengin protein içeren tükürük bileşenlerinden oluşan organik bir mine örtüsüdür. İçerdikleri proteinler sebebiyle ortamdaki fosfat ve kalsiyum iyonlarını absorbe ederler.)
- 2) Dişler arasındaki sürtünmeyi azaltmak ve
- 3) Remineralizasyon için bir matriks sağlamak.

Mikroorganizmalar, herhangi bir dış bileşenden yoksun olan temizlenmiş diş yüzeylerine kolonize olamadıkları için, elde edilen pelikülün varlığı, bakteri adezyonu için zorunludur ⁽¹³⁹⁾. Diş yüzeyine bakteriyel adezyonun birinci aşaması, mikroorganizmanın yüzeysel maddeleri ile pelikülün içindeki tükürük bileşenlerinin etkileşimidir ⁽¹³⁹⁾. Bu etkileşimde primer kolonize olan bakteriler görev alır. Kolonize olan bakteriler ekstrasellüler bir tabaka üretmek suretiyle diş yüzeyine sıkıca tutunurlar. Ağızdaki önemli primer kolonize olan bakteriler olan oral streptokoklar, diş yüzeylerine ilk tutunmaya aracılık eden çok sayıda yüksek afiniteli adezine sahiptir ve bu durum edinilmiş tükürük pelikülünde substratlarla etkileşimegirmelerini sağlar ⁽¹⁴⁰⁾. Bağlanan (yapışan) bakteri hücreleri büyüdükçe ve bölündükçe, polipeptidler, karbonhidratlar ve nükleik asitler ile ekstrasellüler polisakkaritleri (EPS) içeren bir biyofilm tabakası oluşmaya başlar ⁽¹³⁹⁾.

Biyofilm oluşumunun ilk aşamasında, onu oluşturan bakteriler, elektrostatik, hidrofobik ve van der Waals kuvvetleri ile mikroorganizmaların geri dönüşümsüz adezyonunu sağlar. Bu başlangıçtaki adezyon fazı, pelikülün yüzeyi üzerindeki bakteriler ve prolinden zengin glikoproteinler (PRP) arasındaki spesifik reaksiyona bağlı olarak sonradan geri döndürülemez bir hale gelir ⁽¹³⁹⁾.

Biyofilm tabakası içinde bulunan bu makro moleküller ayrıca bakteriyel kolonizasyonu ve çok hücreli kümelerin birikmesini kolaylaştırır yani sekonder kolonizasyon meydana gelir.

Sekonder kolonize olan türler *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus spp.*, *Prevotella spp.*, *Eubacterium spp.*, *Treponema spp.* ve *Porphyromonas spp.* gibi bakterilerdir ^(139, 141).

Hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif türdeki geç kolonize olan bakteriler, belirli bir bireyde olgun bir plak oluşuncaya kadar, koagregasyon ve koadezyon olayları yoluyla ilk streptokokal oluşum üzerine inşa edilirler. Kolonizasyon, sert ve yumuşak doku yüzeylerinde oral streptokok birikiminin yanında, bir dizi adezin-reseptör etkileşimi tarafından yönlendirilir ve diğer mikrobiyal türlerin varlığı da kolonizasyonun oluşmasına yardım eder ⁽¹⁴⁰⁾.

Mikroorganizma tabakasının oluşumu dinamik bir süreçtir. Adezyon, büyüme, uzaklaştırma ve yeniden tutunma olayları sürekli bir süreç içerisinde olur ve bu sebeple dental plak mikrobiyomu sürekli bir yeniden yapılanmaya uğrar. Doğal olarak üretilen bu bakteri biyofilm konsorsiyumu dişlerin yüzeyinde 300–500 hücre kalınlığına ulaşabilir. Olgun biyofilmin yüzeyi bireysel hücreleri serbest bırakabilir, bu da başka yerlerde, dişlerde, diş yüzeylerinde, dişeti sulkusunda bir biyofilm oluşturabilir veya planktonik forma dönüşebilir. Bu şekilde biyofilm, devamlı olarak oral ortamda bakteriler için bir kaynak oluşturur ⁽¹³⁹⁾.

Mikrobiyal dental plak oluşumunu özetlersek;

1- Pelikül oluşumu: Ağız ortamına maruz kalan tüm yüzeyler, organik ve inorganik moleküllerin dişe, kompozit rezinlere veya protetik yüzeylere absorpsiyonundan meydana gelen bir pelikül ile sürekli olarak kaplanır. Bu moleküller temel olarak tükürükten kaynak alır ve bakteriler için reseptörler gibi davranır ⁽¹¹⁸⁾.

2- Bakterilerin adezyonu (reversible adezyon): Bu faz, mikrobial yüzey yapıları ile tükürük pelikül tabakası arasında zayıf, uzun vadeli, reversible fiziko-kimyasal etkileşimlerin oluşumunu içerir (0-4 saat) ⁽¹¹⁸⁾.

3- İrreversible adezyon: Bu faz, bakteri ile yüzey arasında, kovalent, iyonik veya hidrojen bağı gibi spesifik etkileşimler ile sağlam ve güçlü bir dayanak oluşumunu içerir ⁽¹¹⁸⁾. Adezyona uğrayan bakteriler gelişir ve mikrokolonilerin oluşumunu sağlar (4-24 saat).

4- Koadezyon ve biyofilm oluşumu: Mikrobiyal koadezyon ve koagregasyonla çeşitli mikrokoloni türlerinin gelişimini sağlar (1-14 gün). Bu aşamada, sekonder kolonize olan bakteriler, biyofilm gelişmesinde bir artışa sebep olan sıkı bir şekilde bağlanmış mikroorganizmaların reseptörlerine tutunur ⁽¹¹⁸⁾.

5- Olgun plağın meydana gelmesi (2 hafta ve sonrası) evrelerinden oluşur ⁽¹⁴²⁾.

Mikrobiyal Dental Plak Mikroorganizmaları

Oral mikrobiyom, dental plak olarak da bilinen bir biyofilm olarak büyüyen doğal ve yapay yüzeylerde kolonize olan yüzlerce mikro organizmadan meydana gelmektedir. Oral kaviteden 700'ün üzerinde bakteri türü izole edilmiş ve bunlardan çoğu biyofilmle ilişkilendirilmiştir ⁽¹⁴²⁾.

Ağız boşluğu içindeki mikro organizmaların hayatta kalması, koloni oluşturmalarına ve biyofilm geliştirme kabiliyetlerine bağlıdır. Bu işlem, bağlandıkları yüzeyin fiziko- kimyasal özelliklerinden etkilenir. Oral biyofilm oluşumu sıralı bir olaylar dizisinin sonucunda meydana gelir ve farklı türlerden zengin, yapısal ve işlevsel olarak organize bir mikrobiyal topluluk olarak ortaya çıkar ⁽¹⁴³⁾.

Oral kavitede biyofilm üç evre sonucunda meydana gelir, Birinci evre planktonik gram pozitif kokların- streptokok türlerinin pelikula tutunma evresidir ⁽¹⁴²⁾. Oral mikroflorada genellikle ilk kolonize olan mikroorganizmalar *S. sanguis*, *S. oralis* ve *S. mitis* 'tir ⁽¹⁴²⁾. Bu üç tür, dental plakta bulunan bütün streptokok türlerinin %95'ini ve diş yüzeyine ilk kolonize olanların %56'sını oluşturur ⁽¹⁴²⁾. İkinci evre, ekstrasellüler polisakkarit yapımı ile mikrokoloni oluşum evresidir ⁽¹³⁸⁾. Bu evrede erken kolonize olan bakterilerin miktarı artar. Bakteriler birbirleriyle ve diğer planktonik hücrelerle koagregasyon yaparak, mikrokoloniler meydana getirirler. Ardından *Fusobacterium* türleri ile çapraz bağlanmalar oluştururlar. Santral filamantöz bakteri ve buna uzunluğu boyunca yapışmış çeşitli bakteri türlerinin de etkileşimiyle mısır koçanı (corncob) oluşumları ortaya çıkar. Bu evrede *Actinomyces* türlerine de ihtiyaç vardır ⁽¹⁴⁴⁾. Üçüncü evre, çoğunlukla spiroketlerin, gram negatif ile hareketli bakterilerin katıldığı evredir. Bu evrede koagregasyonların fazlalaşmasıyla stabil bir topluluk zirve topluluğu meydana getirir ve biyofilm olgunlaşır ⁽¹⁴⁴⁾.

Oral kavitedeki mikroorganizmalar dişin yüzeyinde iki tür biyofilm meydana getirir: Bakteriye floralarının önemli ölçüde farklı olduğu supragingival plak ile subgingival plak. Supragingival plakta baskın olan bakteriler, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* ve *Lactobacillus casei* dahil olmak üzere Gram pozitif bakteriler iken, subgingival plakta *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter spp.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* gibi Gram-negatif anaerobik bakteriler daha baskın olan türlerdir ^(141, 144). Diş çürüğünün nedeni sıklıkla supragingival mikrobiyom iken subgingival mikrobiyom ise gingivitis ve periodontal hastalık ile ilişkilidir ⁽¹⁴⁵⁾. Bunun yanı sıra, streptokoklar ağız boşluğunun tüm bölgelerinde baskın olarak bulunurlar ⁽¹⁴⁰⁾.

Oral Streptokoklar

Streptokoklar hareketsiz, gram pozitif, fakültatif koklardır ⁽¹⁴⁶⁾. Oral streptokokların 70'in üzerinde alt grubu olan vardır ve oral hastalıklar, dental çürükler ile ilişkisi olduğu tespit edilmiştir ⁽¹⁴⁷⁾. Ağız mikroflorasının büyük bir kısmını oluşturan tür oral streptokoklardır. DNA diziliminin ortaya çıkışı, tür seviyesindeki bakterilerin tanımlanmasında yeni ve daha doğru bir yaklaşım getirmiştir. 16S ribozomal RNA dizilimi filogenetik ilişkileri belirlemek amacıyla kullanılabilir ⁽¹⁴⁰⁾. Başlangıçta oral streptokoklar *S. anginosus*, *S. mitis*, *S. mutans* ve *S. salivarius* olarak dört gruba ayrılmıştır. Oral kavite dışında izole edilen streptokoklar *S. bovis* ve piyojenik streptokoklar olarak ayrılmışlardır ⁽¹⁴⁸⁾. Son zamanlarda, daha güncel bir filogenetik yaklaşımı kullanan, Richards ve ark. streptokokları; *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. anginosus*, *S. salivarius*, *S. downei*, *S. mutans*, *S. pyogenic* ve *S. bovis* olarak sekiz ayrı gruba kategorize etmişlerdir. Bunlarda oral streptokok, piyojenik streptokokları ve *S. bovis*'i oral streptokok dışında tutmuşlardır ⁽¹⁴⁹⁾.

Streptococcus Mutans (S. mutans)

Mutans streptokoklar (MS) 7 türden oluşmaktadır. Bunlar *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus ferus*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus rattus* ve *Streptococcus downei* türleridir. Mikrobiyal dental plaktan en çok izole edilen ve çürükle ilişkili olan bakteriler *S. mutans* ve *Streptococcus sobrinus*'tur ⁽¹⁵⁰⁾.

S. mutans; sükroz gibi diyet karbonhidratlarının, ekstraselüler polisakkaritlerin (EPS) sentezlenmesiyle asidojenik ve asidürik özellikleri sebebiyle, biyofilmdeki en karyogenik mikroorganizmadır. Diş yüzeyine bakteriyel adezyonu desteklemeleri, dental biyofilmlerin yapısal bütünlüğüne katkıda bulunmaları ve sonuç olarak minenin demineralizasyonunu arttırmaları sebebiyle EPS, *S. mutans*'ların önemli virülans faktörleridir ⁽¹⁵¹⁾.

S. mutans'ların diş çürüğü oluşumundaki virülans veya patojenite özellikleri aşağıda ayrıntılı bir şekilde sıralanmıştır ^(152, 153):

1- Asidojenite, *S. mutans*'ların diyet şekerlerini fermente edip metabolizmanın son ürünü olarak laktik asit oluşturabilmesidir. Bu durumdan dolayı da pH'da bir düşüşe ve minede demineralizasyona sebebiyet verebilmektedir.

2- Asidürik, düşük pH'da hayatta kalmak ve gelişmek için çok önemli bir özellik olan ortamın asitliğine direnç kazanmasıdır.

3- *S. mutans*‘lar, asit üretimine katkı sağlayan ve daha az oksijen olan zamanlarda bir substrat meydana getiren hücre dışı polisakaritleri metabolize edebilen dekstranaz ile fruktanaz enzimleri üretir.

4- *S. mutans*‘ların düşük pH'a maruz kaldıktan sonra alışlagelmiş büyüme aktivitesini geri kazanması çok kısa bir zaman içerisinde olur.

5- Yüzey adezinlerinin varlığından ve biyofilm içeriğine katkı sağlayan glukanların üretimi nedeniyle adezyon kapasitesine sahiptirler ⁽¹⁵³⁾.

Streptococcus Mitis (S. mitis)

Mitis grubu, şu anda 20 tür ile ağız boşluğunda bulunan bakteri gruplarının en büyüğüdür. Mitis grubundaki türler, yalnızca 16S rRNA sekansına, özellikle *Streptococcus oralis* ve *S. mitis*'e dayanarak farklılaşmak zorunda kalmıştır ⁽¹⁰⁸⁾. Streptokokların mitis grubunun bir üyesi olan *Streptococcus mitis*, dişler, dil ve mukozal yüzeylerin yanı sıra bademcikler ve nazofarinks de dâhil olmak üzere ağız boşluğunun hemen hemen tüm yüzeylerinde koloni oluşturmalar ^(122, 123). Ayrıca yenidoğanların ağız boşluğunda koloni oluşturan ilk bakterilerden biridir ⁽¹²³⁾.

Temizlenmiş diş yüzeylerinin kolonizasyonu, mutant olmayan streptokoklar olan *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis* ve *Streptococcus mitis*'i barındırır ⁽¹⁰⁷⁾. Bu bakterilerle birlikte *S. mitis*'in de dişlerde dental plak oluşumunun erken evrelerinde koloni oluşturma özelliği bulunur ^(123, 124). *S. mitis* gibi erken kolonize olan bakterilerin, gelişmekte olan oral biyofilmlerde ikincil kolonize olan bakterilerin adezyonu için temel oluşturduğu düşünülmektedir ⁽¹²⁴⁾. *Streptococcus mitis*, endokardit ile ilişkili en yaygın oral streptokoklardan biridir ⁽¹²⁵⁾.

2.6.2. Biyofilm Analizleri

Biyofilm analizlerinde, mikroorganizmanın sayısı ve türü, mikrobiyal populasyonun canlılığı (ölü/yaşayan hücreler), yaşı, kalınlığı (tek tabakalı veya çok tabakalı), biyofilmlerin yapısı (homojen, düzensiz, yoğun, gözenekli) ve yüzey topografisi incelenir ⁽¹⁵⁴⁾.

Biyofilm analizlerinde kullanılması amacıyla mikrobiyolojik kültür teknikleri, kolorimetrik teknikler, mikroskopik teknikler, fiziksel yöntemler, biyokimyasal yöntemler ve moleküler yöntemler gibi çeşitli teknikler vardır.

Mikrobiyolojik Kùltür Teknikleri

Canlı mikroorganizma sayısının belirlemede altın standart olarak kabul edilen bir yöntem; mikrobiyolojik kùltür teknikleridir. Bu yöntemde bir substrat üzerinde meydana getirilen biyofilm yüzeyine yapışan bakterilerin sayımı koloni oluşturma birimi (CFU) olarak yapılır. CFU ölçümü, substrata yapışan veya biyofilm yapısı içinde büyüyen canlı bakterilerin sayısı hakkında bilgi verir. Fakat bu yöntemde, kullanılan kùltür ortamı tarafından desteklenen büyüme koşullarında koloni meydana getirmek amacıyla yeterli bir oranda hücre bölünmesini başlatabilen bakteriler tespit edilebilir. Substrattan biyofilm bakterilerinin bir sonikasyon veya santrifüj işlemi ile uzaklaştırılması tavsiye edilir. Buna benzer durumlarda, CFU sıklıkla sonikasyon/santrifüj işlemindenin ardından elde edilen süpernatanttan hesaplanır ⁽¹⁵⁴⁾.

Kolorimetrik Teknikler

Biyofilmdeki bakteriyel hücrelerin boyanmasından temel alan yarı kantitatif teknik; kolorimetrik analizdir. Bu teknikte biyofilm, bir boya ile boyandıktan sonra, belirli bir miktarda alkol veya bir sürfaktan kullanılarak ayrıştırılır ve ayrıştırılan boya yoğunluğunun bir spektrofotometre kullanılarak ölçümü sağlanır. Bu teknikte biyofilm bakterilerinin kolay ve hızlı bir şekilde ölçümü yapılır. Fakat bu teknik genel olarak güçlü biyofilm üretilen suşlarda etkinlik gösterir ^(154, 155).

Mikroskopik Teknikler

Mikroskopik yöntemler; bakterilerin substratlara adezyonunu, biyofilmlerin yapısını ve biyofilm yapısındaki bakterilerin dağılım/tip/yaşayabilirliğini incelemek amacıyla kullanılır ⁽¹⁵⁴⁾.

Işık mikroskobu

Büyütme kapasiteleri $\times 1000$ ila $\times 3000$ arasında değişen ve laboratuvarlarda sıklıkla her amaç için kullanılabilen mikroskoplardır ⁽¹⁵⁶⁾. Işık mikroskobu, doğrudan *in vitro* örneklerde biyofilm analizlerinde kullanılan temel bir tekniktir. Bunun yanında nispeten ucuzdur, hızlıdır ve kolay kullanılabilir. Dezavantajı ise yeterince güçlü değildir, fakat hücrelerin içerisindeki birçok yapının görüntülenmesine imkân tanır. Ve böylelikle hücresel morfoloji hakkında bilgi sağlar ⁽¹⁵⁷⁾.

Taramalı elektron mikroskopu (SEM)

Uzun yıllardan beri biyofilm analizlerinde kullanılan etkili bir teknik olan SEM, mikrobiyal biyofilmlerin morfolojik ve yapısal karakterizasyonu ile ilgili bilgi verir. Fakat bu tekniklerin dezavantajı, ek olarak örnek hazırlama aşamaları gerektirmesidir. Bu aşamalar ise orijinal biyofilm morfolojisini bozar ve bunun sonucunda da görüntülemeye artefaktlar oluşur ^(154, 157).

Epifloresan mikroskopu

Bakteriyel biyofilmin mikro yapısını değerlendirmek amacıyla epifloresan mikroskopu kullanılır. Biyomateryallerin yüzeylerinde yetiştirilen biyofilmler, sıklıkla bir floresan boya ile boyanarak bir epifluoresan mikroskopu altında gözlemlenir. Bu mikroskop, canlı hücrelerin, biyofilm hücre düzenlemesinin, mikro koloni oluşumunun, biyofilm pH'sının ve biyofilmdeki kimyasalların dağılımının tespitinde etkinlik gösterir ⁽¹⁵⁴⁾.

Konfokal lazer taramalı mikroskop

Konfokal lazer taramalı mikroskopu (CLSM), yüksek çözünürlüklü, üç boyutlu görüntüleme sağlayan bir yöntemdir ⁽¹²⁵⁾. CLSM, multi-foton mikroskopuyla donatılmış olarak ışık absorpsiyon kuralının uygulanmasıyla odak dışı ışığın bloke edildiği ince (~0,3 µm) bir odak düzlemi meydana getirir ⁽¹⁵⁴⁾. Örnekler sıklıkla floresan belirteçlerle (marker) işaretlenir. Geniş alan mikroskopu tekniklerinin tersine, mikroskop 'odak dışı' floresan bilgilerini filtreler. Yalnızca odak düzlemine çok yakın olan floresan bilgileri kayıt altına alınır. Bunun sonucunda da, çözünürlük geniş alanlı tekniklerle kıyaslandığında çok daha iyi olabilir ⁽¹²⁵⁾.

CLSM, 50-200 µm kalınlığında biyofilm yapıları ile sınırlı olan önemli bir biyofilm analiz yöntemidir. CLSM, epifloresan, SEM ve TEM gibi mikroskopik tekniklerin çoğunda gözlemlenen bazı dezavantajlara sahip değildir. Bakteriler için moleküler tekniklerdeki gelişmelerin bir sonucu olarak, CLSM biyofilmleri değerlendirmek için önemlidir. Bu teknik, biyofilm yapılarını değerlendirmek amacıyla floresan görüntüleme tabanlı bir analiz kullanır ^(154, 158).

Biyofilm yapısındaki hücrelerin kalınlığını ve dağılımını incelemek amacıyla CLSM görüntüleri kullanılabilir ⁽¹⁵⁴⁾. Bununla birlikte biyofilmlerdeki pH gradyanlarını belirlemek amacıyla da kullanılabilir. Biyofilmlerin iç pH'ı, bir pH göstergesi olarak fluoresein kullanılarak bir floresan görüntüleme tekniği ile belirlenir. CLSM ile bir floresan boya kombinasyonu kullanımı *in vitro* biyofilm analizi için rutin bir uygulama haline almıştır. CLSM analizi altında ölü hücreler kırmızı ışık yayarken, canlı hücreler yeşil ışık yayarlar ⁽¹⁵⁴⁾.

Fiziksel Yöntemler

Biyofilmin kalınlığı, alanı, ağırlığı (ıslak ve kuru) ve yoğunluğu gibi temel fiziksel parametreler biyofilmin büyümesini değerlendirmek amacıyla kullanılır. Cryosection ya da düzgün hazırlanmış bir SEM örneği ile biyofilm kalınlığı tahmini olarak ölçülebilir ve gömülü bakteriyel hücreler görüntülenebilir ⁽¹⁵⁹⁾. Işık mikroskobu ile kalınlık ölçümü çoğunlukla ince biyofilmlerde etkinlik gösterirken, fiziksel yöntemler daha kalın biyofilmlerin incelenmesinde etkilidir. Bu yöntemde aynı biyofilm örneği üzerinde hem ıslak hem de kuru ağırlık ölçümleri yapılır. Kuru ağırlık biyofilm örneğinin hacminden çıkarılır. Takribi yoğunluğun da hesaplanan su hacmi ile aynı olduğu düşünülür ⁽¹⁵⁴⁾.

Biyokimyasal Yöntemler

Biyokimyasal yöntemler, ekstrasellüler matriks (ECM) ve mikrobiyal biyokütlenin ölçümünün yapıldığı analizlerdir. Hızlı bir yöntem olarak kabul edilen mikrobiyal biyokütlenin ölçümü, tüm biyofilmin ıslak veya kuru ağırlığının, hücre içeriğinin, hücresel aktivitelerinin veya canlı hücrelerin ölçümlerini bünyesinde barındırır. Metabolik aktiviteden temel alan bu yöntem, canlı bakterilerin erken tespiti için kullanılmaktadır. Bir bakteri popülasyonunun metabolik aktivitesini belirlemek amacıyla Adenosin trifosfat (ATP) biyoluminesansı sıklıkla kullanılmaktadır ⁽¹⁵⁴⁾.

Moleküler Yöntemler

Biyofilm bakterileri hakkında genetik bilgi sağlamak için moleküler biyolojik yöntemler kullanılır. Mikroarray analizi ve tanımlanmış düzenleyici mutantların kullanımı biyofilm gelişimini değerlendirmek amacıyla kullanılan önemli tekniklerdir. Bakteriyel adezyonun ve biyofilm oluşumunun moleküler temelli analizleri yapıldığı takdirde, bakterilerin uygun laboratuvar koşullarında yetiştirildiğini anlamak önemlidir. Bu yöntemlerin temel amacı, bakteriyel yapışmayı ve biyofilm oluşumunu etkileyen faktörleri incelemek için standart analizler kullanmaktır. ELISA, diferansiyel gen ekspresyonunun saptanması, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemleri bu amaçla kullanılır ⁽¹⁵⁴⁾.

Çeşitli İleri Teknikler

Bakteriler ile bakteriler ve substratlar arasındaki etkileşimin kuvvetini araştırmak için son zamanlarda sıklıkla atomik kuvvet mikroskobu (AFM) uygulanmıştır ⁽¹⁶⁰⁾. Olgun biyofilm yapılarının kimyasal bileşimini karakterize etmek amacıyla Fourier Transform Infra-Red (FTIR) spektroskopisi uygulanmıştır. FTIR spektroskopisi, biyofilm yapısı üzerindeki kimyasal

bileşenlerin kalitatif ve kantitatif analizi amacıyla kullanılır. Aynı şekilde, katı-hal nükleer manyetik rezonans (NMR) gibi biyofiziksel teknikler, güçlü analitik tekniklerdir ve bakteriyel biyofilmin bileşenlerini değerlendirmek amacıyla kullanılırlar ⁽¹⁵⁴⁾.

2.7. Tükürük

Tükürük oral kavitede sert ve yumuşak dokuların bütünlüğünü koruyan ve düzenleyen önemli bir görev üstlenir. Tükürük, ağız sağlığını korumaya ve uygun bir ekolojik denge oluşturmaya hizmet eden farklı fonksiyonlara sahiptir. Lubrikasyon ve koruma, tamponlama hareketi ve klirensi, antibakteriyel aktivite ve sindirim bu fonksiyonlardan bazılarıdır ⁽¹⁶¹⁻¹⁶³⁾.

Tükürüğün yaklaşık %90'ı majör tükürük bezlerinden salgılanır. Major tükürük bezleri parotis, submandibular ve sublingualdir. Tükürük, renksizdir, kokusuzdur. Tükürük ilk salgılandığında pH'ı hafif asidiktir. Fakat tükürük akış hızı ile birlikte pH yükselir. Normalde tükürüğün pH'ı 6 ila 7 arasındadır ⁽¹⁶²⁾.

Günde yaklaşık 1-1,5 litre tükürük salgılanmaktadır ⁽¹⁶⁴⁾. Yemek yeme ve çiğneme sonrasında tükürük uyarılırken, uyku sırasında tükürük akışı sıfıra yakın olmaktadır. Uyarılmış koşullarda tükürük akış hızı dakikada 1 ml'den büyük olurken, uyarılmamış koşullarda 0,3–0,5 ml olur ⁽¹⁶⁵⁾.

2.7.1. Tükürüğü Oluşturan Bileşenler

Tükürük %99'dan fazla sudan oluşan, sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, bikarbonat ve fosfatlar dâhil olmak üzere çeşitli elektrolitleri içeren bir sıvıdır ⁽¹⁶²⁾. Tükürükte ayrıca immünoglobulinler, proteinler, enzimler, müsinler ve üre ve amonyak gibi azotlu ürünler de bulunur ⁽¹⁶²⁾. Bunlara ek olarak tükürük, oral ve sistemik hastalıklarla ilişkili 700'den fazla mikroorganizmayı da yapısında barındırır ⁽¹⁶⁶⁾. Bu bileşenler, aşağıda sıralandığı gibi ilgili işlevlerde etkileşime girer. Bikarbonatlar, fosfatlar ve üre, pH'ı ve tükürüğün tamponlama kapasitesini düzenleme işlevi görür. Makromolekül proteinleri ve müsinler, oral mikroorganizmaları temizlemeye, kümelemeye veya bağlanmalarına aracılık eder ve diş plağı metabolizmasına katkıda bulunur. Kalsiyum, fosfat ve proteinler, bir anti-çözünübilirlik faktörü olarak birlikte çalışır ve demineralizasyonu ve remineralizasyonu düzenler ve immünoglobulinler, proteinler ve enzimler antibakteriyel etki sağlar ⁽¹⁶²⁾.

Tükürükteki inorganik bileşenler, tamponlama için bikarbonat ve dişin mineral bütünlüğünün korunması için kalsiyum ve fosfat içerir. Kalsiyum, fosfat ve florür, diş yüzeylerinin mikrobiyal asitlere karşı direncindeki kilit iyonlardır. Demineralizasyonu önler ve remineralizasyonu

desteklerler. Arginin bakımından zengin proteinlerin bakteriyel enzimler tarafından üre ve amonyağa ayrışması, nötr pH'nın korunmasına katkı sağlar ⁽¹⁶¹⁾.

Tükürük içerisinde salgısal immunoglobulin olan Ig A'da bulunur ⁽¹⁶¹⁾. Tükürüğün en büyük immünolojik bileşeni olan salgısal Ig A, bağ dokularında plazma hücreleri tarafından üretilen, majör ve minör tükürük bezlerinin kanal hücreleri boyunca yer değiştiren bir immünoglobülinidir ^(167, 168). Ig A, mukozal yüzeyler üzerinde aktif olmakla birlikte, virüsleri nötralize eder, bakteriyel antijenlere karşı bir antikor görevi görür ve bakterilerin kümelenmelerini ve agregasyonlarını önlemek için çalışır, böylece konak dokulara bakteri adezyonunu engeller ^(167, 168). Tükürükte bulunan prolinden zengin proteinler de tükürüğün çeşitli fonksiyonlarına katılırlar. Antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler, agregasyonu ve mikroorganizmanın temizlenmesini sağlarlar. Histatinler, sistatinler, statherin ve amilaz veya lizozim gibi diğer bazı tükürük proteinleri, antimikrobiyal özelliklere sahiptir ⁽¹⁶¹⁾.

Müsinler mikroorganizmaların oral doku yüzeylerine adezyonunu seçici bir şekilde düzenleyerek antibakteriyel bir işlev gören, tükürüğe tipik visko-elastik yapısını veren ve dehidrasyona karşı koruyan yüksek molekül ağırlıklı proteinlerdir ^(161, 162, 165). Müsinin görevi ağızdaki mikroorganizmalar için besin kaynağı olması ve bakterileri kaplayıp onları fagositoza karşı korumasıdır. Müsin bir glikoproteindir ve düşük çözünürlük, yüksek viskozite, yüksek elastisite ve kuvvetli yapışkanlık özelliklerine sahiptir. Tükürük içerisindeki müsinler ağız içi yumuşak ve sert dokuların üzerini kaplar ve visköz tabakanın büyük kısmını oluşturur. Bu tabaka çiğneme, konuşma ve yutkunmaya yardımcı olarak ağız içi ıslatmada rol alır. Böylece ağız içinde, yumuşak doku-yumuşak doku, yumuşak doku-diş veya yumuşak doku-protez arasındaki temaslar, müsin sayesinde oluşan tükürüğün ıslatma kapasitesi ile rahatlar ^(161, 165).

2.7.2. Yapay (Sentetik) Tükürük

İnsan tükürüğünün özelliklerinin tam olarak taklit edilmesinin mümkün olmadığı yapılan çalışmalarda açıkça kanıtlanmıştır ⁽¹⁶⁹⁾. Doğal tükürük parotis, submandibular, sunlingual ve minör tükürük bezlerinin farklı bileşim ve hacimlerde karışımından meydana gelir. Doğal tükürük, kişiye ve zamana göre çok sayıda bileşen ve değişkene sahip son derece karmaşık bir sistem olduğundan aynı şekilde kopyalamak imkânsızdır ⁽¹⁶⁹⁾.

Tükürüğün organik bileşenleri, temel olarak viskozitesinin çoğundan sorumludur ve diğer çözünenlerin difüzyon hızlarını ve dolayısıyla reaksiyon oranlarını etkilemesi gereken, esas bileşeni glikoproteinlerdir ⁽¹⁶⁹⁾. Biyolojik çalışmalar için, organik bileşenler gereklidir. Shellis'e göre ⁽¹⁷⁰⁾, dental plağın kültürel çalışmalarında yapay bir tükürüğün hazırlanmasında ilk adım,

sıgır submandibular bezlerinden elde edilen tükürük glikoproteinlerinin yani musinin kullanılmasıdır. Bu zamana kadar çeşitli içeriklerde birçok yapay tükürük karışımı önerilmiştir. Günümüzde en çok kullanılan yapay tükürük formülü Fusayama'ya aittir ⁽¹⁶⁹⁾.

Sonuç olarak; tüm bu bilgilerin ışığında bu tez çalışmasında, çeşitli hassasiyet giderici yöntemlerin uygulandığı dentin yüzeylerinin pürüzlülüğünün, geçirgenliğinin ve bakteri adezyonunun incelenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma ile aşağıdaki sıfır hipotezler test edilmiştir:

- 1- Uygulanan hassasiyet giderici yöntemlerden sonra dentinin yüzey pürüzlülüğü değişim değerleri kontrol grubuyla benzerdir.
- 2- Uygulanan hassasiyet giderici yöntemlerden sonra dentin yüzeyinde biriken *S. mutans* ve *S. mitis* yoğunluğu kontrol grubuyla benzerdir.
- 3- Uygulanan hassasiyet giderici yöntemlerden sonra açık dentin tübülü sayısı ve açık dentin tübülü çapı değerleri kontrol grubuyla benzerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı ve Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı olmak üzere şu aşamalarda gerçekleştirildi:

Dentin örneklerinin hazırlanması,

Dentin örneklerine yüzey bitirme ve polisaj işlemlerinin uygulanması,

Örneklerin yüzey pürüzlülüklerinin ölçülmesi,

Örneklere *S. mutans* ve *S. mitis* bakterilerinin adezyonunun sağlanması,

Örneklerin üzerine tutunan bakterilerin konfokal lazer taramalı mikroskobu ile görüntülenmesi,

Örneklerin dentin geçirgenliklerinin ölçülmesi,

Elde edilen verilerin değerlendirilmesi için istatistiksel analizlerin yapılmasıdır.

3.1. Dentin Örneklerinin Hazırlanması

Yeni çekilmiş sığır kesici dişleri, 1 ay kadar %0,1 timol çözeltisi (pH 7,0) içerisinde saklandı. Kronlar, su soğutmalı bir elmas disk kullanılarak hassas kesme cihazı ile (IsoMet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL) köklerden ayrıldı. Bir bölme makinesine monte edilmiş kökler, ayrı ayrı epoksi rezin içine gömülmüş 108 bukkal dentin bloğu (5×5×3 mm) elde etmek üzere kesilmiştir. Deneyden önce örnekler temizlendi ve distile su içinde saklandı. Kök dentin substratını standardize etmek için kök dentin örnekleri, düzleştirilmiş ve standart koşullar kullanılarak su soğutmalı zımpara kâğıdı (#600, 800, 1200 ve 2000) kullanılarak zımparalanmıştır. İşlemlerin yapıldığı her örneğin bukkal yüzeyinde 9,0 mm²'lik bir alan sınırlandırıldı.

3.2. Başlangıçtaki Yüzey Pürüzlülüklerinin Ölçülmesi

Deneylerden önce numuneler polisaj lastiği kullanılarak pomza ve su ile düşük hızda temizlendi. Final incelemenin aynı pozisyonda/alanda yapılabilmesi için her numune üzerinde iki işaret konulmuştur. Daha sonra, tüm numunelerin açıkta kalan yüzeyine %19 EDTA (etilendiamin tetraasetik asit, MD-ChelCream, Meta-Biomed Co., Ltd., Kore) jeli uygulandı (Şekil 3.2.1). 1 dakika sonra, her numune distile su içinde temizlendi. Bu prosedür, dentin tübüllerini açarak, maruz kalan dentin modelini simüle etti.



Şekil 3.2.1. Çalışmada kullanılan EDTA jel

Dentin örneklerinin yüzey pürüzlülüğünü belirlemek için profilometre cihazı kullanıldı (Şekil 3.2.2). Her bir örneğin yüzey pürüzlülüğü yüzey yapısını 2 boyutlu olarak ölçebilen bir profilometre cihazı (Surftest SJ-201, Mitutoyo, Tokyo, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Her örneğin pürüzlülük değerleri (Ra) µm olarak kaydedilmiştir. Cihaz ucunun iğne çapı 5µm 'dur. Ölçüm numune üzerindeki 2,5 mm'lik bir aralıkta ve 0,5 mm/s hızda yapılmıştır. Her örneğin iki yan ve bir orta bölgesi olmak üzere üç farklı bölgesinden pürüzlülük ölçülmüştür. Elde edilen değerlerin aritmetik ortalaması alınmıştır. Profilometre cihazının kalibrasyonu ölçümlere başlamadan önce ve her gruptaki ölçümlerden sonra tekrar ayarlanmıştır.



Şekil 3.2.2. Çalışmada kullanılan profilometre cihazı ile yüzey pürüzlülüklerinin ölçülmesi

3.3. Deneysel Gruplar

Çalışmada %5 sodyum florür verniği (NaF, Enamelast fluoride vernik, Ultradent, ABD), CPP-ACP (MI Paste plus, GC Corporation, Tokyo, Japonya), Er,Cr:YSGG lazer (Waterlase, Biolase, Kaliforniya, ABD) ve diod lazer (Biolase, Kaliforniya, ABD) kullanılmıştır (Şekil 3.3.1 A,B,C,D).



Şekil 3.3.1 A) Çalışmada kullanılan %5 NaF verniği



Şekil 3.3.1 B) Çalışmada kullanılan CPP-ACP ajan



Şekil 3.3.1 C) Çalışmada kullanılan Er,Cr:YSGG lazer



Şekil 3.3.1 D) Çalışmada kullanılan diod lazer

Başlangıç yüzey pürüzlülükleri ölçüldükten sonra dentin örnekleri rastgele 9 gruba (n = 12) bölündü ve aşağıdaki işlemlere tabii tutuldu:

Grup 1 (G1) hiçbir tedavi almadı (negatif kontrol).

Grup 2'nin örnekleri (G2-pozitif kontrol) pamukla kurutuldu, 9,0 mg %5 sodyum florür verniği (NaF, Enamelast fluoride vernik, Ultradent, ABD) 10 s boyunca uygulandı ve 2 dakika bekledikten sonra numuneler 37 °C'de distile suda 24 saat bekletilecektir. Vernik 24 saat sonra bir gazlı bezle çıkarıldı.

Grup 3 (G3) CPP-ACP (MI Paste plus, GC Corporation, Tokyo, Japonya) üretici talimatlarına göre bir aplikatör ile uygulandı, 5 dakika bekletildikten sonra bir pamuk pelet ile diş yüzeyinden uzaklaştırıldı, distile suyla yıkandı.

Grup 4 (G4) numunelerine Er,Cr:YSGG lazer (Waterlase, Biolase, Kaliforniya, ABD); 0,25 W gücü, 20 Hz'lik tekrarlama oranı ve 140-200 µs darbe genişliğiyle , 1 mm uzaklıktan havasız ve susuz olarak, Z6 safir uç kullanılarak (600 µm çap, 6 mm uzunluk) 30 saniye süreyle uygulandı.

Grup 5'ten (G5) örnekler; 1,5 W güç çıkışı kullanılarak 908 nm dalga boyunda yüksek yoğunluklu bir diod lazerle (Biolase, Kaliforniya, ABD), kontaklı sürekli modda (dokudan 1,0 mm uzakta) ışınladı (enerji yoğunluğu = 333,4 J/cm²). Işığı istenen bölgeye iletmek için 400 µm çapında bir optik fiber kullanıldı. Kök dentin yüzeyi lazer ışığı ile 20 saniyelik bir süre boyunca (10 s yatay ve 10 s dikey olarak) tarandı. Işınlama klinik uygulamayı simüle etmek için manuel olarak yapıldı.

G6; 9,0 mg %5 sodyum florür verniği 10 s boyunca uygulandı ve 2 dakika bekledikten sonra numuneler 37 °C'de distile suda 24 saat bekletildi. Vernik 24 saat sonra bir gazlı bezle çıkarıldıktan sonra Er,Cr:YSGG lazer tarifiendiği gibi uygulandı.

G7; CPP-ACP bir aplikatör ile uygulanıp 5 dakika bekletildikten sonra bir pamuk pelet ile diş yüzeyinden uzaklaştırıldı, distile suyla yıkandı, ardından Er,Cr:YSGG lazer tarifiendiği gibi uygulandı.

G8; 9 mg %5 sodyum florür verniği 10 s boyunca uygulandı ve 2 dakika bekledikten sonra numuneler 37 °C'de distile suda 24 saat bekletildi. Vernik 24 saat sonra bir pamuk pelet ile uzaklaştırıldı ve diod lazer tarifiendiği gibi uygulandı.

G9; CPP-ACP bir aplikatör ile uygulanıp 5 dakika bekletildikten sonra bir pamuk pelet ile diş yüzeyinden uzaklaştırıldı, distile suyla yıkandı, ardından diod lazer tarifiendiği gibi uygulandı.

3.4. Son Yüzey Pürüzlülüklerinin Ölçülmesi

Hassasiyet giderici yöntemler uygulandıktan sonra, bir profilometre cihazı (Surftest SJ-201, Mitutoyo, Tokyo, Japonya) kullanılarak dentin örneklerinin son yüzey pürüzlülükleri daha önce tarifiendiği şekilde ölçülmüştür.

3.5. Örneklerle *S. mutans* ve *S. mitis* Bakterilerinin Adezyonunun Sağlanması

Çalışmamızda bakteri olarak *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus mitis* bakterileri kullanılmıştır. Bakteriler TC. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonundan ve Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümünden temin edilmiştir.

Bakteri adezyonu için çalışmamızda, 6 adet *S. mutans* için ve 6 adet *S. mitis* için olmak üzere her bir deneysel gruptan 12 adet olmak üzere toplamda 108 adet örnek hazırlanmıştır. Bakteri adezyonu gerçekleştirilmeden önce dentin örnekleri otoklavda (Tomy Model SX-700E Autoclave, Tokyo, Japonya) 15 dakika 121 °C’ de steril edilmiştir.

3.5.1. Yapay Tükürük Elde Edilmesi

İlk olarak dentin örneklerinde pelikül tabakasını oluşturmak ve bakteri adezyonunun yapılması için yapay tükürük hazırlanmıştır. Yapay tükürük hazırlanırken aşağıdaki formül kullanılmıştır ⁽¹⁷¹⁾.

2 lt tükürük için;

8.4 mg NaF,

2560 mg NaCl,

332.97 mg CaCl₂,

250.00 mg MgCl₂ (6H₂O),

189.48 mg KCl,

0.1 ml H₃PO₄ (85%),

0.1 mmol NaOH.

Bütün malzemeler berraklık sağlanıncaya kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır (Şekil 3.5.1). Daha sonra pH metre ile tükürüğün pH’sı ölçülmüştür. pH’ının 6,5-7 olarak ayarlanması için karışıma 30 ml 0,1 M NaOH eklenmiştir ⁽¹⁷²⁾.



Şekil 3.5.1. Yapay tükürüğün manyetik karıştırıcıda karıştırılması

Yapay tükürük hazırlandıktan sonra otoklavda (Tomy Model SX-700E Autoclave, Tokyo, Japonya) steril edilmiştir (Şekil 3.5.2). Steril edilmesinin ardından her 100 ml yapay tükürüğe 140 mg Tip II müsin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Almanya) eklenmiştir.



Şekil 3.5.2. Hazırlanan yapay tükürüğün otoklavda steril edilmesi

3.5.2. Bakteri Süspansiyonu için Kullanılacak Karışımların Hazırlanması

Fosfat Tamponlu Tuz (Phosphate Buffered Saline) (PBS) Hazırlanması

Kullanıma hazır, pH'sı 7,4 olan bir paket PBS (Sigma, ABD), 1 litre distile suya ilave edilmiş ve iyice karıştırılarak 0.01 M PBS karışımı hazırlanmıştır (Şekil 3.6.2). Ardından 121°C'de 15 dakika otoklavda (Tomy Model SX-700E Autoclave, Tokyo, Japonya) steril edilmiştir.

Hazır PBS karışımının içeriği:

0.138 M NaCl

0.0027 M KCl



Şekil 3.5.3. Hazırlanan PBS Süspansiyonu

Brain Heart Infüsiyon (BHI) Sıvı Besiyerinin Hazırlanması

Brain Heart Infüsiyon Broth (Neogen culture media, UK) dehidre besiyerinin her 1 litre için içeriği şu şekildedir:

Beyin- Kalp İnfüzyonu	17,5 (12,5-5,0) g
Tryptose.....	10,0 g
Glukoz.....	2,0 g
Sodyum Klorid	5,0 g
Disodyum Hidrojen Fosfat	2,5 g

Bir litre distile suya 37 gr BHI besiyeri eklenmiş ve pH 7,4 olarak ayarlanmıştır. Daha sonra %5 oranında glukoz eklenerek 121°C’de 15 dakika otoklavda (Tomy Model SX-700E Autoclave, Tokyo, Japonya) steril edilmiştir (Şekil 3.5.4).



Şekil 3.5.4. Hazırlanan BHI süspansiyonu

Kanlı Agar Besiyerin Hazırlanması

Bakterileri üretmede kullanılan Kanlı Agar besiyerinin içeriği:

Sığır Eti Ekstraktı: 10,0 gr/l

Dengeli Pepton: 10,0gr/l

Sodyum Klorid: 5,0 gr/l

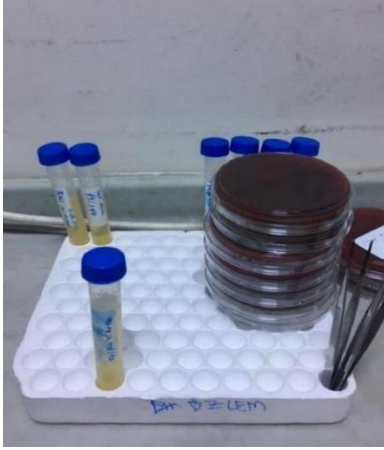
Agar :12 gr/l

pH: 7,4 ± 0,2

Defibrinleştirilmiş Koyun Kanı: %5

3.5.3. Bakteri Süspansiyonun Hazırlanması

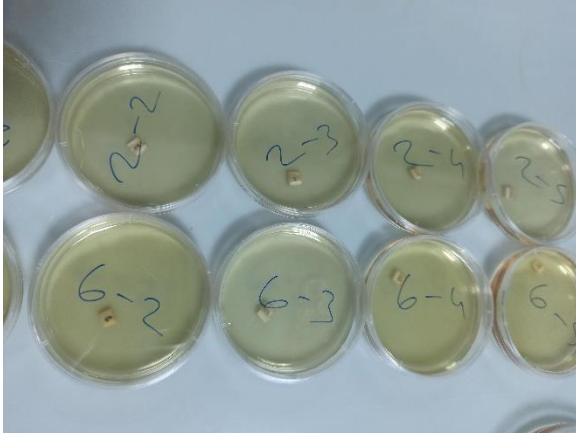
Streptococcus mutans liyofilize suşu açılarak %5 sükrözlu BHI (Neogen culture media, UK) sıvı besiyerine ekildi. 3-5 gün %5 CO₂'li 35 °C etüvde (Thermo/FormaThermo Fisher Scientific CO₂ Water Jacketed Incubator, Güney Karolina ABD) bekletilerek üremesi sağlandı. Ardından hazırlanan kanlı agara (Neogen culture media, UK) ekildi. *Streptococcus mitis* suşları, -80 °C stoktan açılarak çözdürüldü ve koyun kanlı agara ekildi. 24 saat aerobik %5 CO₂'li 35 °C etüvde (Thermo/FormaThermo Fisher Scientific CO₂ Water Jacketed Incubator, Güney Karolina ABD) bekletilerek üremeleri sağlandı. Üreyen kolonilerden, 5 ml %5 sükrözlu Brain Heart Infüzyon (BHI) sıvı besiyeri içeren tüplere transfer edildi. 24 saat %5 CO₂'li 35°C etüvde inkübe edildi. 24 saat sonunda tüpler 5 dakika santrifüj (Zentrifuge Rotofix 32 Hettich, Tuttlingen, Almanya) edildi. Her bir tüpe 5 ml PBS (Multicell, Kanada) eklendi ve ardından tekrar 15 saniye satrifüj edildi. Tüpün dibindeki çökeltiden 10⁹ (4 McFarland) bakteri süspansiyonu hazırlandı (Şekil 3.5.5).



Şekil 3.5.5. Hazırlanan kanlı agar ve bakteri süspansiyonları

3.5.4. Örneklerle Bakteri Adezyonunun Sağlanması

Otoklavda önceden steril edilmiş örnekler, steril petri kutularına alınıp üzerlerine 5 ml tükürük+müsin karışımından konulup, pelikül oluşması için, 1 saat 37 °C etüvde inkübe edildi. Sonrasında 5 ml serum fizyolojik ile yıkanarak yeni steril petrilere alındı. Her bir örneğin yüzeyine 200 µL hazırlanmış bakteri süspansiyonu eklendi ve 15 dakika bekletildi. Sonra herbir petriye örneğin üzerini kaplayacak şekilde %5 süktrozlu BHI sıvı besiyeri eklendi (Şekil 3.5.6).



Şekil 3.5.6. BHI besiyeri ilave edilen örnekler

Ardından, bakteri adezyonunun sağlanması için petrilerin 24 saat %5 CO₂'li 35°C etüvde (Thermo/FormaThermo Fisher Scientific CO₂ Water Jacketed Incubator, ABD) inkübasyonu sağlandı (Şekil 3.5.7).



Şekil 3.5.7. Etüvde bekletilen örnekler

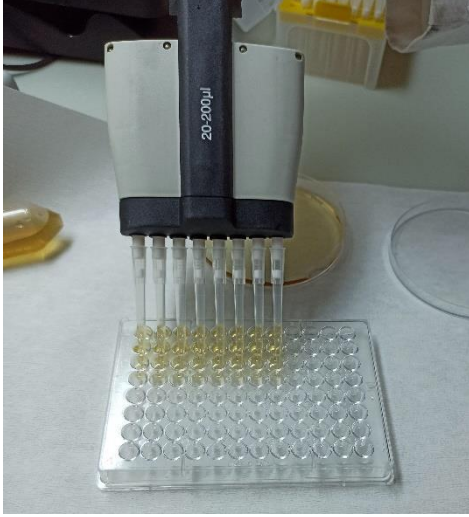
3.5.5. Örnekler Üzerindeki Bakteri Sayımının Yapılması

Örnekler bakteri adezyonunun tamamlanmasından 24 saat sonra, herbirinde 2ml PBS bulunan tüplere alındı ve vorteks cihazıyla (Scilogex MX-S Vortex Mixer, Scilogex, LLC, ABD) 60 saniye boyunca vortekslendi (Şekil 3.5.8).



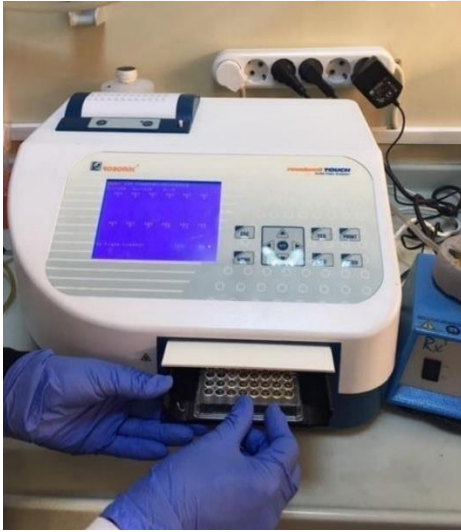
Şekil 3.5.8. Örneklerin vortekslenmesi

Doksan altı kuyucuklu mikropelatelerin herbir kuyucuğuna 200 μ L BHI sıvı besiyeri konuldu. Üzerine vortekslenen örneklerin yıkama suyundan 20 μ L eklendi (Şekil 3.5.9).



Şekil 3.5.9. Mikroplatelere bakteri eklenmesi

Mikroplatelerin 24 saat %5 CO₂'li 35°C etüvde inkübasyonu sağlandı. İnkübasyonun ardından mikroplatelerin otomatik mikroplate okuyucuda (Robonik-Readwell Touch Automatic ELISA Plate Analyzer, Maharashtra, Hindistan) 630 nm'de optik dansiteleri okutuldu (Şekil 3.5.10). Tüm işlemler her iki bakteri için de ayrı ayrı gerçekleştirildi.



Şekil 3.5.10. Mikroplatelerin okuyucuya yerleştirilmeleri

3.6. Örneklerin Üzerine Tutunan Bakterilerin Konfokal Lazer Taramalı Mikroskobu ile Görüntülenmesi

Bakteri adezyonu tamamlandıktan sonra görüntüleme yapılacak örnekler kurutma kâğıtlarının üzerine alındı. Daha sonra, örneklerin hassasiyet giderici yöntemler uygulanmış yüzeyleri yukarı gelecek şekilde örnekler lamlara tırnak cilası ile sabitlendi.

3.6.1. Floresan Boyanın Hazırlanması ve Örneklerin Boyanmasının Sağlanması

Lazer konfokal taramalı mikroskop değerlendirilmesi için LIVE/DEAD BacLight Viability Kit ((L13152) Invitrogen Molecular Probes, Eugene, OR) boya kombinasyonu kullanıldı. LIVE/DEAD BacLight Bakteriyel Canlılık Kitleri, SYTO 9 olan yeşil flouresan nükleik asit boyası ve propidium iyodür olan kırmızı flouresan nükleik asit boyalarından meydana gelmektedir. Tek başına kullanıldığında, SYTO 9 boyası genel olarak popülasyondaki sağlam membranlı ve hasarlı membranlı olaraktüm bakterilere nüfuz etmektedir. Bunun tersine, propidium iyodür boyası ise sadece hasarlı membranlara sahip bakterilere nüfuz etmektedir. Bu nedenle, uygun bir SYTO 9 ve propidium iyodür boya karışımı ile sağlam hücre zarlarına sahip bakteriler flüoresan yeşile, hasar görmüş zarlara sahip bakteriler flüoresan kırmızıya boyanmaktadır. LIVE/DEAD BacLight Kit (L13152), kutusunda iki transfer pipet (A ve B pipeti) vardır ve içinde önceden hazırlanmış ayrı ayrı SYTO 9 ve propidium iyodür boya karışımı mevcuttur.

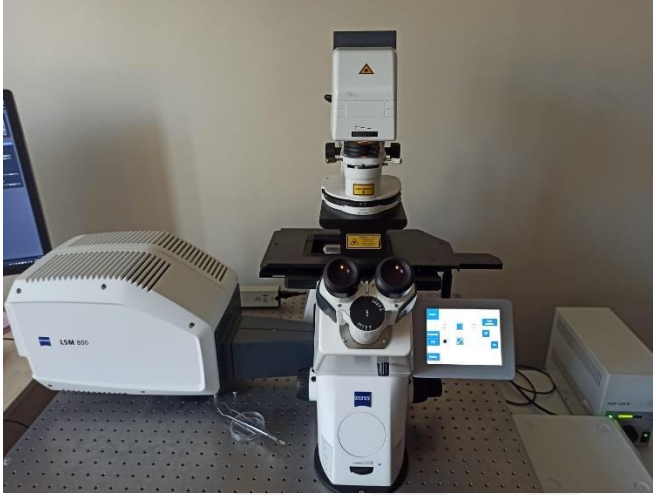
Hem A pipetindeki (sarı-turuncu boya içeren) hem de B pipetindeki (mor boya içeren) içerik 5 mL distile su ile karıştırılarak LIVE/DEAD BacLight boya çözeltisi hazırlandı. Daha sonra lamlara yapıştırılan her örneğin üzerine kaplayacak şekilde (ortalama 2 µl) boya karışımından örneğin tüm yüzeyi boyandı. Karanlık ortamda oda sıcaklığında 15 dk bekletildi. Ardından boya artıklarının uzaklaştırılması için örneklerin yüzeyi 5 ml steril serum fizyolojik ile yıkandı (Şekil 3.6.1).



Şekil 3.6.1. Örneklerin steril serum fizyolojik ile yıkanması

3.6.2. Görüntü Analizinin Yapılması

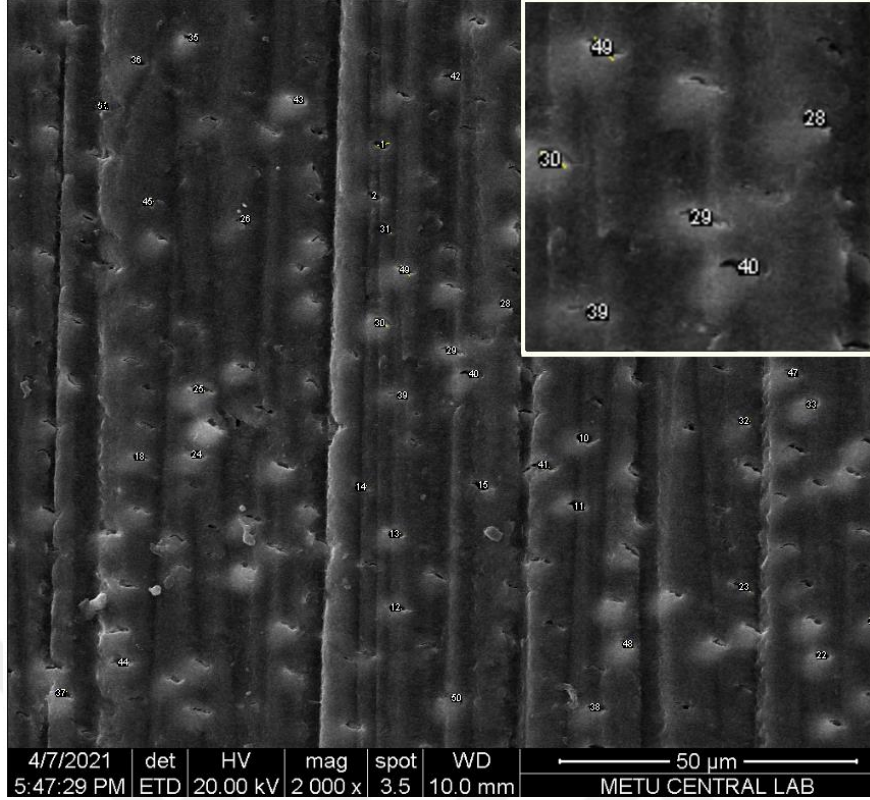
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvarında bulunan lazer taramalı konfokal mikroskop (Zeiss Lsm 510 Meta, Zeiss GmbH, Jena, Almanya) kullanılarak örneklerin görüntülenmesi yapılmıştır (Şekil 3.6.2).



Şekil 3.6.2. Görüntülemeye kullanılan konfokal lazer taramalı mikroskobu

3.7. Örneklerin Dentin Geçirgenliklerinin Ölçülmesi

SEM ile yüzey morfolojisi ve dentin tübüllerindeki tıkanıklıklar veya açıklıklar gözlemlendi. Tedavi protokollerini takiben, dentin örnekleri 24 saat oda sıcaklığında yapay tükürükte (pH 7,2) tutuldu, distile su ile yıkandı ve havayla kurutuldu. Numuneler kritik noktaya kadar kurutuldu ve bir püskürtmeli kaplayıcıda 5 nm altın tabaka ile kaplandı. Altın püskürtülen numuneler, 10 kV'luk bir hızlanma voltajında SEM'in vakum odasına yerleştirildi. Dentin tübül açıklıklarındaki morfolojik değişiklikleri incelemek için her dentin örneğinin SEM görüntüleri $\times 2000$ büyütmede alınmıştır. Görüntüler, $\times 2000$ büyütmede açık dentin tübüllerin sayısını ve çapını belirlemek için değerlendirildi (Şekil 3.7.1). Image J programı kullanılarak, daha önceki çalışmalarda kullanılan yöntemlere benzer şekilde açık tübül sayısı belirlendi ⁽¹⁷³⁾. Renk filtreleri ile tanımlanan dentin tübüllerinin içi ve dışı arasındaki gri piksel farkları yardımıyla hesaplamalar Image J yazılım versiyonu 1.47 s (NIH, Bethesda, MD, ABD) ile yapılmıştır. Tüm analizler aynı deneyimli denetçi tarafından yapılmıştır. Her görüntüdeki toplam açık tübül sayıları ve çapları tüm numuneler için hesaplandı.



Şekil 3.7.1. Dentin tübül açıklıklarındaki morfolojik değişiklikleri incelemek için her bir grubun dentin örneğinden x2000 büyütmede alınan SEM görüntüleri üzerinden, açık dentin tübülü sayısı ve açık dentin tübülü çaplarının Image J programıyla analizinin temsili bir görüntüsü.

3.8. Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi İçin İstatistiksel Analizlerin Yapılması

Çalışmamızda SPSS 22 paket programı (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi için ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey HSD test analizleri kullanılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalarda bağımsız gruplar t-testi kullanılmıştır.

Tüm sonuçlar için anlamlılık düzeyi $p=0.05$ olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

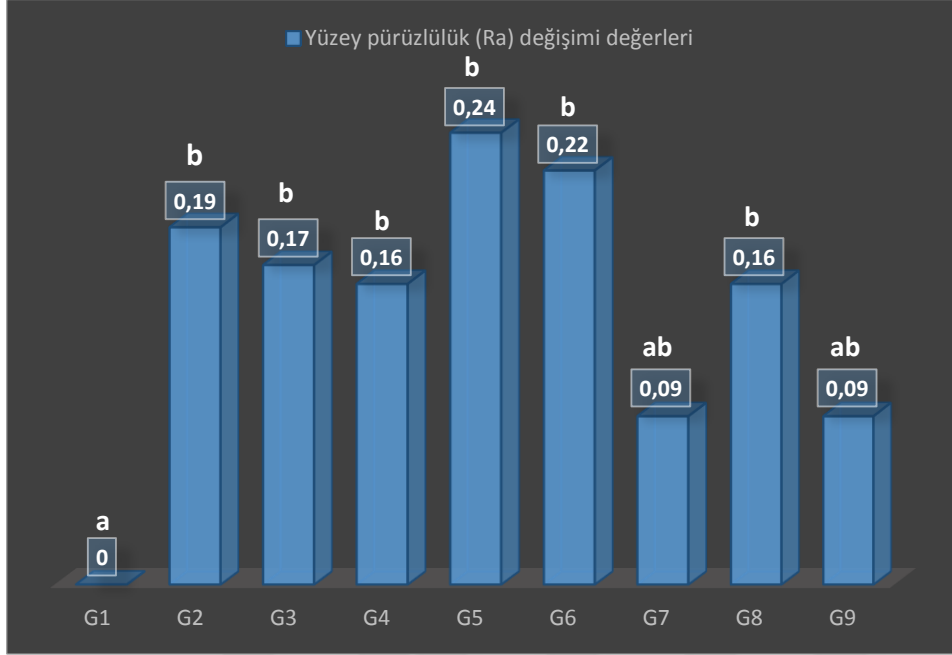
4.1. Yüzey Pürüzlülüğü Bulguları

Numunelerin yüzey pürüzlülüğü (Ra) değişimlerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.1.1 ve Şekil 4.1.1’de gösterilmiştir. Bu çalışmada yapılan istatistiksel değerlendirmelerin sonucunda hassasiyet giderici yöntemin uygulanmadığı G1 grubu ile G7 ve G9 gruplarının pürüzlülük değişimi benzer bulunmuştur ($p<0,05$). G1 grubunun pürüzlülük değişiminin diğer gruplardan anlamlı şekilde düşük olduğu görülürken ($p<0,05$), diğer gruplar pürüzlülük değişimi açısından birbirleriyle benzer sonuçlar göstermiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.1.1. Yüzey pürüzlülüğü değişiminin (Ra) ortalama ve standart sapma değerleri (μm)

Gruplar	Yüzey İşlemleri	Pürüzlülük Değişim Değerleri (μm)
G1	Kontrol	$0,00 \pm 0,012^a$
G2	NaF	$0,19 \pm 0,25^b$
G3	CPP-ACP	$0,17 \pm 0,16^b$
G4	Er,Cr:YSGG	$0,16 \pm 0,11^b$
G5	Diod	$0,24 \pm 0,09^b$
G6	NaF+Er,Cr:YSGG	$0,22 \pm 0,19^b$
G7	CPP-ACP+Er,Cr:YSGG	$0,09 \pm 0,06^{ab}$
G8	NaF+Diod	$0,16 \pm 0,1^b$
G9	CPP-ACP+Diod	$0,09 \pm 0,07^{ab}$
Tek yönlü varyans analizi ve Tukey HSD sonuçlarına göre her sütundaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak farklı grupları göstermektedir. ($p<0,05$).		

Şekil 4.1.1. Yüzey pürüzlülüğü değişiminin (Ra) ortalama değerleri (µm) (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0,05)).



4.2. Bakteri Adezyonu Bulguları

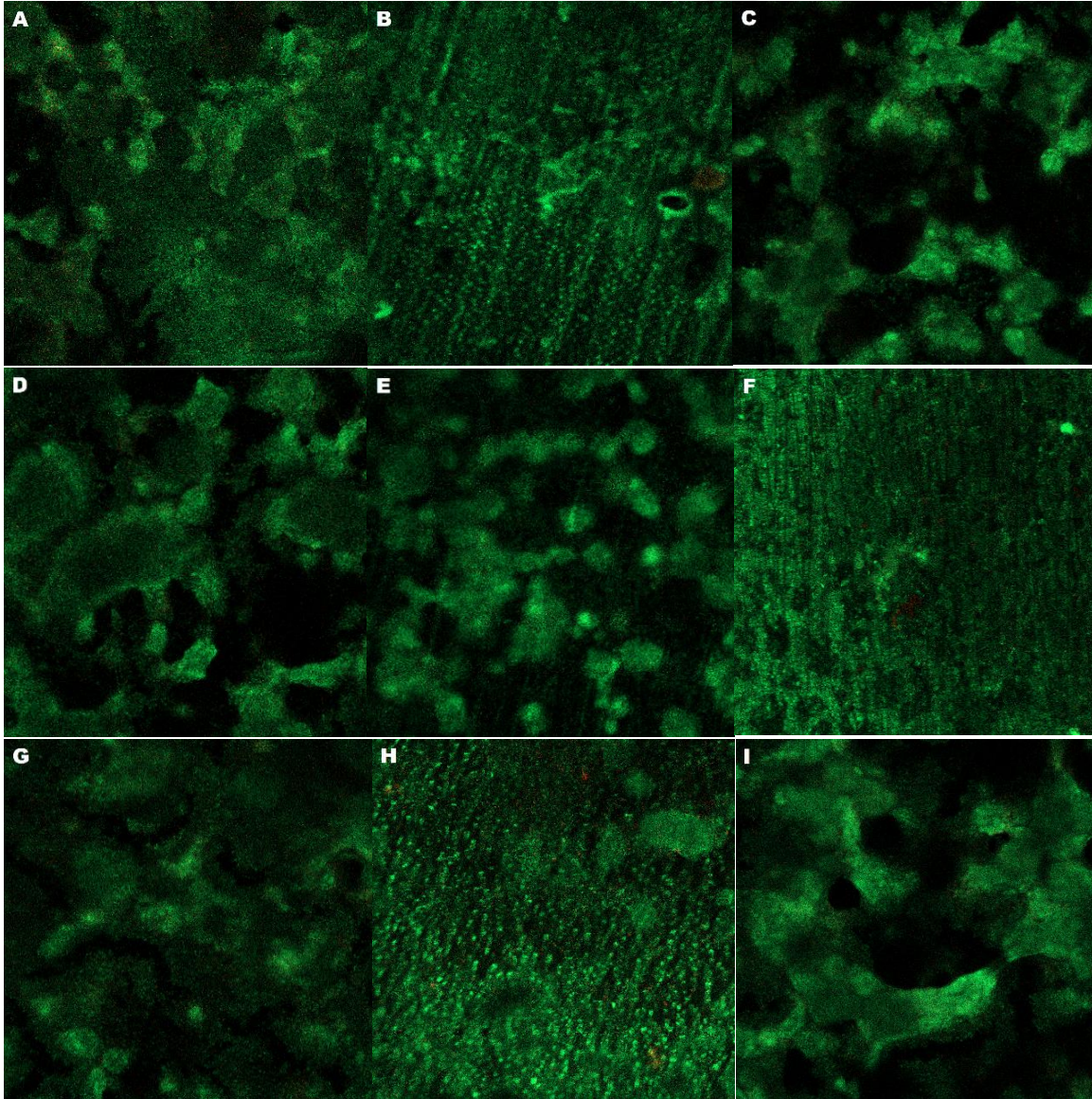
Numunelerin *S. mutans* ve *S. mitis* bakteri adezyon yoğunluğunun ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.2.1’de gösterilmektedir. Tüm gruplarda *S. mutans* ve *S. mitis* bakteri sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05). Bütün gruplar birbirine yakın bakteri yoğunluğu göstermiştir.

Tablo 4.2.1. *S. mutans* ve *S. mitis* adezyonu ortalama ve standart sapma değerleri

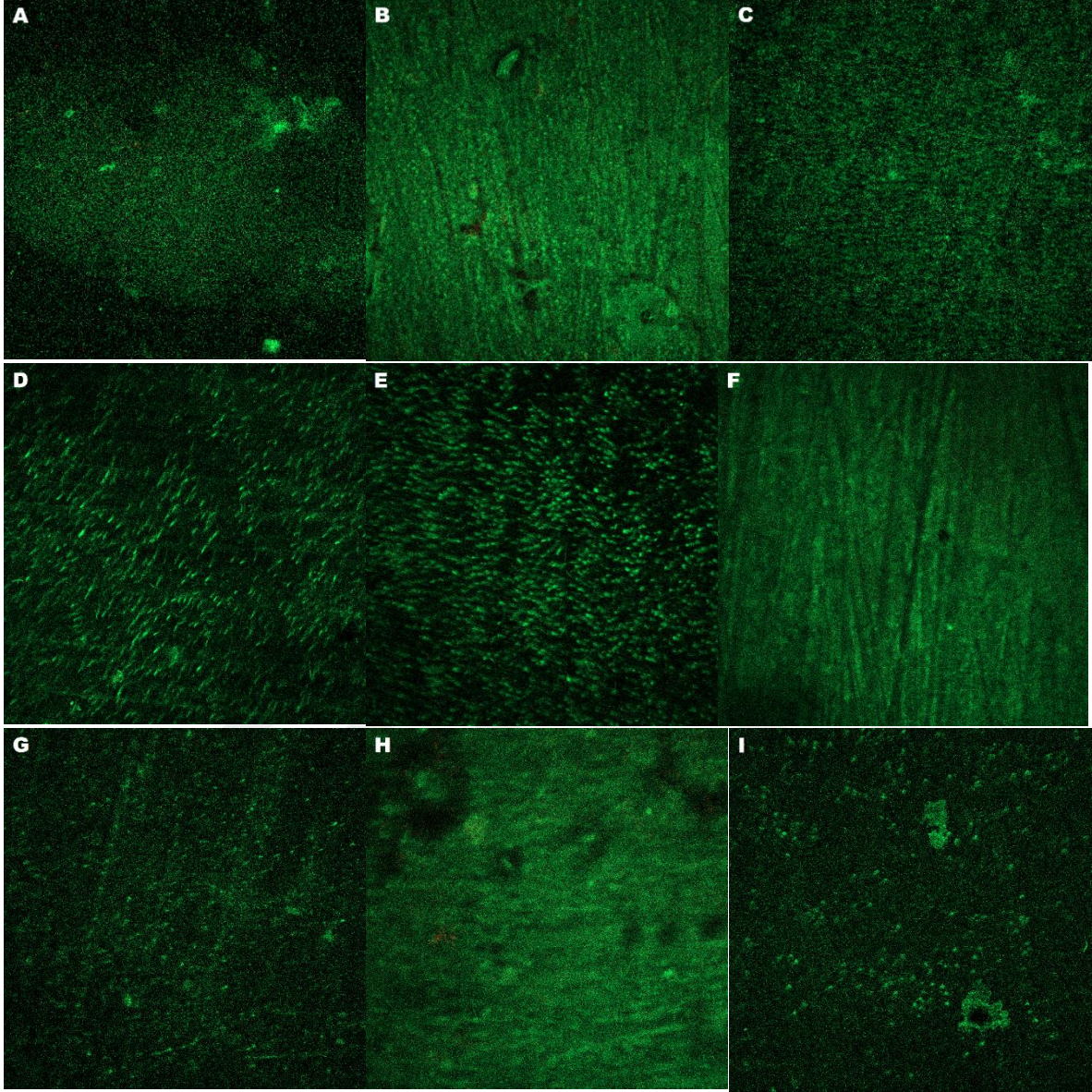
Gruplar	Yüzey İşlemleri	<i>Streptococcus mutans</i> (10 ⁹ CFU/ml)	<i>Streptococcus mitis</i> (10 ⁹ CFU/ml)
G1	Kontrol	2,35 ± 1,93 ^a	8,45 ± 3,88 ^a
G2	NaF	2,51 ± 1,14 ^a	7,16 ± 9,80 ^a
G3	CPP-ACP	2,58 ± 0,66 ^a	4,64 ± 3,95 ^a
G4	Er,Cr:YSGG	3,28 ± 1,34 ^a	5,35 ± 4,66 ^a
G5	Diod	5,45 ± 2,90 ^a	6,01 ± 1,83 ^a
G6	NaF+Er,Cr:YSGG	2,46 ± 1,34 ^a	2,98 ± 1,45 ^a

G7	CPP-ACP+ Er,Cr:YSGG	$4,01 \pm 2,20^a$	$4,56 \pm 2,64^a$
G8	NaF+Diod	$3,74 \pm 2,48^a$	$6,28 \pm 1,71^a$
G9	CPP-ACP+Diod	$5,42 \pm 2,38^a$	$9,3 \pm 8,39^a$
Tek yönlü varyans analizi ve Tukey HSD sonuçlarına göre her sütundaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak farklı grupları göstermektedir. ($p<0,05$).			

Konfokal lazer taramalı mikroskop (CLSM) incelemesinde (Şekil 4.2.1 ve Şekil 4.2.2), tüm dentin numunelerinin üzerinde olgun, çok tabakalı, biyofilm yapılarının varlığı gözlenmiştir. Canlı hücreler yeşil, ölü hücreler ise kırmızı renkli olarak görünmektedir. Genel olarak numunelerin yüzeylerinde canlı hücrelerin daha yüksek prevalansı olduğu gözlenmiştir.



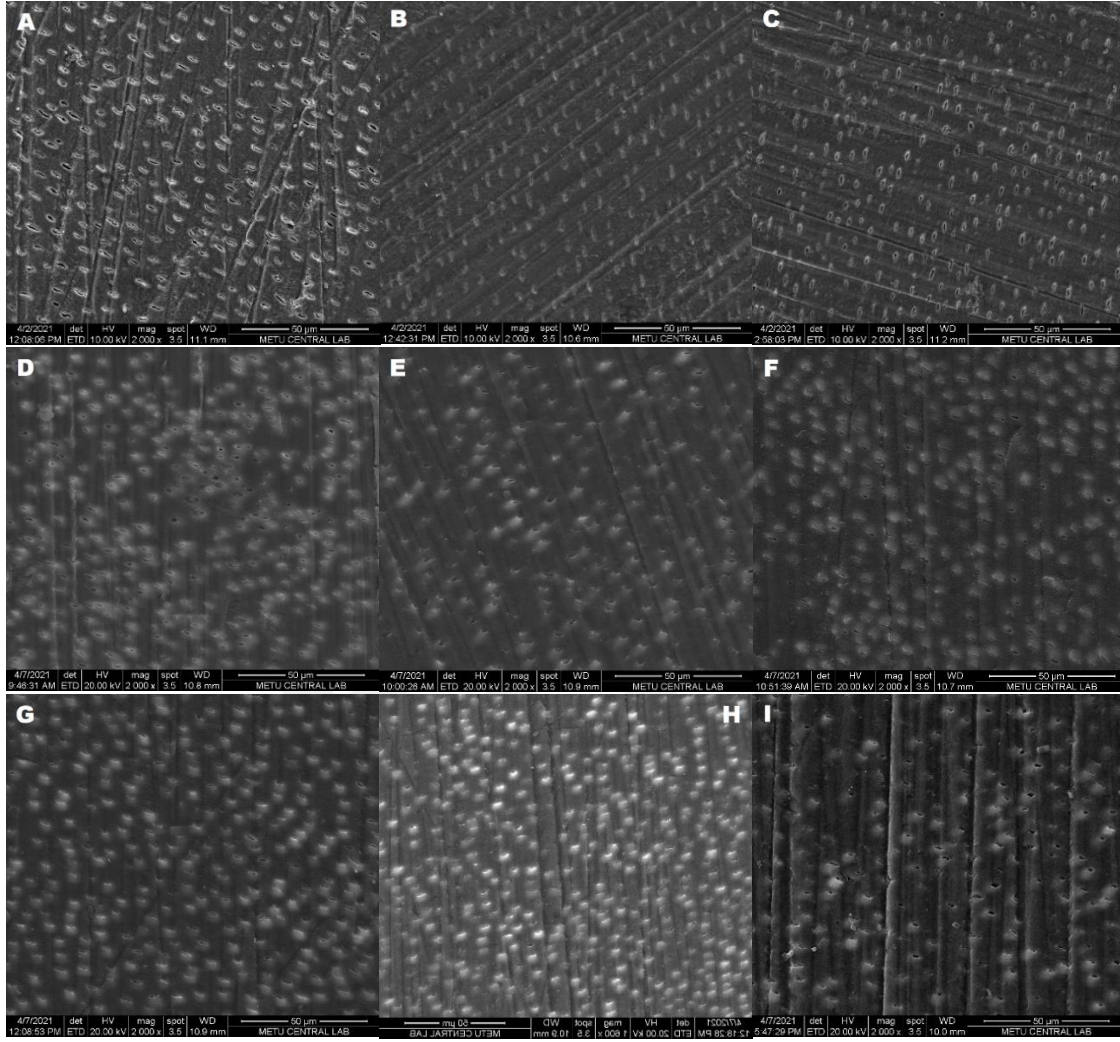
Şekil 4.2.1. *S. mutans* adezyonu yapılmış her bir grubun dentin örneğinden alınan temsili CLSM görüntüleri. Görüntüler kontrol (A), NaF (B), CPP-ACP (C), Er,Cr:YSGG (D), Diod (E), NaF+Er,Cr:YSGG (F), CPP-ACP+Er,Cr:YSGG (G), NaF+Diod (H) ve CPP-ACP+Diod (I) gruplarını temsil etmektedir.



Şekil 4.2.2. *S. mitis* adezyonu yapılmış her bir grubun dentin örneğinden alınan temsili CLSM görüntüleri. Görüntüler; kontrol (A), NaF (B), CPP-ACP (C), Er,Cr:YSGG (D), Diod (E), NaF+Er,Cr:YSGG (F), CPP-ACP+Er,Cr:YSGG (G), NaF+Diod (H) ve CPP-ACP+Diod (I) gruplarını temsil etmektedir.

4.3. Dentin Geçirgenliği Bulguları

Numunelerin SEM görüntüleri üzerinden Image J programıyla açık dentin tübülü sayıları ve tübül çapları hesaplandı (Şekil 4.3.1). Numunelerdeki açık dentin tübülü sayıları ve tübül çaplarının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.3.1’de ve Şekil 4.3.2 ile Şekil 4.3.3’de gösterilmektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmelerin sonucunda, gruplar arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0,05$).

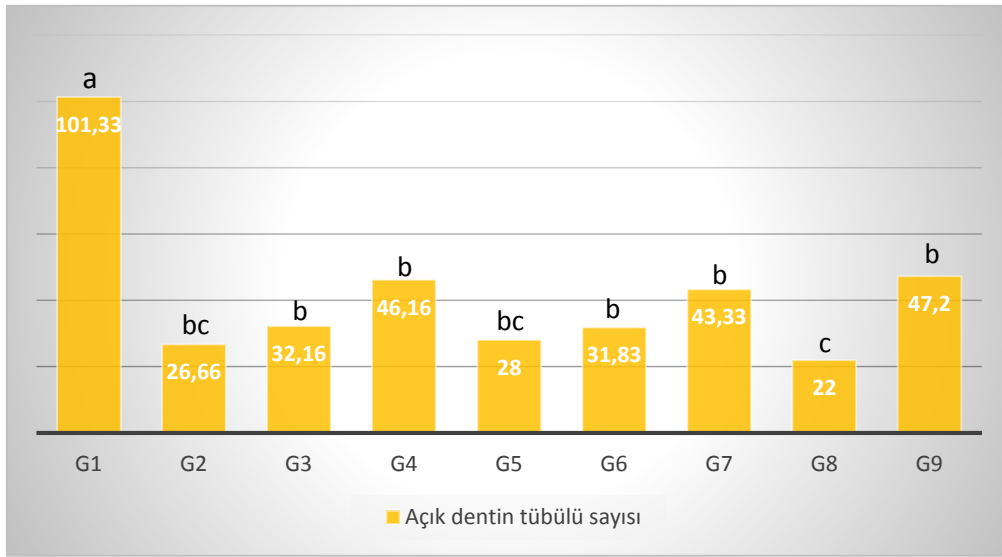


Şekil 4.3.1. Image J programıyla açık dentin tübülü sayıları ve tübül çapları hesaplanan numunelerin temsili SEM görüntüleri. Görüntüler; kontrol (A), NaF (B), CPP-ACP (C), Er,Cr:YSGG (D), Diod (E), NaF+Er,Cr:YSGG (F), CPP-ACP+ Er,Cr:YSGG (G), NaF+Diod (H) ve CPP-ACP+Diod (I) gruplarını temsil etmektedir.

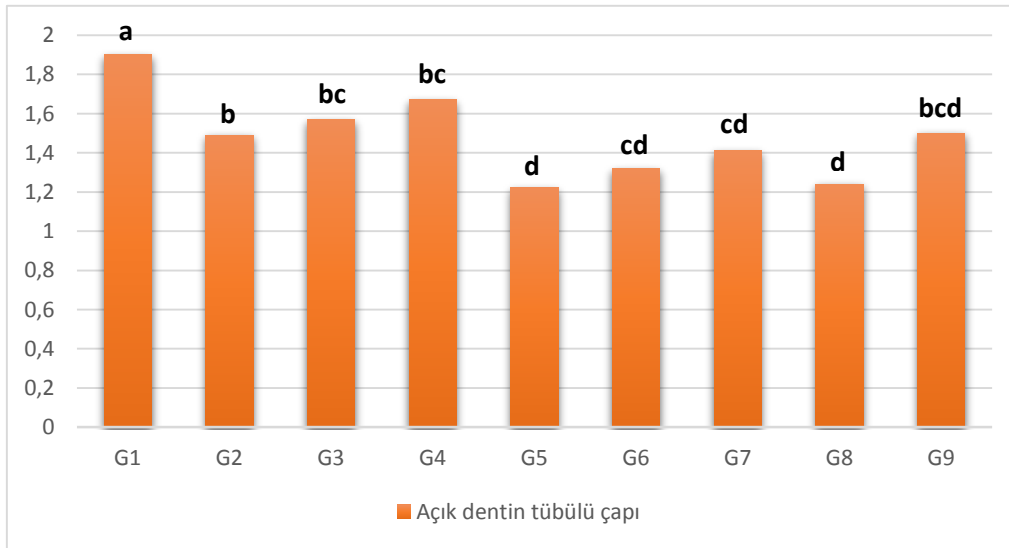
Tablo 4.3.1. Açık dentin tübülü sayısı ile açık dentin tübülü çapı (µm) ortalama ve standart sapma değerleri

Gruplar	Yüzey İşlemleri	Tübül sayısı	Tübül çapı
G1	Kontrol	$101,33 \pm 21,00^a$	$1,90 \pm 0,18^a$
G2	NaF	$26,66 \pm 7,90^{bc}$	$1,49 \pm 0,25^b$
G3	CPP-ACP	$32,16 \pm 6,20^{bc}$	$1,57 \pm 0,13^{bc}$
G4	Er,Cr:YSGG	$46,16 \pm 4,30^b$	$1,67 \pm 0,12^{bc}$

G5	Diod	$28 \pm 6,60^{bc}$	$1,22 \pm 0,17^d$
G6	NaF+Er,Cr:YSGG	$31,83 \pm 4,40^{bc}$	$1,32 \pm 0,16^{cd}$
G7	CPP-ACP+Er,Cr:YSGG	$43,33 \pm 5,00^b$	$1,41 \pm 0,12^{cd}$
G8	NaF+Diod	$22 \pm 3,80^c$	$1,24 \pm 0,21^d$
G9	CPP-ACP+Diod	$47,2 \pm 5,80^b$	$1,50 \pm 0,15^{bcd}$
Tek yönlü varyans analizi ve Tukey HSD sonuçlarına göre her sütundaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak farklı grupları göstermektedir. ($p<0,05$).			



Şekil 4.3.2. Açık dentin tübülü sayısının ortalama değerleri (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p<0,05$)).



Şekil 4.3.3. Açık dentin tübülü çapının (µm) ortalama değerleri (Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p<0,05$)).

Yapılan istatistiksel değerlendirmelerin sonucunda tüm hassasiyet giderici yöntemlerin açık dentin tübülü sayısı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha azdır ($p<0,05$). Yine aynı şekilde kontrol grubuyla kıyaslandığında tüm grupların açık dentin tübülü çapı anlamlı derecede daha dardır ($p<0,05$). NaF uygulaması sonrası açık dentin tübülü sayısı NaF+Er,Cr:YSGG, NaF+Diod, CPP-ACP ve diod gruplarıyla benzer bulunurken ($p<0,05$), NaF uygulamasının diod ve Er,Cr:YSGG lazer ile uygulandığı gruplarda tübül çapı daha dar bulunmuştur ($p<0,05$).

5. TARTIşMA

Dentin hassasiyeti, hastaların yaşam kalitesini etkileyen, ağız hijyeni uygulamalarını güçleştiren ve sonrasında kötü ağız hijyenine bağlı olarak ortaya çıkan periodontal rahatsızlıklar nedeniyle önemli bir sorundur.

Dentin hassasiyeti dişte herhangi bir defekt ya da patoloji olmadığı halde termal, dokunma, ozmotik veya kimyasal uyarılara cevap olarak gelişen ve uyaran ortadan kalktıktan sonra kesilen lokalize, kısa süreli ve keskin ağrı olarak tanımlanmıştır ⁽¹⁾. Hassasiyetin herhangi bir dişte veya yüzeyde görülebildiği, dişlerin daha çok bukkal servikal bölgelerinin etkilendiği gözlenmiştir ⁽¹⁷⁴⁾.

Dentin hassasiyetini açıklamada en çok kabul gören hipotez hidrodinamik teoridir. Hidrodinamik teoriye göre dentin hassasiyeti, dentin tübüllerindeki sıvının hareketi ile meydana gelir. Pulpadaki açık sinir uçları bu sıvının hareketi ile uyarılır ve ağrı gelişir ⁽⁴¹⁾.

Dentin tabakasını kapatan mine ve sement gibi dokuların uzaklaşmasıyla dentin tübülleri açılır ⁽²⁹⁾. Ağız ortamına açılan dentin tübüllerinin, uyarıları diş yüzeyinden pulpaya iletmeye önemli bir rol oynadıkları ve dentin hassasiyeti ile direkt ilişkili olduğu bilinmektedir ⁽⁹⁾. Kök yüzeyindeki dentin tübüllerinin sayısı ve genişliğiyle uyarının pulpaya iletim şiddeti doğru orantılıdır. Rapor edilen çalışmalara göre dentin hassasiyeti, diş yüzeylerinde ağız ortamına açılan dentin tübüllerinin sayısı ve genişliği ile bağlantılıdır ^(175, 176). Dentin hassasiyetinde tübül çaplarının sayıca daha büyük ve çok olduğu bildirilmiştir ⁽¹⁷⁶⁾. Bu nedenle başarılı bir dentin hassasiyeti tedavisi, dentin tübüllerini kısmen daraltmayı veya kalıcı olarak tıkamayı amaçlar. Tübüllerin uzun süre tıkanması ve ağız ortamındaki değişikliklere karşı dirençli olması istenen sonuçtur.

Grossman'ın 1935 yılında ⁽¹¹⁾ öne sürdüğü ve günümüzde de halen geçerliliğini koruyan kriterleri bugün pek çok hassasiyet tedavisi araştırmasına ışık tutmuş bu bağlamda yapılan pek çok çalışmanın başarı kriterleri bu standartlara göre şekillenmiştir. Grossman'ın kriterlerine göre: tedavi ajanı pulpayı irrite etmemeli, uygulamada ağrı meydana getirmemeli, kolay uygulanabilir olmalı, hızlı etki edebilmeli, etkisi uzun sürebilmeli, boyayıcı etkisi olmamalı ve tedavi etkinliğini korumalıdır ⁽⁷⁾. Günümüzde pek çok tedavi stratejisi bu kriterlerin tamamını yahut birkaçını yerine getirmekte yetersiz kalmıştır ve dentin hassasiyeti için farklı tedavi seçenekleri denenmiş olsa da şu anda altın standart olarak kabul edilebilecek bir tedavi henüz bulunamamıştır ⁽¹⁷⁷⁾.

Dentin hassasiyetinin giderilmesini sağlamak için iki tedavi yaklaşımı kullanılmıştır. İlk yaklaşım, potasyum iyonlarının tübüller yoluyla sinirlerin A liflerine nüfuz etmesiyle ağrı uyaranlarına verilen nöral yanıtı kesmek ve böylece bu sinirlerin uyarılabilirliğini azaltmaktır. İkincisi, hidrodinamik mekanizmayı bloke etmek için açık tübülleri tıkamaktır ⁽¹⁷⁸⁾.

Hassasiyet giderici ajanların çoğu potasyum tuzları, stronsiyum tuzları ve/veya florür bileşikleri içerir. Bu bileşikler, hassasiyet giderici etkilerini üretmek için farklı yaklaşımlar kullanır. Potasyum nitrat ve potasyum sitrat gibi potasyum tuzları, ağrı ileten sinirlerin uyarılabilirliğini azaltmak için potasyum iyonları sağlar. Stronsiyum klorür ve stronsiyum asetat gibi stronsiyum tuzları, gözenekli dentin tübülleri içinde ve açığa çıkan dentin yüzeyinde mineralize tortular oluşturur.

Sodyum florür (NaF) gibi florür bileşikleri ise, remineralizasyonu teşvik eden ve açığa çıkan dentin yüzeyindeki dentin tübül açıklıklarını tıkayan, kalsiyum florür başta olmak üzere çözünmeyen metal bileşiklerinin bir çökeltisini oluşturur ⁽¹⁷⁸⁾.

Florürün (NaF) hassasiyet giderici ajan olarak kullanılabileceği ilk kez 1941 yılında Lukomsky tarafından ileri sürülmüş ve klinik bir araştırma ile kanıtlanmıştır ⁽⁷³⁾. Sodyum florür diş macunlarında ve topikal formlarda farklı konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Açığa çıkmış kök yüzeyinde etkili olduğuna dair çok sayıda çalışma vardır ⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾. Topikal olarak uygulandığında, kalsiyum florür (CaF₂) iyonlarının çökmesini sağlayarak dentin yüzeyi üzerinde bariyer oluşturmaktadır ⁽⁷⁷⁾. Florürün hassasiyet giderici etkisinin, açığa çıkmış olan dentin tübüllerinin tıkanması ve bunun sonucunda da uyarı iletimini engellenmesi sonucu oluştuğu bildirilmiştir ⁽⁷⁸⁾. Mekanizma, asıl olarak NaF ile dentin sıvısı içerisindeki kalsiyum iyonları arasındaki reaksiyon ile alakalı olup bu reaksiyon sonucunda açık olan dentin tübüllerinde kalsiyum florür kristallerinin çökerek bir tıkaç oluşturmaya dayanmaktadır ⁽⁷⁹⁾.

Diğer taraftan Tal ve ark. ⁽¹⁷⁹⁾ florürün hassasiyet giderici etkilerine dair yaptıkları çalışmada florür birleşiklerinin açığa çıkmış dentin tübüllerine çökerek blokajın sağlandığını ya da tübüllerdeki florürün uyaran iletimini bloke ettiğini ileri sürmüşlerdir. Çökelen CaF₂ kristallerinin, kristal boyutları küçük olduğundan (yaklaşık 0,05 µm) dentin tübüllerinin tıkanmasının tek bir uygulama ile sağlanamayacağı ve çoklu uygulamalar yapmak gerekliliği belirtilmiş ⁽⁷⁹⁾ ve etkisini uzatmaya yönelik çalışmalar yapılmıştır. Biz de dentin hassasiyeti tedavisinde en sık kullanılan ajanlardan biri olan NaF'ü çalışmamıza dâhil ettik.

Son zamanlarda, bir remineralizasyon maddesi geliştirmek için süt proteini kazeini kullanılmıştır. Kazein fosfopeptidi (CPP), amorf kalsiyum fosfat (ACP) ile bağlanan ve stabilize olan fosfoseril dizileri içerir (180). Stabilize edilmiş CPP-ACP, kalsiyum ve fosfat iyonlarının çözünmesini önler ve biyoyararlı kalsiyum ve fosfatların aşırı doymuş solüsyonunu korur ⁽¹⁸⁰⁾. Çeşitli çalışmalar, CPP-ACP'nin yüzey altı mine lezyonlarını etkili bir şekilde remineralize edebildiğini ve florür varlığında sinerjik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir ⁽¹⁸¹⁾. Remineralizasyon kapasitesi sayesinde, üreticiler tarafından dentin hassasiyetinin önlenmesinde ve tedavisine de yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. Böylelikle bizim çalışmamızda kullandığımız hassasiyet giderici ajanlardan bir diğeri ise CPP-ACP olmuştur.

Dentin hassasiyetini azaltmak için bir başka alternatif de lazer tedavileridir. Önceki çalışmalar, ışınlama sırasında hedef doku yüksek sıcaklıklara ulaştığından, yüksek yoğunluklu lazerlerin dentinin erimesi ve yeniden katılaşması nedeniyle dentin tübüllerini tıkayabildiğini göstermiştir ^(182, 183). Lazer tedavileri hastalar için güvenli, hızlı, temiz ve ağrısız olarak kabul edilir ⁽¹⁸⁴⁾. Diğer tedavi yöntemlerine göre bir avantajı da, tedavi süresi olacaktır ve lazer, dentin morfolojisini değiştirdikçe, bu doku, dentin tübüllerinin yeniden açılmasını teşvik edecek asit ve aşındırıcı zorluklara karşı daha dirençli hale gelecektir.

Literatürde, dentin hassasiyeti tedavisi için Nd:YAG, Er,Cr:YSGG ve diod lazerlerin klinik etkinliğini gösteren birçok çalışma mevcuttur ^(185, 186). Bundan dolayı dentin hassasiyeti tedavisinde son zamanlarda sıklıkla kullanılan lazerlerden olan Er,Cr:YSGG ve diod lazeri biz de çalışmamızda kullandık.

Daha etkin tedavi arayışları, farklı tedavi yaklaşımlarının kombine edilmesini de gündeme getirmiştir. Literatürde lazerler ve dentin hassasiyeti tedavisinde kullanılan kimyasal ajanların birlikte kullanımı ile ilgili yapılan çok sayıda çalışma mevcuttur ^(53, 187-190). Kombinasyon çalışmaları, farklı mekanizmalarla etki eden yaklaşımların etkilerinin birleştirilerek artırılmasını amaçlamaktadır ⁽¹⁹¹⁾. Buradan yola çıkarak biz de çalışmamızda kullandığımız iki

ajanı; NaF ve CPP-ACP'yi, Er,Cr:YSGG ve diod lazerle birlikte kombinasyonlar halinde dentin örneklerine uyguladık.

Sonuç olarak dentin hassasiyetinin tedavisi için birçok hassasiyet giderici ajan ve farklı yöntem kullanılmıştır. Bu ajanlar topikal olarak evde uygulanabileceği gibi klinikte diş hekimleri tarafından da uygulanmaktadır. Evde uygulanan ajanların uzun sürede etki ettiği ve düşük maliyetli olduğu, klinikte uygulananların ise daha profesyonel ve etkili olduğu bilinmektedir ⁽¹⁰⁾. Topikal olarak uygulanan bu ajanlara alternatif olarak lazerlerin de kullanıldığı ve dentin hassasiyetini azalttığı bildirilmiştir ⁽¹⁹²⁾. Klinik olarak uygulanan bu ajanların ve lazerlerin açık dentin tübüllerini kapatarak dentin hassasiyetini azalttığı düşünülmektedir ⁽⁴⁴⁾.

Bu çalışmada klinikte profesyonel olarak kullanılan ajanların ve lazerlerin dentin yüzeyinin pürüzlülüğüne, bakteri adezyonuna ve dentin geçirgenliğine etkisi *in vitro* olarak incelenmiştir.

Çalışmamızda standardize edilebilir geçirgenlik özelliğine sahip ve kolayca elde edilebilen sığır kesici dişleri kullanılmıştır ⁽¹⁹³⁾. Standardizasyon için tüm dentin örnekleri sığır kesici dişlerinin dentininden elde edilmiştir. Örneklerin yüzey alanlarını standardize etmek ve ölçümler sırasında aynı alanı belirlemek için dijital kumpas kullanılmıştır.

Literatürde hassasiyet giderici ajanların *in vitro* olarak değerlendirildiği çalışmalarda dentin tübüllerini açığa çıkartmak için dentin yüzeyine değişen sürelerde ve konsantrasyonlarda EDTA uygulandığı bildirilmektedir ^(182, 194). Biz de çalışmamızda dentin hassasiyeti semptomları gösteren dişlerin kök yüzeylerinde görülen ağız ortamına açılmış dentin tübüllerini taklit etmek adına, tedavi protokollerinden önce tüm dentin örneklerine %19 EDTA (etilendiamin tetraasetik asit, MD-ChelCream, Meta-Biomed Co., Ltd., Kore) jeli uyguladık ve 1 dakika bekledikten sonra her numuneyi distile su içinde temizledik. Bu prosedür, dentin tübüllerini açarak, maruz kalan dentin modelini taklit etti.

Çürük ve periodontal hastalıkların temel nedeni olarak mikrobiyal dental plak ile biyofilmler görülmektedir ^(136, 195). Oral mikrobiyom, diş sert ve yumuşak dokularıyla birlikte restoratif materyallere de kolonize yüzlerce mikroorganizmadan meydana gelir ⁽¹⁹⁶⁾. Yapıştıkları yüzeylerin fiziko-kimyasal özellikleri mikroorganizmaları etkilemektedir ⁽¹⁹⁷⁾.

Oral kavitede çok sayıda farklı bakteri bulunmaktadır. Çürük ve aktif plakla ilişkili olan *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* ve *Actinomyces* türleri bu mikroorganizmalardan birkaçıdır. Mikroorganizmalar oral kavite içinde çeşitli ekolojik ortamlarda bulundukları için, yer aldıkları biyofilm topluluklarına göre önemli farklılıklar göstermektedir. Dişler,

Streptococcus sanguis ve *Streptococcus mitis*'in egemen olduğu biyofilm topluluğuna sahiptir (138).

Bunun yanında, karbonhidratların (sakkaroz, fruktoz, glukoz) sık tüketimi, asidojenik ve asidurik mikrofloraya destek görevi görmekte ve mineralizasyon döngüsünde dengenin dişlerin demineralizasyonuna doğru kaymasına sebebiyet vermektedir (198). Özellikle mutans streptokoklar tarafından üretilen laktik asit, çürük oluşumunu başlatarak mine matriksinin çözülmesine neden olmaktadır (198, 199). Bu nedenlerden dolayı, yaptığımız bu tez çalışmasında erken kolonize olan *S. mitis* ile çürükle ilişkili olan *S. mutans* bakterilerini ayrı ayrı değerlendirdik. Ve her iki bakterinin adezyon potansiyelini karşılaştırdık.

Bakteriyel kolonizasyonun ilk adımı, tükürükten elde edilen pelikül tabakasının oluşumudur (198). Pelikül oluşumundan sonra, bakteriyel adezyon bakterinin yüzeye taşınması, geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olarak başlangıç adezyonu gerçekleşir. Bunun ardından pelikül, belirli etkileşimlerle bağlanır ve bir biyofilm oluşturmak için kolonize olur (118). Substrat yüzeyi ile bakterilerin birincil etkileşimi, spesifik olmayan kuvvetler ile olmaktadır. Coulomb kuvvetleri, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik, elektrostatik ve Lewis asit-baz gibi yüzey ve bakteri arasındaki spesifik olmayan kimyasal ve kovalent etkileşimler de bakteri adezyon sürecini etkilemektedir (195). Bunun yanı sıra, özel etkileşimlerle bakteri ile yüzey arasında daha sağlam bir adezyon gerçekleşebilmektedir (198). Buna substrat yüzeyindeki pelikülün reseptör molekülleri ve bakteri yüzeyindeki spesifik bileşenler aracılık etmektedir (200). Böylelikle bakteriyel hücrelerin hidrofobik bölgeleri ve tükürük pelikülündeki reseptörlerin ikisi birden bakterilerin bir yüzeye adezyonunda etkili olmaktadır.

Bu çalışmada test edilen örnekler oral ortamı taklit etmesi amacıyla müsin içeren yapay tükürük ile kaplanmıştır. Tükürüğün, adezyon sürecini etkilediği bilinmektedir. Bununla birlikte pelikül oluşumunun mikroorganizmaların adezyonunu azalttığı ya da arttırdığı hakkında çelişkili kanıtlar bulunmaktadır (201).

Ayrıca, *in vivo* ve *in vitro* durum arasındaki farkı sadece tükürük varlığına indirgemek yeterli değildir. Çünkü farklı bakterilerin bulunması veya günlük beslenme gibi birçok farklı faktör de oral kavitedeki bakteri adezyonunu etkilemektedir (201, 202).

Yapılan bazı *in vitro* çalışmalarda doğal tükürük kullanılırken, bazılarında ise yapay tükürük kullanılmıştır (171, 172, 203, 204). Doğal tükürükte bulunan kişiye özel farklılıkların, yapay tükürük kullanımıyla ortadan kaldırılarak örneklerin yüzeylerinde standardizasyon sağlandığı belirtilmiştir. Buna ilaveten, yapay tükürüğün içeriğindeki müsin sayesinde, bakterilerin

örneklerin üzerine spesifik olarak tutunmasının sağlandığı düşünülmektedir ^(205, 206). Bunun yanısıra yapılan bir çalışmada, yapay tükürüğün, doğal tükürüğün tüm özelliklerini sağlamasının mümkün olmadığı belirtilmiştir ⁽¹⁶⁹⁾. Biz de çalışmamızda, hassasiyet giderici yöntemler uyguladığımız dentin örneklerinin yüzeylerinde standardizasyonu elde etmek ve müünden zengin pelikül tabakası meydana getirebilmek amacıyla biyofilm oluşumundan önce Fusuyama'nın formülünü referans alarak hazırlanmış olan yapay tükürüğü kullandık ^(169, 207).

Literatürde, biyofilm tabakasının oluşumu ve test edilmiş parametrelerin yapılandırılmış biyofilm üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla farklı inkübasyon süreleri kullanılmıştır. Eick ve ark.'nın çalışmasında bakteri enzim ve artıklarının, 24 saat sonunda bakteri canlılığının devamını engellediği belirtilmiştir ⁽²⁰⁵⁾

Ruttermann ve ark. ise, 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada ⁽²⁰⁸⁾, 8 ve 24 saat inkübasyon yaparak erken kolonize olan bakterilerin canlılıklarını konfokal lazer taramalı mikroskopla incelemişlerdir. Bütün test materyallerinde, tüm bakteriler göz önünde bulundurulduğunda, toplam bakteri sayısı 8 saat ile kıyaslandığında 24 saat sonunda artmıştır.

Bu çalışmaları referans alarak, biz de çalışmamızda 24 saatlik bakteri inkübasyon süresi ile 1 saatlik tükürük kaplaması gerçekleştirerek bakteri adezyonunu inceledik.

Yüzeyler üzerinde biriken mikroorganizmaların ve biyofilmlerin değerlendirilmesi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden CFU ile koloni sayısının ölçümü substrata yapışan veya biyofilm yapısı içinde büyüyen canlı bakterilerin miktarı hakkında bilgi vermektedir. CLSM analizi ise biyofilm yapılarını ölçmek için bir floresan görüntüleme tabanlı analizi kullanan ve biyofilm yapısının üç boyutlu görüntünün elde edilmesini sağlayan mikroskobik bir tekniktir.

Yapılan çalışmalarla, konvansiyonel bakteriyoloji ve floresan görüntüleme yöntemlerinin sonuçlarında farklılıklar elde edilmiş ve floresan görüntüleme yönteminin doğruluğunun daha güvenilir olduğu belirtilmiştir ^(172, 203). Bu bilgilere dayanarak yapılan tez çalışmamızda dentin örneklerinin yüzeyinde oluşan bakteriyel kolonilerin hem konvansiyonel yöntem olan CFU ile sayımı hemde bu kolonilerin CLSM ile görüntülenmesini gerçekleştirdik ⁽¹⁵⁴⁾.

CLSM ile yapılan görüntülemelerde bir floresan boya kombinasyonu kullanımı *in vitro* biyofilm analizi için rutin bir uygulama haline gelmiştir. Çalışmamızda floresan boya kombinasyonu olarak (LIVE/DEAD BacLight) boya kombinasyonu kullanılmıştır. Boya kiti içerisinde bulunan SYTO 9, canlı hücreleri yeşile, propidium iyodür ise hasarlı membrana sahip

olan hücreleri yani ölü hücreleri kırmızıya boyamıştır. Yapılan bu çalışmada hemen hemen bütün dentin örneklerinde canlı ve ölü bakterilerin adezyonuna rastladık (Şekil 4.2.1 ve Şekil 4.2.2).

Mekanik ve lazer profilometresi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) yüzey pürüzlülüğünü değerlendirmek amacıyla kullanılan çok çeşitli yöntemlerden birkaçıdır ⁽¹¹⁸⁾. Bunlar içerisinde en çok kullanılan ve bizim de bu çalışmada kullanmayı tercih ettiğimiz yöntem; mekanik profilometre ile yüzey pürüzlülüğünün ölçülmesidir. Bu yöntemde, uluslararası pürüzlülük parametresi olan ve μm cisinden değer veren 'Ra' parametresi kullanılmaktadır ⁽²⁰⁹⁾. Mekanik profilometre cihazı, iki boyutlu bir profil vererek ortalama pürüzlülüğünü aritmetik olarak hesaplamada en basit ve en yaygın yöntem olarak kullanılmaktadır ^(210, 211).

Yüzey pürüzlülüğü, bakteri adezyonu ve biyofilm oluşumu üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. Hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak yapılmış bir çalışmada, bakterilerin pürüzlü yüzeylere pürüzsüz bir yüzeyden daha fazla biriktiği görülmüştür ⁽¹⁹⁸⁾. Bollen ve arkadaşları, 0,2 μm Ra değerini bir eşik değer olarak belirlemişler ve bu değer altındaki yüzey pürüzlülüğünde, bakteri adezyonunda fazla bir azalma beklenmeyeceğini, bununla birlikte daha yüksek değerlerde de daha yüksek sayıda bakteri adezyonu olabileceğini bildirmişlerdir ⁽²¹²⁾.

Nogueira ve ark., farklı lazerler ve NaF uygulayarak dentinin yüzey pürüzlülüğü ve bakteri adezyonunu değerlendirdikleri *in vitro* çalışmalarında; Er,Cr:YSGG ve diod lazerin yüzey pürüzlülüğünü ve bakteri adezyonunu etkilemediğini, bununla birlikte NaF'ün birlikte uygulandığı lazerden bağımsız olarak yüzey pürüzlülüğünü ve bakteri adezyonunu arttırdığını belirtmişlerdir ⁽²¹³⁾.

Hosoya ve ark., vital beyazlatmanın minenin yüzey pürüzlülüğüne ve *S. mutans* adezyonuna etkisini inceledikleri *in vitro* çalışmalarında vital beyazlatma yapılan minenin hem yüzey pürüzlülüğünün hem de *S. mutans* adezyonunun arttığını bildirmişlerdir ⁽²¹⁴⁾.

Cury ve ark., yapmış oldukları çalışmada dentin hassasiyeti tedavisi için kullanılan geleneksel tedavilerin ve diod lazerin, özellikle kök dentininin yüzey pürüzlülüğünü değiştirebileceğini fakat diod lazerle artan yüzey pürüzlülüğünü hassasiyet giderici diş macunuyla kıyasladıklarında bakteri adezyonunu istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırmadığını belirtmişlerdir ⁽¹⁹⁴⁾.

Bilgili ve ark.'nın bulk-fill kompozitlerin yüzey özelliklerini ve bakteri adezyonunu değerlendirdikleri çalışmada ise, kontrol grubunun yüzey pürüzlülük değeri diğer çalışma gruplarından anlamlı derecede daha düşük ($Ra=0,04 \mu m$) bulunmasına rağmen kontrol grubu diğer gruplarla benzer bakteri adezyonu göstermiştir. Bilgili ve ark., elde ettikleri bu bulguyu bütün çalışma gruplarında benzer olan SFE değerine atfetmişlerdir ⁽²¹⁵⁾.

Bizim çalışmamızda da CPP-ACP+Er,Cr:YSGG ve CPP-ACP+Diod grupları hariç, bütün grupların yüzey pürüzlülüğü değişimi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır. Bu bağlamda 'hassasiyet giderici yöntemlerden sonra dentinin yüzey pürüzlülüğü değişim değerleri kontrol grubuyla benzerdir' şeklindeki birinci sıfır hipotezimiz kısmen kabul edilmiştir. Bununla birlikte bakteri adezyonu açısından numuneler üzerindeki hem *S. mutans* hem de *S. mitis* sayısında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır bu yüzden 'hassasiyet giderici yöntemlerden sonra dentin yüzeyindeki *S. mutans* ve *S. mitis* yoğunluğu kontrol grubuyla benzerdir' şeklindeki ikinci sıfır hipotezimiz ise kabul edilmiştir. Çalışmamızın bulguları Cury ve ark. ile Bilgili ve ark.'nın çalışmalarının bulgularıyla benzer olmakla birlikte, Bilgili ve ark. serbest yüzey enerjisinin bakteri adezyonunda etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Yüzey pürüzlülüğüyle birlikte biyofilm oluşumu için önemli olan diğer yüzey parametreleri; serbest yüzey enerjisi (SFE) ve hidrofobiklik ^(118, 216) *In vivo* ve *in vitro* çalışmalarda, serbest yüzey enerjisi fazla olan yüzeylerde daha fazla plak birikimi gözlenmiştir ⁽²¹⁷⁾. Buna ilaveten, bakterilerin kendi yüzey özelliklerinin de bu termodinamik adezyon yaklaşımında etkin bir rol üstlendiği rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda *S. mitis* suşlarının hidrofilik özellik göstermesinin serbest yüzey enerjisinin yüksek olması ile *S. mutans* suşlarının ise hidrofobik karakterde olmasının serbest yüzey enerjisinin düşük olması ile ilgili olduğu belirtilmiştir ^(216, 218). Serbest yüzey enerjisi fazla olan bakteri suşlarının SFE'si yüksek olan yüzeye, serbest yüzey enerjisi düşük olan suşların ise SFE'si düşük olan yüzeye daha iyi tutunduğu bildirilmektedir ^(217, 219). Bilgili ve ark.'nın çalışmasında da serbest yüzey enerjisi en yüksek olan materyal grubu en yüksek *S. mitis* adezyonu göstermiştir.

Düşük yüzey pürüzlülüğüne sahip olsalar bile yüzeylere ilk bakteri adezyonunu sağlayan en önemli faktörün serbest yüzey enerjisi olduğu belirtilmektedir ^(212, 220, 221).

Quirynen ve ark. ⁽²²¹⁾ ile Bollen ve ark. ⁽²¹²⁾ yaptıkları çalışmalarda; serbest yüzey enerjisi ve yüzey pürüzlülüğünün supragingival plak oluşumu üzerinde, başlangıç adezyonu ve mikroorganizmaların retansiyonu aşamalarında etkili olduğunu, bunun bir sonucu olarak da

serbest yüzey enerjisi ile plak oluşumu arasında pozitif bir korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, serbest yüzey enerjisi fazla olan yüzeylerde mikrobiyal birikimin de daha yüksek düzeyde meydana gelebileceğini belirtmişlerdir ^(212, 221).

Teughels ve ark.'da, yüksek SFE'ye sahip yüzeylerin, düşük SFE'ye sahip yüzeylerden daha fazla bakteri adezyonuna ve bunun sonucunda da daha fazla biyofilm oluşumuna neden olduğunu bildirmişlerdir ⁽²¹⁹⁾. Sonuç olarak bizim çalışmamızın *S. mutans* ve *S. mitis* adezyonu bulguları da; SFE, kültür ortamının türü, koşulları ve bakterilerin büyüme fazı gibi faktörler, erken bakteri adezyonunda etkili olabilir. Bunun için daha ileri *in vitro* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bununla birlikte, *in vitro* çalışmaların *in vivo* çalışmalara kıyasla tekrar edilebilirlik avantajına sahip olmalarına rağmen, biyofilm oluşumunun sadece bazı yönlerinin *in vitro* olarak taklit edilebileceğini belirtmek önemlidir ⁽²¹³⁾. *In vitro* çalışmalarda, genellikle sadece bir veya birkaç bakteri türünün adezyonu değerlendirilir. Ancak *in vivo* biyofilm oluşumu farklı cins ve türlerin bakteriyel koadezyon ve koagregasyonundan kesin olarak etkilenir ⁽¹⁸⁷⁾. Bununla birlikte, oral kavitenin tüm yüzeylerini kaplayan tükürük pelikülünün oluşumunun *in vitro* olarak taklit edilmesi zordur ve bakterinin diş yüzeylerine adezyonunda önemli bir etkiye sahiptir. Çünkü bu tabaka sadece biyofilmin dayanıklılığını değil aynı zamanda bileşimini ve enzimatik aktivitelerini de etkiler ⁽¹⁸⁷⁾. Suni ağız sistemleri kullanılarak tükürük pelikülü oluşumunun taklit eden daha fazla çalışma yapılması düşünülebilir.

Yapılan çalışmalara göre dentin hassasiyeti, diş yüzeylerindeki ağız ortamına açılan dentin tübüllerinin sayısı ve genişliği ile ilişkilidir ^(175, 222). Dentin hassasiyetinde tübül çaplarının sayıca daha büyük ve çok miktarda olduğu rapor edilmiştir ⁽²²²⁾. Bu sebeple başarılı bir dentin hassasiyeti tedavisi, dentin tübüllerini kısmen daraltmayı veya kalıcı olarak tıkamayı amaçlar. Tübüllerin uzun süre tıkanması ve ağız ortamındaki değişikliklere karşı dirençli olması, istenen sonuçtur ⁽¹⁷⁷⁾.

Dentin geçirgenliğini azaltan herhangi bir tedavi, dentin hassasiyetini azaltmalıdır. Dentin tübüllerinin tıkanması dentin geçirgenliğinin azalmasına yol açar ve orantılı olarak dentin hassasiyetinin derecesini de düşürür ⁽²²³⁾. Hidrodinamik teoriye göre, dentin hassasiyet giderici ajanların etkinliği, dentin tübüllerinin sızdırmazlığını artırma kapasiteleriyle doğrudan ilişkilidir ⁽²²⁴⁾.

Son yıllarda, SEM ve mikro analizlerle yapılan incelemeler, araştırmalara daha objektif değerlendirme imkânları kazandırmaktadır ⁽²²⁵⁾. SEM özellikle diş hekimliğinde, diş sert

dokularının incelenmesinde sık kullanılan bir araştırma cihazıdır. SEM analizinde elektron etkileşimleri ile ortaya çıkan X ışınları, numunelerde hacim kaybına neden olmamakta, bu sayede aynı materyal tekrar tekrar analiz edilebilmektedir. Bu özelliği sayesinde SEM analizi “yıkıcı olmayan” bir yöntem olarak değerlendirilmektedir ⁽²²⁶⁾. Çalışmamızda her dentin örneğinden yüzey karakteristiği ve uygulanan yöntemlerin tübüllerde meydana getirmiş oldukları değişikliklerin incelenmesi amacıyla $\times 2000$ büyütmede görüntüler alınmıştır. Daha sonra da Image J programını kullanarak, daha önce Şeşen ve ark. tarafından yapılan çalışmada kullanılan yöntemlere benzer şekilde açık dentin tübülü sayıları ve çapları belirlenmiştir ⁽²²⁷⁾.

Mevcut tez çalışmasında bütün hassasiyet giderici yöntemlerin açık dentin tübül sayısı ve çapı kontrol grubundan istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur. Bu bağlamda ‘hassasiyet giderici yöntemlerden sonra açık dentin tübülü sayısı ve açık dentin tübülü çapı değerleri kontrol grubuyla benzerdir’ şeklindeki üçüncü sıfır hipotezi reddedilmiştir. Çalışmanın açık dentin tübül sayısı ve çapı ile ilgili bulguları sırasıyla irdelendiğinde CPP-ACP ve NaF uygulanmış grupların hem açık dentin tübülü sayısı hem de açık dentin tübülü çapı kontrol grubundan istatistiksel daha az bulunurken, birbirleri arasında fark bulunmadığı görülmektedir. Maryam ve ark. yapmış oldukları *in vitro* çalışmada, CPP-ACP ve %5’lik NaF’ün dentin tübüllerini tıkayarak dentin hassasiyetindeki etkinliklerini karşılaştırmışlar ikisinin de dentin hassasiyetini azaltmada etkili olduğunu göstermekle birlikte aralarında istatistiksel olarak bir fark olmadığını bulmuşlardır ⁽²²⁸⁾. Bu da çalışmamızın sonuçlarını dentin hassasiyetindeki etkinliklerinin kıyaslanması açısından Maryam ve ark.’nın ⁽²²⁸⁾ yapmış olduğu çalışmaya benzer kılacaktır.

Er,Cr:YSGG ile plasebo grubunu kıyaslayan Yılmaz ve ark.’nın çalışmasında ise Er,Cr:YSGG lazer ışınlamasının, tedaviden hemen sonra plaseboya kıyasla anlamlı ölçüde daha yüksek bir hassasiyet giderici etkiye sahip olduğu bulunmuştur ⁽²²⁹⁾. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya paralel olarak Er,Cr:YSGG lazer uygulanan grup hem açık dentin tübülü sayısındaki azalma hem de açık dentin tübülü çapındaki daralma bakımından kontrol grubundan anlamlı derecede farklı bulunmuştur.

Pourshahidi ve ark.’nın Er,Cr:YSGG lazer ve diod lazeri kıyaslayan *in vivo* çalışmalarında, lazer ışınlamasından hemen sonra, 1 hafta ve 1 ay sonra her iki grupta da dentin hassasiyetinde azalma olduğunu bulmuşlardır. Lazer uygulamasından sadece 1 ay sonra dentin hassasiyet şiddeti açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Er,Cr:YSGG lazer ile dentin hassasiyetindeki azalma, bu zaman aralığında diod lazere göre önemli ölçüde daha yüksek olarak saptanmıştır ⁽²³⁰⁾. Bizim çalışmamızda ise Er,Cr:YSGG lazer ve diod

lazer grupları hem açık dentin tübülü sayısı hem de açık dentin tübülü çapı bakımından kontrol grubundan anlamlı derecede farklıdır. Er,Cr:YSGG lazer ve diod lazer grupları birbirleriyle karşılaştırıldıklarında ise açık dentin tübülü sayısı bakımından aralarında istatistiksel bir fark yoktur, bununla birlikte diod lazer grubu açık dentin tübülü çapını anlamlı olarak daha fazla daraltmıştır. Çalışmalar arasındaki bu farklılık ışınlama süreleri, lazerlerin dalga boyları, *in vivo* çalışmalardaki hasta ve ağrı eşiği farklılıkları gibi nedenlerle açıklanabilir.

Birçok çalışma ^(81, 189, 231) hassasiyet giderici ajanlarla birlikte uygulandıklarında lazerlerin sinerjik bir etkisini tanımlamaktadır. Bundan dolayı biz de çalışmamızda NaF, CCP-ACP ile birlikte diod ve Er,Cr:YSGG lazerleri kombinasyonlar halinde de uyguladık.

Isha ve ark., yapmış oldukları *in vivo* çalışmada %5'lik NaF vernik ile diod lazerin dentin hassasiyeti tedavisindeki etkinliklerini karşılaştırmışlar ve %5 NaF verniği ve diod lazerin birlikte kullanımının dentin hassasiyetinin şiddetinde önemli bir azalma ile sonuçlandığını, bu kombinasyonun terapötik etkisinin, tek başına lazer veya tek başına florür verniği uygulanmasından daha iyi olduğunu bildirmişlerdir ⁽²³²⁾.

Gholam ve ark., yapmış oldukları çalışmada Er,Cr:YSGG lazerin peritübüler dentini eritebildiğini ve ortalama tübüler çapı yaklaşık %50'ye kadar azaltabildiğini belirtmişlerdir ⁽²³³⁾. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde Er,Cr:YSGG, NaF+Er,Cr:YSGG ve CPP-ACP+Er,Cr:YSGG uygulanmış kombine tedavi yöntemleri kontrol grubuna göre hem açık dentin tübülü sayısını anlamlı derecede azaltmışlar hem de tübül çapını anlamlı derecede daraltmışlardır. Bununla birlikte bu gruplar birbirleriyle kıyaslandıklarında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Çakar ve ark. ise, yapmış oldukları aynı tedavi gruplarının etkinliklerinin değerlendirildiği *in vitro* çalışmada tüm lazer gruplarında dentin tübüllerinde tıkanma sağlandığı, lazer ile birlikte NaF (sodyum florür) uygulanan gruplarda ise tübül kapama veya tıkama sonucunun daha üstün görüldüğü bildirilmiştir ⁽¹⁸⁷⁾.

Bizim çalışmamızda ise NaF, NaF+Er,Cr:YSGG ve NaF+Diod grupları arasında açık dentin tübülü sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, NaF+Er,Cr:YSGG ve NaF+Diod grubu NaF grubuyla kıyaslandığında açık dentin tübülü çapını anlamlı derecede daha fazla daraltmıştır. Bu da NaF'ün lazerlerle kombine şekilde uygulandığında dentin tübül çapını daraltmadaki etkinliğinin artabileceği sonucunu desteklemektedir.

Oral kavitede dişler üzerindeki biyofilmlerin çok sayıda farklı bakteri suşu içermesi nedeniyle biyofilm oluşumunun analizinde klinik yaklaşımların altın standart olduğu ve bu çalışmanın sonuçlarının klinik çalışmalar ile desteklenmesi gerektiği aşikârdır. *In vitro* yaklaşımımızın temel sınırlaması, tek tür bakteri içeren *S. mutans* ve *S. mitis* biyofilmlerinin ayrı ayrı kullanılmasıdır. Bunun yanında, bu çalışmada tek tip bakteri içeren biyofilm modelinin kullanılması standart ve tekrarlanabilir deney koşulları meydana getirmiştir. Ayrıca, bu uygulama, tek tür biyofilm modellerini kullanan benzer konulardaki diğer çalışmalarla kıyaslanabilirliği sağlamıştır (171, 172, 204, 234).

Klinikte çok farklı kimyasal yapılara, içeriklere sahip hassasiyet giderici ajanlar ve farklı lazer sistemleri kullanılabilmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, sadece bu hassasiyet giderici yöntemlerin bir bölümünün ve kombinasyonlarının bulgularını yansıtmaktadır. Ayrıca ağız ortamında oluşan asit döngülerinin ve fırçalamanın bu çalışmada taklit edilmemesi çalışmanın en önemli sınırlamalarından bir tanesidir.

6. SONUÇ

Tüm bu sınırlamalar dâhilinde gerçekleştirilen bu çalışma ile uygulanan çeşitli hassasiyet giderici yöntemlerin; dentin yüzeylerinin pürüzlülüğü, bakteri adezyonu ve geçirgenliği üzerine etkisi araştırılmıştır.

Bu *in vitro* çalışmanın sınırlamaları dâhilinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılabilir.

1. Dentin hassasiyeti tedavisi için çeşitli yöntemleri uyguladığımız CPP-ACP+Er,Cr:YSGG ve CPP-ACP+Diod grupları hariç bütün gruplar, kontrol grubuna göre yüzey pürüzlülüğünü anlamlı derecede arttırmıştır.
2. Artan yüzey pürüzlülüğü, tüm gruplar için *S. mutans* ve *S. mitis* adezyonu açısından kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmamıştır.
3. Dentin hassasiyeti tedavisi yöntemleri uyguladığımız bütün gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldıklarında açık dentin tübülü sayısını anlamlı derecede azaltmış, buna ilaveten açık dentin tübülü çapını da anlamlı derecede daraltmışlardır.

Sonuçların klinik koşulları taklit etmesine fayda sağlamak için, daha fazla hassasiyet giderici yöntemle birlikte kombine tedavilerin test edildiği *in vitro* araştırmaların yapılmasına ve elde edilen bulguların *in vivo* çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Addy M. Dentine hypersensitivity: new perspectives on an old problem. *International Dental Journal*. 2002;52(S5P2):367-75.
2. Kielbassa AM. Dentine hypersensitivity: Simple steps for everyday diagnosis and management. *International dental journal*. 2002;52(S5P2):394-6.
3. Markowitz K, Pashley DH. Discovering new treatments for sensitive teeth: the long path from biology to therapy. *Journal of oral rehabilitation*. 2008;35(4):300-15.
4. Addy M. Etiology and clinical implications of dentine hypersensitivity. *Dental Clinics of North America*. 1990;34(3):503-14.
5. Drisko CH. Dentine hypersensitivity–dental hygiene and periodontal considerations. *International dental journal*. 2002;52(S5P2):385-93.
6. Drisko C. Oral hygiene and periodontal considerations in preventing and managing dentine hypersensitivity. *International Dental Journal*. 2007;57(S6):399-410.
7. Demi M, Delmé KI, De Moor RJ. Hypersensitive Teeth: Conventional vs Laser Treatment Part I: Conventional Treatment of Dentin Hypersensitivity. *Journal of Oral Laser Applications*. 2009;9(1).
8. Jacobsen PL, Bruce G. Clinical dentin hypersensitivity: understanding the causes and prescribing a treatment. *The Journal of contemporary dental practice*. 2001;2(1):1-12.
9. Brännström M, Lindén L, Åström A. The hydrodynamics of the dental tubule and of pulp fluid. *Caries research*. 1967;1(4):310-7.
10. Orchardson R, Gillam DG. Managing dentin hypersensitivity. *The Journal of the American Dental Association*. 2006;137(7):990-8.
11. Grossman LI. A systematic method for the treatment of hypersensitive dentin. *The Journal of the American Dental Association* (1922). 1935;22(4):592-602.
12. Matsumoto K, Kimura Y. Laser Therapy of Dentin Hypersensitivity. *Journal of Oral Laser Applications*. 2007;7(1).
13. Sturdevant CM, Roberson TM, Swift EJ, Heymann H. *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry*: Mosby; 2002.
14. Hargreaves KM, Cohen S, Berman LH. *Cohen's pathways of the pulp*: Mosby Elsevier; 2011.
15. Roberson T, Heymann H, Swift EJ. *Clinical Significance of Dental Anatomy, Histology, Physiology and occlusion*. *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry* 5th ed, St Louis, Mosby. 2006:29.

16. Yilmaz S, Newman H, Poole D. Diurnal periodicity of von Ebner growth lines in pig dentine. *Archives of oral biology*. 1977;22(8-9):511-3.
17. Fish E. The lymph supply of the dentine and enamel. SAGE Publications; 1927.
18. Ishikawa S. A clinico-histological study on the hypersensitivity of dentin. *Kokubyo Gakkai zasshi The Journal of the Stomatological Society, Japan*. 1969;36(4):278-98.
19. Gillam D, Mordan N, Newman H. The dentin disc surface: a plausible model for dentin physiology and dentin sensitivity evaluation. *Advances in Dental Research*. 1997;11(4):487-501.
20. Mjör IA. Pulp-dentin biology in restorative dentistry: Quintessence Publishing Company; 2002.
21. Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Archives of oral biology*. 1976;21(6):355-62.
22. Absi E, Addy M, Adams D. Dentine hypersensitivity: a study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. *Journal of clinical periodontology*. 1987;14(5):280-4.
23. Chiego DJ. *Essentials of Oral Histology and Embryology E-Book: A Clinical Approach*: Elsevier Health Sciences; 2018.
24. Chabanski M, Gillam D, Bulman J, Newman H. Prevalence of cervical dentine sensitivity in a population of patients referred to a specialist Periodontology Department. *Journal of clinical periodontology*. 1996;23(11):989-92.
25. Gillam D, Orchardson R. Advances in the treatment of root dentine sensitivity: mechanisms and treatment principles. *Endodontic Topics*. 2006;13(1):13-33.
26. Addy M. Dentine hypersensitivity: definition, prevalence, distribution and aetiology. *Tooth wear and sensitivity: Clinical advances in restorative dentistry* London: Martin Dunitz. 2000;2000:239-48.
27. Orchardson R, Cadden SW. An update on the physiology of the dentine–pulp complex. *Dental Update*. 2001;28(4):200-9.
28. Brännström M. Etiology of dentin hypersensitivity. *Proceedings of the Finnish Dental Society Suomen Hammaslaakariseuran toimituksia*. 1992;88:7-13.
29. Dababneh R, Khouri A, Addy M. Dentine hypersensitivity—An enigma A review of terminology, mechanisms, aetiology and management. *British dental journal*. 1999;187(11):606-11.
30. Orchardson R. Clinical features of hypersensitive teeth. *Br Dent J*. 1987;162:253-6.

31. Dowell P, Addy M. Dentine hypersensitivity□A review: Aetiology, symptoms and theories of pain production. *Journal of clinical periodontology*. 1983;10(4):341-50.
32. West NX. Dentine hypersensitivity: preventive and therapeutic approaches to treatment. *Periodontol 2000*. 2008;48:31-41.
33. Bartold P. Dentinal hypersensitivity: a review. *Australian dental journal*. 2006;51(3):212-8.
34. Bernick S. Innervation of the human tooth. *The Anatomical Record*. 1948;101(1):81-107.
35. Frank R. Attachment sites between the odontoblast process and the intradentinal nerve fibre. *Archives of oral biology*. 1968;13(7):833-IN39.
36. Brännström M. The hydrodynamics of the dentine; its possible relationship to dentinal-pain. 1972.
37. Pashley D. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *Comp Contin Educ Dent*. 2008;29(8):1S-35S.
38. Frank R, Steuer P. Transmission electron microscopy of the human odontoblast process in peripheral root dentine. *Archives of oral biology*. 1988;33(2):91-8.
39. McGrath PA. The measurement of human pain. *Dental Traumatology*. 1986;2(4):124-9.
40. Gysi A. An attempt to explain the sensitiveness of dentine. *Brit J Dental Sci*. 1900;43:865-8.
41. Vongsavan N, Matthews B. Fluid flow through cat dentine in vivo. *Archives of Oral Biology*. 1992;37(3):175-85.
42. Haugen E, Johansen JR. Tooth hypersensitivity after periodontal treatment: a case report including SEM studies. *Journal of clinical periodontology*. 1988;15(6):399-401.
43. Walters PA. Dentinal hypersensitivity: a review. *J Contemp Dent Pract*. 2005;6(2):107-17.
44. Hypersensitivity CABoD. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *Journal (Canadian Dental Association)*. 2003;69(4):221-6.
45. Holland G, Narhi M, Addy M, Gangarosa L, Orchardson R. Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. *Journal of clinical periodontology*. 1997;24(11):808-13.
46. Lin PY, Cheng YW, Chu CY, Chien KL, Lin CP, Tu YK. In□office treatment for dentin hypersensitivity: a systematic review and network meta□analysis. *Journal of clinical periodontology*. 2013;40(1):53-64.

47. Orsini G, Procaccini M, Manzoli L, Giuliadori F, Lorenzini A, Putignano A. A double-blind randomized-controlled trial comparing the desensitizing efficacy of a new dentifrice containing carbonate/hydroxyapatite nanocrystals and a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice. *Journal of clinical periodontology*. 2010;37(6):510-7.
48. Poulsen S, Errboe M, Mevil YL, Glenny AM. Potassium containing toothpastes for dentine hypersensitivity. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2006(3).
49. Sowinski J, Ayad F, Petrone M, DeVizio W, Volpe A, Ellwood R, et al. Comparative investigations of the desensitising efficacy of a new dentifrice. *Journal of Clinical Periodontology*. 2001;28(11):1032-6.
50. Akca A, Gokce S, Kurkcu M, Oz-demir A. Clinical assessment of bond and fluoride in dentin hypersensitivity. *Hacettepe Üniv Dis Hek Fak Derg*. 2006;30(4):92-100.
51. Benetti AR, Franco EB, Franco EJ, Pereira JC. Laser Therapy for Dentin Hypersensitivity: A Critical Appraisal. *Journal of Oral Laser Applications*. 2004;4(4).
52. He S, Wang Y, Li X, Hu D. Effectiveness of laser therapy and topical desensitising agents in treating dentine hypersensitivity: a systematic review. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2011;38(5):348-58.
53. Ipci SD, Cakar G, Kuru B, Yilmaz S. Clinical evaluation of lasers and sodium fluoride gel in the treatment of dentine hypersensitivity. *Photomedicine and laser surgery*. 2009;27(1):85-91.
54. Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *Journal of Clinical Periodontology: Review article*. 2000;27(10):715-21.
55. Pashley DH. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. *Journal of endodontics*. 1986;12(10):465-74.
56. West NX. Dentine hypersensitivity: preventive and therapeutic approaches to treatment. *Periodontology 2000*. 2008;48(1):31-41.
57. Addy M, Dowell P. Dentine hypersensitivity—A review: Clinical and in vitro evaluation of treatment agents. *Journal of clinical periodontology*. 1983;10(4):351-63.
58. Chesters R, Kaufman H, Wolff M, Hunington E, Kleinberg I. Use of multiple sensitivity measurements and log it statistical analysis to assess the effectiveness of a potassium-citrate-containing dentifrice in reducing dentinal hypersensitivity. *Journal of clinical periodontology*. 1992;19(4):256-61.

59. Nagata T, Ishida H, Shinohara H, Nishikawa S, Kasahara S, Wakano Y, et al. Clinical evaluation of a potassium nitrate dentifrice for the treatment of dentinal hypersensitivity. *Journal of clinical periodontology*. 1994;21(3):217-21.
60. Reinhart TC, Killoy WJ, Love J, Overman PR, Sakumura JS. The effectiveness of a patient-applied tooth desensitizing gel A pilot study. *Journal of clinical periodontology*. 1990;17(2):123-7.
61. West N, Addy M, Jackson R, Ridge D. Dentine hypersensitivity and the placebo response: a comparison of the effect of strontium acetate, potassium nitrate and fluoride toothpastes. *Journal of clinical periodontology*. 1997;24(4):209-15.
62. Markowitz K, Kim S. Hypersensitive teeth. Experimental studies of dentinal desensitizing agents. *Dental Clinics of North America*. 1990;34(3):491-501.
63. Peacock J, Orchardson R. Effects of potassium ions on action potential conduction in A-and C-fibers of rat spinal nerves. *Journal of dental research*. 1995;74(2):634-41.
64. Hodosh M. A superior desensitizer—potassium nitrate. *The Journal of the American Dental Association*. 1974;88(4):831-2.
65. Krauser JT. Hypersensitive teeth. Part II: Treatment. *The Journal of prosthetic dentistry*. 1986;56(3):307-11.
66. Levin MP, Yearwood LL, Carpenter WN. The desensitizing effect of calcium hydroxide and magnesium hydroxide on hypersensitive dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1973;35(5):741-6.
67. McFall Jr WT. A review of the active agents available for treatment of dentinal hypersensitivity. *Dental Traumatology*. 1986;2(4):141-9.
68. Dondi dall'Orologio G, Malferrari S. Desensitizing effects of Gluma and Gluma 2000 on hypersensitive dentin. *Am J Dent*. 1993;6(6):283-6.
69. Qin C, Xu J, Zhang Y. Spectroscopic investigation of the function of aqueous 2-hydroxyethylmethacrylate/glutaraldehyde solution as a dentin desensitizer. *Eur J Oral Sci*. 2006;114(4):354-9.
70. Addy M, Mostafa P. Dentine hypersensitivity. I. Effects produced by the uptake in vitro of metal ions, fluoride and formaldehyde onto dentine. *J Oral Rehabil*. 1988;15(6):575-85.
71. Smith BA, Ash MM, Jr. EVALUATION OF A DESENSITIZING DENTIFRICE. *J Am Dent Assoc*. 1964;68:639-47.
72. Bartold PM. Dentinal hypersensitivity: a review. *Aust Dent J*. 2006;51(3):212-8; quiz 76.

73. Lukomsky E. Fluorine Therapy for Exposed Dentin and Alveolar Atrophy'. *Journal of Dental Research*. 1941;20(6):649-59.
74. Hoyt WH, Bibby BG. Use of sodium fluoride for desensitizing dentin. *The Journal of the American Dental Association*. 1943;30(17):1372-6.
75. Shiau HJ. Dentin hypersensitivity. *Journal of Evidence Based Dental Practice*. 2012;12(3):220-8.
76. Minkov B, Marmari I, Gedalia I, Garfunkel A. The effectiveness of sodium fluoride treatment with and without iontophoresis on the reduction of hypersensitive dentin. *Journal of periodontology*. 1975;46(4):246-9.
77. Gedalia I, Brayer L, Kalter N, Richter M, Stabholz A. The effect of fluoride and strontium application on dentin: in vivo and in vitro studies. *Journal of periodontology*. 1978;49(5):269-72.
78. Kerns DG, Scheidt MJ, Pashley DH, Horner JA, Strong SL, Van Dyke TE. Dentinal tubule occlusion and root hypersensitivity. *Journal of periodontology*. 1991;62(7):421-8.
79. Gaffar A. Treating hypersensitivity with fluoride varnish. *Compendium of continuing education in dentistry* (Jamesburg, NJ: 1995). 1999;20(1 Suppl):27-33; quiz 5.
80. Ritter AV, de Dias WL, Miguez P, Caplan DJ, Swift Jr EJ. Treating cervical dentin hypersensitivity with fluoride varnish. *The Journal of the American Dental Association*. 2006;137(7):1013-20.
81. Lan W-H, Liu H-C, Lin C-P. The combined occluding effect of sodium fluoride varnish and Nd: YAG laser irradiation on human dentinal tubules. *Journal of Endodontics*. 1999;25(6):424-6.
82. McFall WT, Jr. A review of the active agents available for treatment of dentinal hypersensitivity. *Endod Dent Traumatol*. 1986;2(4):141-9.
83. Gangarosa Sr LP. Fluoride iontophoresis for tooth desensitization. *Journal of the American Dental Association* (1939). 1986;112(6):808, 10-, 10.
84. Singal P, Gupta R, Pandit N. 2% sodium fluoride□iontophoresis compared to a commercially available desensitizing agent. *Journal of periodontology*. 2005;76(3):351-7.
85. Kern DA, McQuade MJ, Scheidt MJ, Hanson B, Van Dyke TE. Effectiveness of sodium fluoride on tooth hypersensitivity with and without iontophoresis. *Journal of periodontology*. 1989;60(7):386-9.
86. Cross KJ, Huq NL, Palamara JE, Perich JW, Reynolds EC. Physicochemical characterization of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplexes. *J Biol Chem*. 2005;280(15):15362-9.

87. Geiger S, Matalon S, Blasbalg J, Tung M, Eichmiller FC. The clinical effect of amorphous calcium phosphate (ACP) on root surface hypersensitivity. *Oper Dent*. 2003;28(5):496-500.
88. Tung MS, Bowen HJ, Derkson GD, Pashley DH. Effects of calcium phosphate solutions on dentin permeability. *J Endod*. 1993;19(8):383-7.
89. Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH, et al. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res*. 1995;74(6):1272-9.
90. Sudjalim TR, Woods MG, Manton DJ, Reynolds EC. Prevention of demineralization around orthodontic brackets in vitro. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2007;131(6):705.e1-9.
91. Suge T, Ishikawa K, Kawasaki A, Suzuki K, Matsuo T, Noiri Y, et al. Calcium phosphate precipitation method for the treatment of dentin hypersensitivity. *Am J Dent*. 2002;15(4):220-6.
92. Forsback AP, Areva S, Salonen JI. Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. *Acta Odontol Scand*. 2004;62(1):14-20.
93. Cherng AM, Chow LC, Takagi S. Reduction in dentin permeability using mildly supersaturated calcium phosphate solutions. *Arch Oral Biol*. 2004;49(2):91-8.
94. Kumar VL, Itthagarun A, King NM. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aust Dent J*. 2008;53(1):34-40.
95. Kleinberg I. SensiStat. A new saliva-based composition for simple and effective treatment of dentinal sensitivity pain. *Dentistry today*. 2002;21(12):42-7.
96. Petrou I, Heu R, Stranick M, Lavender S, Zaidel L, Cummins D, et al. A breakthrough therapy for dentin hypersensitivity: how dental products containing 8% arginine and calcium carbonate work to deliver effective relief of sensitive teeth. *Journal of Clinical Dentistry*. 2009;20(1):23.
97. Docimo R, Montesani L, Maturo P, Costacurta M, Bartolino M, DeVizio W, et al. Comparing the efficacy in reducing dentin hypersensitivity of a new toothpaste containing 8.0% arginine, calcium carbonate, and 1450 ppm fluoride to a commercial sensitive toothpaste containing 2% potassium ion: an eight-week clinical study in Rome, Italy. 2009.
98. Ayad F, Ayad N, Zhang YP, DeVizio W, Cummins D, Mateo LR. Comparing the efficacy in reducing dentin hypersensitivity of a new toothpaste containing 8.0% arginine, calcium carbonate, and 1450 ppm fluoride to a commercial sensitive toothpaste containing 2%

potassium ion: an eight-week clinical study on Canadian adults. *Journal of Clinical Dentistry*. 2009;20(1):10.

99. Schiff T, Delgado E, Zhang Y, DeVizio W, Cummins D, Mateo L. The clinical effect of a single direct topical application of a dentifrice containing 8.0% arginine, calcium carbonate, and 1450 ppm fluoride on dentin hypersensitivity: the use of a cotton swab applicator versus the use of a fingertip. *The Journal of clinical dentistry*. 2009;20(4):131-6.

100. Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med*. 2006;17(11):967-78.

101. Du Min Q, Bian Z, Jiang H, Greenspan DC, Burwell AK, Zhong J, et al. Clinical evaluation of a dentifrice containing calcium sodium phosphosilicate (novamin) for the treatment of dentin hypersensitivity. *Am J Dent*. 2008;21(4):210-4.

102. Wang Z, Sa Y, Sauro S, Chen H, Xing W, Ma X, et al. Effect of desensitising toothpastes on dentinal tubule occlusion: a dentine permeability measurement and SEM in vitro study. *J Dent*. 2010;38(5):400-10.

103. Brännström M, Johnson G, Nordenvall KJ. Transmission and control of dentinal pain: resin impregnation for the desensitization of dentin. *J Am Dent Assoc*. 1979;99(4):612-8.

104. Azzopardi A, Bartlett DW, Watson TF, Sherriff M. The measurement and prevention of erosion and abrasion. *J Dent*. 2001;29(6):395-400.

105. Duran I, Sengun A. The long-term effectiveness of five current desensitizing products on cervical dentine sensitivity. *J Oral Rehabil*. 2004;31(4):351-6.

106. Pandurić V, Knezević A, Tarle Z, Sutalo J. The efficiency of dentine adhesives in treating non-carious cervical lesions. *J Oral Rehabil*. 2001;28(12):1168-74.

107. Sundaram G, Wilson R, Watson TF, Bartlett DW. Effect of resin coating on dentine compared to repeated topical applications of fluoride mouthwash after an abrasion and erosion wear regime. *J Dent*. 2007;35(10):814-8.

108. Trowbridge HO, Silver DR. A review of current approaches to in-office management of tooth hypersensitivity. *Dent Clin North Am*. 1990;34(3):561-81.

109. Ling TY, Gillam DG. The effectiveness of desensitizing agents for the treatment of cervical dentine sensitivity (CDS)--a review. *J West Soc Periodontol Periodontal Abstr*. 1996;44(1):5-12.

110. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology 2000*. 2004;36(1):59-97.

111. Cobb CM. Lasers in periodontics: a review of the literature. *Journal of periodontology*. 2006;77(4):545-64.

112. Bains VK, Gupta S, Bains R. Lasers in periodontics: An overview. *J Oral Health Community Dent*. 2010;4:29-34.
113. Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. 1960.
114. Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. *Nature*. 1964;203(4943):417-.
115. Addy M, Edgar WM, Embery G, Orchardson R. Tooth wear and sensitivity: Clinical advances in restorative dentistry: Thieme; 2000.
116. McCarthy D, Gillam D, Pearson G, editors. In vitro effects of laser radiation on dentine surfaces. *Journal of Dental Research*; 1997: Amer Assoc Dental Research 1619 Duke St, Alexandria, Va 22314.
117. Lasers in periodontics. *J Periodontol*. 2002;73(10):1231-9.
118. Cazzaniga G, Ottobelli M, Ionescu A, Garcia-Godoy F, Brambilla E. Surface properties of resin-based composite materials and biofilm formation: A review of the current literature. *Am J Dent*. 2015;28(6):311-20.
119. Gadelmawla E, Koura M, Maksoud T, Elewa I, Soliman H. Roughness parameters. *Journal of materials processing Technology*. 2002;123(1):133-45.
120. Stachowiak G, Batchelor AW. Experimental methods in tribology: Elsevier; 2004.
121. Bhushan B. Macro-and microtribology of magnetic storage devices. *Modern tribology handbook*. 2001;2:1413-513.
122. Park J, Song C, Jung J, Ahn S, Ferracane J. The effects of surface roughness of composite resin on biofilm formation of *Streptococcus mutans* in the presence of saliva. *Operative Dentistry*. 2012;37(5):532-9.
123. Rodriguez JM, Curtis RV, Bartlett DW. Surface roughness of impression materials and dental stones scanned by non-contacting laser profilometry. *Dental materials*. 2009;25(4):500-5.
124. McBride J, Maul C. The 3D measurement and analysis of high precision surfaces using con-focal optical methods. *IEICE transactions on electronics*. 2004;87(8):1261-7.
125. Field J, Waterhouse P, German M. Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues in vitro. *Journal of dentistry*. 2010;38(3):182-90.
126. Perdigao J, Lambrechts P, Vanherle G. Microscopy investigations: techniques, results, limitations. *Am J Dent*. 2000;13:3D18D.
127. Owens DK, Wendt R. Estimation of the surface free energy of polymers. *Journal of applied polymer science*. 1969;13(8):1741-7.

128. van Oss CJ, Chaudhury M, Good RJ. Monopolar surfaces. *Advances in colloid and interface science*. 1987;28:35-64.
129. Sipahi C, Anil N, Bayramli E. The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials. *Journal of dentistry*. 2001;29(3):197-204.
130. Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials*. 2001;22(5):481-7.
131. Craig RG, Powers J. *Restorative dental materials*. St. Louis: CV Mosby. 2002;480:552-3.
132. Monsenego P, Proust J. Complete denture retention. Part I: Physical analysis of the mechanism. Hysteresis of the solid-liquid contact angle. *The Journal of prosthetic dentistry*. 1989;62(2):189-96.
133. Aydın AK, Terzioğlu H, Ulubayram K, Hasırcı N, Aydın A, Terzioğlu H, et al. Wetting properties of saliva substitutes on acrylic resin. *International Journal of Prosthodontics*. 1997;10(5).
134. Cavin ID, Glover PM, Bowtell RW, Gowland PA. Thresholds for perceiving metallic taste at high magnetic field. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*. 2007;26(5):1357-61.
135. Schaefer DJ, Bourland JD, Nyenhuis JA. Review of patient safety in time-varying gradient fields. *Journal of magnetic resonance imaging*. 2000;12(1):20-9.
136. Yuan C, Wang X, Gao X, Chen F, Liang X, Li D. Effects of surface properties of polymer-based restorative materials on early adhesion of *Streptococcus mutans* in vitro. *Journal of Dentistry*. 2016;54:33-40.
137. Sezen H. Investigation on electrical charging/discharging properties of thin ps/pmma polymeric films by dynamic x-ray photoelectron spectroscopy: Bilkent University; 2008.
138. Ritter AV. *Sturdevant's art & science of operative dentistry-e-book*: Elsevier Health Sciences; 2017.
139. Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol*. 2014;63(2):127-35.
140. Abranches J, Zeng L, Kajfasz J, Palmer S, Chakraborty B, Wen Z, et al. Biology of Oral Streptococci. *Microbiol Spectr*, 6. 2018.
141. Marsh P. Contemporary perspective on plaque control. *British dental journal*. 2012;212(12):601-6.

142. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. Dental caries: the disease and its clinical management: John Wiley & Sons; 2015.
143. Cazzaniga G. Resin-based composites modulate oral biofilm formation. 2017.
144. Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology* 2000. 2004;36(1):14-26.
145. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N, Silva N, Burleson JA, Strausbaugh LD, et al. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *The ISME journal*. 2013;7(5):1016-25.
146. Marsh PD, Martin MV, Lewis MA, Williams D. Oral microbiology e-book: Elsevier health sciences; 2009.
147. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological research*. 2013;69(1):137-43.
148. Whiley R, Beighton D. Current classification of the oral streptococci. *Oral microbiology and immunology*. 1998;13(4):195-216.
149. Richards VP, Palmer SR, Pavinski Bitar PD, Qin X, Weinstock GM, Highlander SK, et al. Phylogenomics and the dynamic genome evolution of the genus *Streptococcus*. *Genome biology and evolution*. 2014;6(4):741-53.
150. Igarashi T, Yamamoto A, Goto N. PCR for detection and identification of *Streptococcus sobrinus*. *Journal of medical microbiology*. 2000;49(12):1069-74.
151. Ccahuana-Vásquez RA, Cury JA. *S. mutans* biofilm model to evaluate antimicrobial substances and enamel demineralization. *Brazilian oral research*. 2010;24(2):135-41.
152. Simón Soro Á. Dental caries etiopathogenesis: microbial composition, functional activity and host recognition. 2015.
153. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiological reviews*. 1980;44(2):331.
154. Kishen A, Haapasalo M. Biofilm models and methods of biofilm assessment. *Endodontic Topics*. 2010;22(1):58-78.
155. McBain AJ. In vitro biofilm models: an overview. *Advances in applied microbiology*. 2009;69:99-132.
156. Arda M. Temel Mikrobiyoloji. Genişletilmiş İkinci Baskı. Medisan Yayın Serisi. 2000(46).
157. Mohammadi Z, Palazzi F, Giardino L, Shalavi S. Microbial biofilms in endodontic infections: an update review. *Biomedical journal*. 2013;36(2):59-70.

158. Harraghy N, Seiler S, Jacobs K, Hannig M, Menger MD, Herrmann M. Advances in in vitro and in vivo models for studying the staphylococcal factors involved in implant infections. *The International journal of artificial organs*. 2006;29(4):368-78.
159. Mattila-Sandholm T, Wirtanen G. Biofilm formation in the industry: a review. *Food reviews international*. 1992;8(4):573-603.
160. Vadillo-Rodríguez V, Busscher HJ, Norde W, De Vries J, Dijkstra RJ, Stokroos I, et al. Comparison of atomic force microscopy interaction forces between bacteria and silicon nitride substrata for three commonly used immobilization methods. *Applied and environmental microbiology*. 2004;70(9):5441-6.
161. Schenkels LC, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV. Biochemical composition of human saliva in relation to other mucosal fluids. *Critical reviews in oral biology & medicine*. 1995;6(2):161-75.
162. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry*. 2001;85(2):162-9.
163. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2004;28(1):47-52.
164. Edgar WM. Saliva and dental health. Clinical implications of saliva: report of a consensus meeting. *British dental journal*. 1990;169(4):96-8.
165. Ataoglu T, Periodontoloji GM. Damla offset. Konya; 1999.
166. Zhang C-Z, Cheng X-Q, Li J-Y, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *International journal of oral science*. 2016;8(3):133-7.
167. Dowd FJ. Saliva and dental caries. *Dental Clinics of North America*. 1999;43(4):579-97.
168. McNabb PC, Tomasi T. Host defense mechanisms at mucosal surfaces. *Annual Reviews in Microbiology*. 1981;35(1):477-96.
169. Gal J-Y, Fovet Y, Adib-Yadzi M. About a synthetic saliva for in vitro studies. *Talanta*. 2001;53(6):1103-15.
170. Shellis R. A synthetic saliva for cultural studies of dental plaque. *Archives of Oral Biology*. 1978;23(6):485-9.
171. Aykent F, Yondem I, Ozyesil AG, Gunal SK, Avunduk MC, Ozkan S. Effect of different finishing techniques for restorative materials on surface roughness and bacterial adhesion. *The Journal of prosthetic dentistry*. 2010;103(4):221-7.

172. Hahnel S, Ionescu AC, Cazzaniga G, Ottobelli M, Brambilla E. Biofilm formation and release of fluoride from dental restorative materials in relation to their surface properties. *Journal of dentistry*. 2017;60:14-24.
173. Kim JS, Han SY, Kwon HK, Kim BI. Synergistic effect of dentinal tubule occlusion by nano-carbonate apatite and CO₂ laser in vitro. *Photomedicine and laser surgery*. 2013;31(8):392-7.
174. Addy M. Dentine hypersensitivity: definition, prevalence, distribution and aetiology. *Tooth wear and sensitivity*. 2000:239-48.
175. Tunar OL, Gürsoy H, Çakar G, Kuru B, Ipci SD, Yılmaz S. Evaluation of the effects of Er: YAG laser and desensitizing paste containing 8% arginine and calcium carbonate, and their combinations on human dentine tubules: a scanning electron microscopic analysis. *Photomedicine and laser surgery*. 2014;32(10):540-5.
176. Absi E, Addy M, Adams D (1987). Dentine hypersensitivity A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine *J CUn Periodontol*. 14:280-4.
177. Porto IC, Andrade AK, Montes MA. Diagnosis and treatment of dentinal hypersensitivity. *Journal of oral science*. 2009;51(3):323-32.
178. Chu C-H, Lo EC-M. Dentin hypersensitivity: a review. *Hong Kong Dent J*. 2010;7(1):15-22.
179. Tal M, Oron M, Gedalia I, Ehrlich J. X-ray diffraction and scanning electron microscope investigations of fluoride-treated dentine in man. *Archives of oral biology*. 1976;21(5):285-90.
180. Tung MS, Bowen HJ, Derkson GD, Pashley DH. Effects of calcium phosphate solutions on dentin permeability. *Journal of Endodontics*. 1993;19(8):383-7.
181. Sudjalim TR, Woods MG, Manton DJ, Reynolds EC. Prevention of demineralization around orthodontic brackets in vitro. *American journal of orthodontics and Dentofacial orthopedics*. 2007;131(6):705. e1-. e9.
182. Rosa RRM, Calazans FKS, Nogueira RD, Lancellotti ACRA, Goncalves LdS, Geraldo-Martins VR. Effects of different desensitizing treatments on root dentin permeability. *Brazilian oral research*. 2016;30.
183. Umana M, Heysselaer D, Tielemans M, Compere P, Zeinoun T, Nammour S. Dentinal tubules sealing by means of diode lasers (810 and 980 nm): a preliminary in vitro study. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2013;31(7):307-14.
184. Hashim NT, Gasmalla BG, Sabahelkheir AH, Awooda AM. Effect of the clinical application of the diode laser (810 nm) in the treatment of dentine hypersensitivity. *BMC research notes*. 2014;7(1):1-4.

185. Lee S-Y, Jung H-I, Jung B-Y, Cho Y-S, Kwon H-K, Kim B-I. Desensitizing efficacy of nano-carbonate apatite dentifrice and Er, Cr: YSGG laser: a randomized clinical trial. *Photomedicine and laser surgery*. 2015;33(1):9-14.
186. Sgolastra F, Petrucci A, Severino M, Gatto R, Monaco A. Lasers for the treatment of dentin hypersensitivity: a meta-analysis. *Journal of dental research*. 2013;92(6):492-9.
187. Cakar G, Kuru B, Ipci SD, Aksoy ZM, Okar I, Yilmaz S. Effect of Er: YAG and CO2 lasers with and without sodium fluoride gel on dentinal tubules: a scanning electron microscope examination. *Photomedicine and laser surgery*. 2008;26(6):565-71.
188. Hsu P-J, Chen J-H, Chuang F-H, Roan R-T. The combined occluding effects of fluoride-containing dentin desensitizer and Nd-Yag laser irradiation on human dentinal tubules: an in vitro study. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 2006;22(1):24-9.
189. Kumar NG, Mehta D. Short-term assessment of the Nd: YAG laser with and without sodium fluoride varnish in the treatment of dentin hypersensitivity—a clinical and scanning electron microscopy study. *Journal of Periodontology*. 2005;76(7):1140-7.
190. Lan W-H, Liu H-C. Sealing of human dentinal tubules by Nd: YAG laser. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*. 1995;13(5):329-33.
191. Schwarz F, Arweiler N, Georg T, Reich E. Desensitizing effects of an Er: YAG laser on hypersensitive dentine: a controlled, prospective clinical study. *Journal of clinical periodontology*. 2002;29(3):211-5.
192. Aranha ACC, Pimenta LAF, Marchi GM. Clinical evaluation of desensitizing treatments for cervical dentin hypersensitivity. *Brazilian oral research*. 2009;23:333-9.
193. Schmalz G, Hiller K-A, Nunez LJ, Stoll J, Weis K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *Journal of endodontics*. 2001;27(1):23-30.
194. Cury MS, Silva CB, Nogueira RD, Campos MG, Palma-Dibb RG, Geraldo-Martins VR. Surface roughness and bacterial adhesion on root dentin treated with diode laser and conventional desensitizing agents. *Lasers in medical science*. 2018;33(2):257-62.
195. Buergers R, Schneider-Brachert W, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G. Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. *Dental materials*. 2009;25(2):269-75.
196. Filoche S, Wong L, Sissons C. Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *Journal of dental research*. 2010;89(1):8-18.
197. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontology 2000*. 2011;55(1):16-35.

198. Hauser-Gerspach I. Adhesion of oral streptococci to enamel and dental materials: studies using a flow chamber and microcalorimetry: University_of_Basel; 2007.
199. Van Ruyven F, Lingström P, Van Houte J, Kent R. Relationship among mutans streptococci, "low-pH" bacteria, and iodophilic polysaccharide-producing bacteria in dental plaque and early enamel caries in humans. *Journal of Dental Research*. 2000;79(2):778-84.
200. Gong K, Mailloux L, Herzberg MC. Salivary film expresses a complex, macromolecular binding site for *Streptococcus sanguis*. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(12):8970-4.
201. An YH, Friedman RJ. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *Journal of biomedical materials research*. 1998;43(3):338-48.
202. Katsikogianni M, Missirlis Y. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater*. 2004;8(3):37-57.
203. Cazzaniga G, Ottobelli M, Ionescu AC, Paolone G, Gherlone E, Ferracane JL, et al. In vitro biofilm formation on resin-based composites after different finishing and polishing procedures. *Journal of dentistry*. 2017;67:43-52.
204. Ionescu A, Brambilla E, Wastl DS, Giessibl FJ, Cazzaniga G, Schneider-Feyrer S, et al. Influence of matrix and filler fraction on biofilm formation on the surface of experimental resin-based composites. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2015;26(1):58.
205. Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of *Streptococcus mutans* to various restorative materials in a continuous flow system. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2004;31(3):278-85.
206. Blixt-Johansen G, Ek A-C, Ganowiak W, Granérus A-K, Von Schenck H, Unosson M, et al. Improvement of oral mucosa with mucin containing artificial saliva in geriatric patients. *Archives of gerontology and geriatrics*. 1992;14(2):193-201.
207. Kinani L, Najih R, Chtaini A. Corrosion inhibition of titanium in artificial saliva containing fluoride. *Leonardo Journal of Sciences*. 2008;12:243-50.
208. Rüttermann S, Bergmann N, Beikler T, Raab WH-M, Janda R. Bacterial viability on surface-modified resin-based dental restorative materials. *Archives of oral biology*. 2012;57(11):1512-21.
209. Gadelmawla E, Koura MM, Maksoud TM, Elewa IM, Soliman H. Roughness parameters. *Journal of materials processing Technology*. 2002;123(1):133-45.
210. Tjan AH, Chan CA. The polishability of posterior composites. *The Journal of prosthetic dentistry*. 1989;61(2):138-46.

211. Erdemir U, Sancakli HS, Yildiz E. The effect of one-step and multi-step polishing systems on the surface roughness and microhardness of novel resin composites. *European journal of dentistry*. 2012;6(02):198-205.
212. Bollenl CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dental materials*. 1997;13(4):258-69.
213. Nogueira RD, Silva CB, Lepri CP, Palma-Dibb RG, Geraldo-Martins VR. Evaluation of surface roughness and bacterial adhesion on tooth enamel irradiated with high intensity lasers. *Brazilian dental journal*. 2017;28:24-9.
214. Hosoya N, Honda K, Iino F, Arai T. Changes in enamel surface roughness and adhesion of *Streptococcus mutans* to enamel after vital bleaching. *Journal of Dentistry*. 2003;31(8):543-8.
215. Bilgili D, DüNDAR A, Barutçugil Ç, Tayfun D, Özyurt ÖK. Surface properties and bacterial adhesion of bulk-fill composite resins. *Journal of dentistry*. 2020;95:103317.
216. Ahn S-J, Lim B-S, Lee S-J. Surface characteristics of orthodontic adhesives and effects on streptococcal adhesion. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2010;137(4):489-95.
217. Hahnel S, Rosentritt M, Bürgers R, Handel G. Surface properties and in vitro *Streptococcus mutans* adhesion to dental resin polymers. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2008;19(7):2619-27.
218. Grivet M, Morrier J, Benay G, Barsotti O. Effect of hydrophobicity on in vitro streptococcal adhesion to dental alloys. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2000;11(10):637-42.
219. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clinical oral implants research*. 2006;17(S2):68-81.
220. Al-Radha ASD, Dymock D, Younes C, O'Sullivan D. Surface properties of titanium and zirconia dental implant materials and their effect on bacterial adhesion. *Journal of dentistry*. 2012;40(2):146-53.
221. Quirynen M, Marechal M, Busscher H, Weerkamp A, Darius P, van Steenberghe D. The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation: an in vivo study in man. *Journal of clinical periodontology*. 1990;17(3):138-44.
222. Abisi E, Addy M, Adams A. Dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol*. 1987;14:280-4.

223. Pashley DH. Dentin permeability and dentin sensitivity. Proceedings of the Finnish Dental Society Suomen Hammaslaakariseuran toimituksia. 1992;88:31-7.
224. Ling T, Gillam D, editors. The effectiveness of desensitizing agents for the treatment of cervical dentine sensitivity (CDS)--a review. The Journal of the Western Society of Periodontology/Periodontal abstracts; 1996.
225. Yoshiyama M, Masada J, Uchida A, Ishida H. Scanning electron microscopic characterization of sensitive vs. insensitive human radicular dentin. Journal of dental research. 1989;68(11):1498-502.
226. Yüksel Ey, Zaimoğlu Atd. Farklı yüzey özelliklerine sahip zirkonyum oksit ve farklı fabrikasyon yöntemleri ile üretilen veneer seramikleri arasındaki bağlantı direncinin fizik yeterliliğinin değerlendirilmesi: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Protetik Diş Tedavisi ...; 2011.
227. Uslu YS, Donmez N. The effects on dentin tubules of two desensitising agents in combination with Nd: YAG laser: An in vitro analysis (CLSM and SEM). Optics & Laser Technology. 2020;129:106225.
228. Ghafournia M, Tehrani MH, Nekouei A, Faghihian R, Mohammadpour M, Feiz A. In vitro evaluation of dentin tubule occlusion by three bioactive materials: A scanning electron microscopic study. Dental research journal. 2019;16(3):166.
229. Yilmaz HG, Cengiz E, Kurtulmus Yilmaz S, Leblebicioglu B. Effectiveness of Er, Cr: YSGG laser on dentine hypersensitivity: a controlled clinical trial. Journal of clinical periodontology. 2011;38(4):341-6.
230. Pourshahidi S, Ebrahimi H, Mansourian A, Mousavi Y, Kharazifard M. Comparison of Er, Cr: YSGG and diode laser effects on dentin hypersensitivity: a split-mouth randomized clinical trial. Clinical oral investigations. 2019;23(11):4051-8.
231. Pesevska S, Nakova M, Ivanovski K, Angelov N, Kesic L, Obradovic R, et al. Dentinal hypersensitivity following scaling and root planing: comparison of low-level laser and topical fluoride treatment. Lasers in medical science. 2010;25(5):647-50.
232. Suri I, Singh P, Shakir QJ, Shetty A, Bapat R, Thakur R. A comparative evaluation to assess the efficacy of 5% sodium fluoride varnish and diode laser and their combined application in the treatment of dentin hypersensitivity. Journal of Indian Society of Periodontology. 2016;20(3):307.
233. Gholami GA, Fekrazad R, Esmail-Nejad A, Kalhori KA. An evaluation of the occluding effects of Er; Cr: YSGG, Nd: YAG, CO2 and diode lasers on dentinal tubules: a

scanning electron microscope in vitro study. Photomedicine and laser surgery. 2011;29(2):115-21.

234. Ionescu A, Wutscher E, Brambilla E, Schneider F, Feyrer S, Giessibl FJ, Hahnel S. Influence of surface properties of resin-based composites on in vitro *S. treptococcus mutans* biofilm development. European journal of oral sciences. 2012;120(5):458-65.

