



**DENTİN DEPROTEİNİZASYONUNDA OZON GAZI KULLANIMININ
REZİN DENTİN BAĞLANMA DAYANIMI ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Nihan CEVLEK

**DOKTORA TEZİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2021

DENTİN DEPROTEİNİZASYONUNDA OZON GAZI KULLANIMININ REZİN
DENTİN BAĞLANMA DAYANIMI ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

Nihan CEVLEK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2021

ÖZET

Bu araştırmada; dentin deproteinizasyon ajanı olarak Sodyum hipoklorit (Endosolve-Hp, Imicryl, Türkiye), Bromelain enzimi (Bromelain, Solgar, ABD) ve ozon gazı (OzonyTronX®, Mymed, Almanya) kullanılan ve kontrol grubu örneklerinde, etch&rinse adeziv sistem ile birlikte uygulanan kompozit restorasyonun, yaşlandırılma protokolleri (1 ve 2 yıl) sonrasında rezin-dentin arayüz birleşiminin mikrosızıntı ve bağlanma dayanıklılığı açısından karşılaştırılması amaçlandı. Bağlanma dayanımı testi için oklüzal yüzeyde yüzeyel dentini açığa çıkarılan 112 adet daimi 3. molar dişin asitle aşındırılmasının ardından deproteinizasyon ajanları uygulandı. Silikon kalıplar yardımı ile kompozit bloklar hazırlandı, yaşlandırma protokolleri doğrultusunda gruplar oluşturuldu (8 grup, n=14). Bağlanma dayanımının değerlendirilmesi için, örnekler Shimadzu AG-IS Autograph cihazına yerleştirildi ve kırık tiplerinin belirlenmesi amacı ile stereomikroskop altında incelendi. Mikrosızıntı çalışmasında 56 adet daimi 3. molar dişin bukkal ve lingul/palatinaline su soğutması altında standart servikal kaviteler açıldı ve yüzeyler asit ile aşındırıldı. Kontrol grubuna ait örnekler hariç hazırlanan kavitelere deproteinizasyonu ajanları uygulanarak kompozit restorasyonlar tamamlandı, örnekler yaşlandırma protokolleri doğrultusunda gruplara ayrıldı (8 grup, n=14). %2 metilen mavisi içinde 4 saat bekletilen örneklerin, Metkon Microcut 201 cihazı ile kesitleri alınarak mikrosızıntı skorlaması yapıldı. Çalışmada elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde Bromelain deproteinizasyonunun istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak şekilde diğer gruplardan yüksek mikrosızıntı skorları ($p<0,001$) ve düşük bağlanma dayanımı değerleri ($p<0,001$) sergilediği bulundu. Mikrosızıntının dağılımları arasında yaşlandırma süreleri karşılaştırıldığında sadece ozon grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulundu ($p>0,050$). Kontrol, Sodyum Hipoklorit ve Ozon grupları bağlanma dayanımı açısından karşılaştırıldığında; anlamlı istatistiksel farklılık olmadığı belirlendi ($p=1,000$). Grup-İçi 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokollerinin etkileri karşılaştırıldığında tüm gruplarda anlamlı istatistiksel farklılık saptandı ($p=0,001$).

Bilim Kodu : 1047
Anahtar Kelimeler : Sodyum Hipoklorit, Bromelain, Ozon, Dentin Deproteinizasyonu
Sayfa adedi : 174
Danışman : Doç. Dr. Didem ATABEK

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF GASEOUS OZONE USE IN DENTIN DEPROTEINIZATION IN TERMS OF RESIN DENTIN BONDING STRENGTH

(Ph.D. Thesis)

Nihan CEVLEK

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
March 2021

ABSTRACT

In this study, it was aimed to compare resin-dentin interface in terms of microleakage and bonding strength after aging protocols (1 and 2 year(s)) of composite restoration applied with etch&rinse adhesive system in control group samples and with use of Sodium Hypochlorite (Endosolv-Hp, Imicryl, Turkey) as dentin deproteinization agent, Bromelain enzyme (Bromelain Solgar, USA) and ozone gas (OzonyTronx®, Mymed, Germany). For the bond strength test, deproteinization agents were applied after abrasion of 112 permanent 3rd molar teeth, whose surface dentine was exposed on the occlusal surface, with acid. Composite blocks were prepared with the help of silicone molds, groups were formed in line with aging protocols (8 groups, n = 14). In order to evaluate the bond strength, the samples were placed in the Shimadzu AG-IS Autograph device and examined under a stereomicroscope to determine the fracture types. In the microleakage study, standard cervical cavities were opened under water cooling into the buccal and lingual / palatal of 56 permanent 3rd molar teeth and the surfaces were ground with acid. The composite restorations were completed by applying deproteinization agents to the prepared cavities except the samples belonging to the control group, and the samples were divided into groups according to the aging protocols (8 groups, n = 14). The samples kept in 2% methylene blue for 4 hours were sectioned with Metkon Microcut 201 device and microleakage scoring was performed. When the results obtained in the study were evaluated, it was found that Bromelain deproteinization exhibited higher microleakage scores ($p < 0.001$) and lower bond strength values ($p < 0.001$) compared to the other groups, making a statistically significant difference. When the aging times were compared between the distributions of microleakage, it was found that there was no statistically significant difference only in the ozone group ($p > 0.050$). When Control, Sodium Hypochlorite and Ozone groups are compared among themselves in terms of bonding strength; It was determined that there was no significant statistical difference ($p = 1,000$). When the effects of the 1 and 2-year aging protocols within the group were compared, a significant statistical difference was found in all groups ($p = 0.001$).

Science Code : 1047

Key Words : Sodium Hypochlorite, Bromelain, Ozone, Dentin Deproteinization

Page Number : 174

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Didem ATABEK

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimde bana bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren, bu süreçte gerek akademik olarak gerek sosyal olarak her zaman beni destekleyen, benden sabrını ve anlayışını hiçbir zaman esirgemeyen, yanlışılarımı güler yüzüyle ve hoşgörüyle karşılayan, kendimi öğrencisi olduğum için çok şanslı hissettiğim, bu tez çalışmasının ortaya çıkmasında ve şekillenmesinde en önemli katkısı olan ablam ve çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Didem ATABEK'e,

Hem teorik hem pratik olarak bana çok şey öğreten ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan değerli hocalarım Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ, Doç. Dr. Çağdaş ÇINAR ve Doç. Dr. Mehmet BANİ'ye,

Doktora eğitimim boyunca bilgilerini benimle paylaşan, güler yüzünü hiç esirgemeyen ve birçok konuda bana yol gösteren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Neşe Akal başta olmak üzere; Prof. Dr. Alev ALAÇAM, Prof. Dr. Nurhan ÖZTAŞ KIRMIZI, Prof. Dr. Haluk BODUR, Prof. Dr. Ayşegül ÖLMEZ'e ve tez çalışmamın laboratuvar aşamalarında büyük katkısı olan Doç. Dr. Emre BARIŞ'a

Her zaman sevgisi ve desteğini yanımda hissettiğim, birlikte geçirdiğimiz öğle aralarını, iş çıkışı kahvelerini çok özleyeceğim sevgili dostum Tuğçe TALAY'a, pek çok anı paylaştığım, iyi günümde kötü günümde yanımda olan, bu yolu beraber yürümekten mutluluk duyduğum, Şeyma EDİKLİ, Sultan BEDİR, Aycan DAL, Arzu Şükran İNCİOĞLU, Kiyun YOON, Erdem PALAZ, Emre BAKIR'a, klinikteki ilk günümde bu yana pratik ve akademik desteğini esirgemeyen Nagehan AKTAŞ, Derya KOTAN, Yasemin AKDEMİR ve Didem SAKARYALI'ya

Hayatım boyunca elimi hiç bırakmayan, sevgilerini hiç esirgemeyen, benim için her zaman ellerinden gelenin fazlasını yaptıklarına emin olduğum hayattaki en büyük şanslarım annem Binnur CEVLEK, babam İhsan CEVLEK ve ablam Reyhan ÜNLÜ'ye

Tanıştığım günden bu yana bana hep destek olan, tüm olumsuz düşüncelerimi bıkmadan dinleyen, hayatıma ışık tutan Emrah YIKARBABA'ya

Uzun yıllardır ev arkadaşım olan ve çok uzun yıllar daha olmasını en içten dilediğim, sessiz dostum, can yoldaşım, boncuk oğlum, kedim Behlül'e

Sonsuz teşekkürlerimle...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Adezyon	5
2.1.1. Adezyon Türleri	5
2.2. Diş Hekimliğinde Adezyon.....	6
2.2.1. Mineye Adezyon	7
2.2.2. Dentine Adezyon.....	8
2.3. Adezyon Kapsamında Hibrid Tabakaya Yönelik Çalışmalar	19
2.3.1. Matriks Metalloproteinazlar	19
2.3.2. Matrix Metalloproteinaz İnhibitörleri	28
2.3.3. Kollajenin Mekanik Özelliklerini Artırma.....	36
2.3.4. Sentetik Çapraz Bağlayıcılar.....	37
2.3.5. Doğal Türetilmiş Çapraz Bağlayıcılar	40
2.4. Deproteinizasyon.....	44
2.4.1. Dentin Deproteinizasyonu Amacıyla Kullanılan Ajanlar	45
2.5. Adeziv Sistemler ve Dentin Dokusu Bağlantısının In-vitro Değerlendirme Yöntemleri.....	67

	Sayfa
2.5.1. Ağız İçi Koşulları Taklit Etmek için Kullanılan Test Yöntemleri.....	67
2.5.2. Adeziv Sistemlerin Dentine Bağlanma Dayanım Testleri	70
2.5.3. Statik Testler	70
2.5.4. Dinamik Testler.....	73
2.6. Restoratif Materyallerin Mikrosızıntı Açısından Değerlendirilmesinde Kullanılan Testler.....	73
2.6.1. Boya Penetrasyonu.....	74
2.6.2. Bakteri Aktivite Yöntemi.....	75
2.6.3. Taramalı Elektron Mikroskobu	75
2.7. Bağlanma Dayanım Testleri Sonucu Oluşan Kırılma Tiplerinin Değerlendirilmesi.....	76
2.8. Adeziv Sistemlerin Dentine Bağlantılarının Görüntüleme Sistemleriyle Değerlendirme Yöntemleri.....	76
2.8.1. Geçirimli Elektron Mikroskobu ile Değerlendirme (Transmission Electron Microscopy).....	76
2.8.2. Taramalı Elektron Mikroskobu ile Değerlendirme (Scanning Electron Microscopy-SEM).....	77
2.8.3. Atomik Güç Mikroskobu ile Değerlendirme (Atomic Force Microscopy)	77
3.GEREÇ VE YÖNTEM	79
3.1. Etik Kurul Onayı.....	80
3.2. Örneklem Genişliği Hesaplaması.....	80
3.3. Mikrosızıntı Testleri.....	80
3.4. Bağlanma Dayanımı Testleri.....	87
3.5. İstatistiksel Analiz Yöntemi	92
4. BULGULAR	93
4.1. Mikrosızıntı Test Bulguları	93
4.2. Bağlanma Dayanımı Test Bulguları.....	95
5. TARTIŞMA	99

	Sayfa
6. SONUÇ.....	133
KAYNAKLAR.....	135
EKLER.....	167
Ek-1. Etik Kurul Onayı.....	168
Ek-2. Hasta Onam Formu	172
ÖZGEÇMİŞ	173



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Mikrosızıntı test skorları ve tanımları	87
Çizelge 4.1. Deproteinizasyon ajanları ve yaşlandırma protokollerine göre mikrosızıntı skorlarının dağılımı	95
Çizelge 4.2. Deproteinizasyon ajanları ve yaşlandırma protokollerine göre elde edilen bağlanma dayanımı değerlerinin (MPa) dağılımı	96
Çizelge 4.3. Çalışma gruplarında bağlanma dayanımı değerlerinin yaşlandırma dönemlerine göre karşılaştırılması.....	97
Çizelge 4.4. Deproteinizasyon ajanlarının etkisine ait çoklu karşılaştırma sonuçlarının dağılımı.....	97
Çizelge 4.5. Deproteinizasyon ajanları ve yaşlandırma protokollerine göre bağlanma dayanımı testi sonrasında gözlemlenen kırık tiplerinin dağılımı.....	98

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Corona-discharge</i> esaslı ozon jeneratörünün şematik diagramı	59
Şekil 4.1. Deproteinizasyon ajanları ve yaşlandırma protokollerine göre elde edilen bağlanma dayanımı değerlerinin dağılım grafiği	96



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Tez çalışmasında oluşturulan gruplar ve uygulama basamakları	79
Resim 3.2. Mikrosızıntı testi için kullanılacak dişlerde servikal kavitelelerin hazırlanması.....	81
Resim 3.3. Mikrosızıntı testi için grup 1 (kontrol grubu) örneklerinin hazırlanması..	82
Resim 3.4. Mikrosızıntı testi için grup 2’de deproteinizasyon ajanı olarak sodyum hipoklorit uygulaması	82
Resim 3.5. Mikrosızıntı testi için grup 3’de deproteinizasyon ajanı olarak %3 bromelain solüsyonu uygulaması	83
Resim 3.6. Mikrosızıntı testi için grup 4’de deproteinizasyon ajanı olarak 40 sn ozon gazı (<i>OzonyTronX®</i> Mymed, Almanya) ve askorbik asit uygulaması.....	84
Resim 3.7. Distile su içerisinde etüvde bekletilen örnekler.....	84
Resim 3.8. Bir yıl yaşlandırma protokolü; 5-55 °C, 10 sn / 10.000 termal siklus cihazı (<i>SD Mechatronik Thermocycler</i> cihazı, Almanya)	85
Resim 3.9. İki yıl yaşlandırma protokolü; 5-55 °C, 10 sn / 10.000 termal siklusu takiben 1 yıl süre ile etüvde (<i>Nüve Incubator EN 120</i> , Türkiye) bekletilen örnekler.....	85
Resim 3.10. Mikrosızıntı testi hazırlık aşamaları	86
Resim 3.11. Mikrosızıntı testi için hazırlanan çalışma gruplarına ait örnekleri	86
Resim 3.12. Mikrosızıntı testi <i>microcut</i> cihazı (<i>Metkon Microcut 201</i> , Türkiye) Stereomikroskop (<i>Olympus SZ4045 TRPT</i> , Japonya)	86
Resim 3.13. Mikrosızıntı test skor diyagramı ve örnek stereomikroskop görüntüleri ..	87
Resim 3.14. Bağlanma dayanım testi örneklerinin yüzey hazırlığı aşamaları (<i>Presi Mepacol P230</i>)	88
Resim 3.15. Bağlanma dayanımı testi; grup 1 örneklerinin hazırlanması (kontrol grubu).....	88
Resim 3.16. Bağlanma dayanımı grup 2’de (sodyum hipoklorit grubu) kullanılan deproteinizasyon ajanı ve uygulaması.....	89
Resim 3.17. Bağlanma dayanımı grup 3’de (bromelain Grubu) kullanılan deproteinizasyon ajanı ve uygulaması.....	90

Resim	Sayfa
Resim 3.18. Bağlanma dayanımı grup 4’de (ozon grubu) kullanılan ozon jenaratörü (<i>OzonyTronX</i> ®) ve uygulaması	90
Resim 3.19. Makro-makaslama testi için kullanılan <i>Shimadzu AG-IS Autograph</i> (Shimadzu Scientific Instruments, Amerika) cihazı	91



SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
°C	Santigrat derece
°C	Celcius
Ca(OCl) ₂	Kalsiyum hipoklorit
Ca ⁺²	Kalsiyum iyonu
cal	Kalori
dk	Dakika
EDC	Etil-3- (3-dimetilaminopropil) Karbodiimid Hidroklorür
EGCG	Epigallotechtin-3-Gallate
Hg	Civa
HOCl	Hipokloröz asitle
Hz	frekans birimi (hertz)
MDPB	12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mm ²	Milimetre kare
MPa	Mega paskal
N	Newton
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
nm	Nanometre

Simgeler	Açıklamalar
°	Derece
O ⁺²	Aktif atomik oksijen
O ₃	Ozon
OCl ⁻	Hipoklorit iyonu
OH ⁻	Hidroksil iyonu
pH	Bir çözeltinin asitlik veya bazlık derecesinin ölçüsü
PO ₄ ⁻³	Fosfat iyonu
ppm	Toplam madde miktarının milyonda 1 birimi (parts per million)
sn	Saniye
Zn ⁺²	Çinko
ZnO	Çinko oksit
µGBD	Bağlanma dayanımı değeri ölçü birimi
µm	Mikrometre
µTBS	Gerilme dayanımı test değeri ölçü birimi

Kısaltmalar	Açıklamalar
AFM	Atomik güç mikroskobu (<i>atomic force microscopy</i>)
AIDS	Kazanılmış bağışıklık yetersizliği sendromu
BAC	Benzalkonyum Klorit
BisGMA	Bisfenol-A Glisidil Metakrilat
CHX	Klorhesidin
CMT	Modifiye edilmiş tetrasiklinler
CTX	C-terminal ucu telopeptidi
ECM	Ekstaselüler Matriks
EDTA	Etilenediamin tetraasetik asit
EGCG	Epigallokateşin gallat

Kısaltmalar	Açıklamalar
GA	Gluteraldehit
GM6001	Spesifik bir matriks metalloproteinaz inhibitörü
GNP	Genipin
HEMA	Hidroksietil metakrilat
HPN	Hesperidin
ICTP	C-terminal çapraz bağlı telopeptid
Ilomastat	Spesifik bir matriks metalloproteinaz inhibitörü
ISO	Uluslararası standardizasyon örgütü (International Organization for Standardization)
LED	Light emitting diode
MMP	Matriks Metalloproteinaz
MMPs	Matriks Metalloproteinazlar
MT1-MMP	Membran tip 1 matriks metalloproteinaz
MTA	Mineral trioksit agregat
ND:YAG	Neodymium-doped yttrium aluminium garnet
PA	Proantosiyanidin
PENTA	Dipentaeritritol penta akrilat monofosfat
proMMP	Progelatinaz A'nın hücre yüzeyi aktivasyonu
SB-3CT	Spesifik bir matriks metalloproteinaz inhibitörü
SEM	Taramalı elektron mikroskopu (scanning electron microscopy)
SH	Sülfhidril
TA	Tannik asit
TEGDMA	Trietilen Glikol Dimetakrilat
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu (<i>Transmission Electron Microscope</i>)
TIMP	Metalloproteinazların doku inhibitörü (Tissue inhibitor of metalloproteinases)

Kısaltmalar**Açıklamalar****UVA**

Ultraviyole

WHO

Dünya sağlık örgütü (World Health Organization)

ZM

Çinko metakrilat



1. GİRİŞ

Diş çürüğü, diş yüzeyinde fermente olabilen diyet karbonhidratları ile karyojenik oral floranın (biofilm) kompleks etkileşimi sonucu zamanla oluşan enfeksiyöz, multifaktöriyel bir ağız hastalığıdır (Heymann, Swift ve Ritter, 2013). Diş çürüğü, global bir halk sağlığı problemi olmakla beraber bulaşıcı olmayan en yaygın hastalıklardan biri olarak ifade edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre dünya nüfusunun hemen hemen yarısı diş çürüğünden etkilenmektedir. Ayrıca, diş çürüğü sanayileşmiş ülkelerdeki sağlık hizmetleri bütçelerinin %5-10' unu kapsayan, tedavisi pahalı bir hastalık olarak belirtilmektedir (Listl, Galloway, Mossey ve Marcenes, 2015).

Diş çürüğünden kaynaklanan diş sert doku yıkımlarının tedavisi için yıkıma uğrayan dokunun uzaklaştırılması (kavite) ve kavitenin restoratif bir materyal ile şekillendirilmesi gerekmektedir. Kavite hazırlığında uzun yıllar boyunca “korumak için genişlet” prensibi uygulanmış, ancak adeziv diş hekimliği alanındaki gelişmeler ile birlikte yalnızca çürük dokusunun kaldırıldığı “minimal invaziv tedavi” prensibi benimsenmeye başlanmıştır. Bu bağlamda adezyon kavramı ve adeziv sistemlerin başarısı günümüzün en çok araştırma yapılan konuları haline gelmiştir (Kaya, 2014).

Restoratif diş hekimliğinde adeziv sistemlerin geliştirilmeye başlamasından itibaren diş dokusu ile materyal arasındaki bağlantıda oluşan sorunları gidermek ve adezyonu artırmak için araştırmalar yapılmaktadır. Dentinin tüm adeziv sistemlere bağlanma mekanizması “hibridizasyon” kavramına dayanmaktadır. Temelde, asit uygulamasıyla açığa çıkarılan kollajen fibrillere tamamen infiltre olan adeziv monomerler ile oluşan hibrid tabaka sayesinde yüksek kaliteli bir arayüz elde edildiği kabul edilmektedir. Asitleme ve yıkama olarak tanımlanan *Etch&rinse* adeziv sistemlerinde kullanılan asidik ajanlarla, smear tabakasının uzaklaştırılması, dentin demineralizasyonu ve kollajen fibril ağının açığa çıkarılması sağlanmaktadır. Adeziv monomerlerin açıkta kalan kollajen ağına nüfuz etmesi ve ardından hibrid tabaka oluşumu ile adezyon mümkün olmaktadır. (Jatyr, Polido, Osorio E., Erhardt., Aguilera, Godoy, Osorio R. ve Toledano, 2007.) Modern adeziv sistemlerde genellikle restorasyon yapıldıktan hemen sonra yüksek bağlanma gücü başarısı ve yüksek kalitede marjinal sızdırmazlık rapor edilmekle birlikte, sonuçların *in vitro* ve *in vivo* olarak birkaç ay içinde bozunmaya başladığı bildirilmektedir (De Munck ve diğerleri, 2005; Breschi ve diğerleri, 2008). Hibrid tabakanın restorasyonun uzun ömürlülüğünden sorumlu

olduğu açıklanmış olmasına rağmen, primer ve adeziv rezinin demineralize dentin kollajen tabakasına her zaman tam olarak nüfuz edemeyeceğine dair kanıtlar vardır. Asitle aşındırma işleminden sonra dentin demineralizasyonunun derinliği ile rezin infiltrasyonunun derinliği arasındaki tutarsızlık sonucunda hibrid tabakanın altında ve içinde mikro gözenekli bölgelerin olduğu gümüş nitrat yöntemiyle rapor edilmiştir. Gözenekli yapı, kollajen fibrillerin ve/veya polimerize rezinlerin hidrolizi ile arayüzün bozunması için bir yol oluşturabilir (Sano, Shono, Takatsu ve Hosoda, 1994). Hibrid tabakanın temelini oluşturan ekspoz kollajenin enzimatik ve hidrolitik bozunması fiziksel ve kimyasal çeşitli faktörlere bağlıdır (Tay ve Pashley, 2003). Green ve diğerleri, hibrid tabakanın bileşenleri bozunmaya başlar başlamaz tabaka içerisinde su ile dolu kanallar oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Bu kanallar hibrid tabakaya oral ve dentinal sıvıların erişmesine izin vererek bozunma olasılığını artırır (Green, Yao, Ganguly, Xu, Dusevich, Walker ve Wang, 2010). Bu bağlamda yeni bir bakış açısı olarak karşımıza çıkan “Dentin Deproteinizasyonu” kavramı asit uygulanmış dentin üzerinde proteolitik ajanların kullanılmasıyla dentin substratının modifikasyonu olarak tanımlanabilir (Ghonaim, Abdelmohsen, Elkassas ve Abo-El-Ezz, 2014).

Dentin dokusunda deproteinize edici çözeltilerin kullanımı, asit ile açığa çıkan kollajen fibrilleri çözerek dentin yüzey ultramorfolojisini değiştirir. Bu bağlamda, kollajenin deproteinize edici bir ajan ile çıkarılması, dentine adezyon probleminin üstesinden gelmek için uygun bir yöntem olarak önerilmiştir. Deproteinizasyon sürecinde dentin dokusundaki lateral kanal ağlarının açığa çıkarılarak uzaklaştırılması da teşvik edilir, dentin tübülleri güçlendirilir ve dentin, adezyon lehine bir karakteristik olan asit uygulanmış mineye benzer hale getirilir. Oluşan mineye benzer düzensizlik gösteren modifiye edilmiş dentin yüzeyine adezivin mekanik olarak tutunması da mümkün hale gelmiş olur (Gisele, Roberta, Maria, Ana ve Regina, 2006). Dentin yüzeyinin, asitle pürüzlendirilmiş mineye, yani bağlanma için daha öngörülebilir ve hidrofilik bir substrata benzer hale geldikçe bağlanmanın artacağı düşünülmektedir (Inaba, Duschner, Jongebloed, Ode-Lius, Takagi ve Arends, 1995).

Dentine çeşitli ajanlar ile uygulanan deproteinizasyon işleminin, dentin adeziv prosedürlerinde teknik hassasiyeti azaltabileceği; makaslama, çekme kuvvetlerinde süregelen artış sağlayabileceği ve mikrosızıntıyı azaltabileceği öne sürülmektedir. Buna bağlı olarak da dentin dokusunda hatalı adezyon prosedürleri sonucu oluşan operasyon

sonrası hassasiyet gibi klinik semptomların azaltılabileceği bildirilmektedir (Chauhan, Siddaveerappa, Basavanna ve Shivanna, 2015).

Günümüzde dentin deproteinizasyonu yöntemi için NaOCl ile ilgili oldukça fazla çalışma bulunmakla birlikte, bu ve diğer kimyasal kaynaklı ajanların olumsuz yan etkilerinden dolayı farklı ajan arayışına girilmiş ve bu bağlamda doğal kaynaklı okside edici ajanların kullanımına bir yönelim başlamıştır. Ancak literatürde bu konu ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. En güçlü oksidatif ajan olarak tanımlanan “ozon gazı” diş hekimliğinde; başlangıç çürüklerinin tedavisi, beyazlatma prosedürleri, kök kanal tedavisi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ancak ozon gazının deproteinizasyon amacı ile dentin üzerine uygulandığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yürütülen tez çalışmasında *etch&rinse* adeziv sistemle birlikte uygulanan kompozit restorasyonunda dentin deproteinizasyonu ajanı olarak Ozon gazı, NaOCl ve Bromelain çözeltisi kullanımının rezin-dentin arayüzey birleşiminin bağlanma dayanıklılığı ve mikrosızıntı düzeyi açısından karşılaştırılması amaçlandı. Bu araştırmanın başlangıç hipotezi (H0) “Dentin ve kompozit restorasyon arayüzey bağlanma dayanıklılığı ve mikrosızıntı düzeyi açısından dentin deproteinizasyonu amacı ile Ozon gazı kullanımının, Sodyum Hipoklorit ve kontrol grupları ile arasında anlamlı bir fark yoktur” şeklinde kuruldu. Alternatif hipotez (H1) ise “Dentin ve kompozit restorasyon arayüzey bağlanma dayanıklılığı ve mikrosızıntı düzeyi açısından dentin deproteinizasyonu amacı ile Ozon gazı kullanımı, Sodyum Hipoklorit ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık oluşturacaktır” olarak tanımlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Diş çürüğü; dişlerin sert dokularında yıkıma neden olan, kronik, multifaktöriyel ve bulaşıcı bir hastalıktır. Çürük sonucunda oluşan sert doku yıkımlarının tedavisi için çürük dokunun uzaklaştırılması (kavite hazırlığı) ve restoratif bir materyal ile yeniden şekillendirilmesi gerekmektedir. Kavite hazırlığında adeziv diş hekimliği alanındaki ilerlemelerle birlikte yalnızca çürük dokusunun kaldırıldığı “minimal invaziv tedavi” prensibi tercih edilmektedir (Kaya, 2014). Bu tedavi prensibinin tercih edilmesi ile birlikte rezin kompozit içerikli materyaller tüm restorasyon sınıfları için ana tercih haline gelmiştir. Bu restorasyonların başarısı, diş sert dokularına olan adezyona bağlıdır. İyi bir adezyon sağlanamadığı takdirde mikrosızıntıya bağlı olarak bakteri, sıvı ve iyonların geçişiyle postoperatif hassasiyet, sekonder çürük ve pulpada iltihabi değişiklikler görülebilir. Mikrosızıntının azaltılması ve bakterilerin canlılığını sürdürmesine engel olunması, ancak gelişmiş ve kaliteli rezin-deentin arayüz bağlantısı sayesinde oluşturulabilecek hermetik bir restorasyona bağlıdır (Roberson, Heymann ve Swift, 2006).

2.1. Adezyon

Adezyon (bağlanma) kelime olarak latinedeki “adhaerere” kelimesinden gelmektedir. Farklı moleküller arasındaki çekim kuvveti “adezyon”; aynı moleküllerin birbirleri arasındaki çekim kuvveti ise “kohezyon” olarak tanımlanmaktadır. Adezyonu oluşturan maddeye “adeziv”; adezivin uygulandığı maddeye ise “adherent” adı verilir. Diş hekimliği uygulamaları için bonding ajanları adeziv iken, adezivin uygulandığı diş yüzeyleri adherenttir. Adezyon için, adeziv ve adherent arasında tam bir temas olması gerekmektedir (Dayangaç, 2011).

2.1.1. Adezyon Türleri

Mekanik Adezyon: Adezivin, substrat veya adherent yüzeyindeki girintili ve çıkıntılı düzensiz yüzeylere kilitlenmesi olarak tanımlanır. Bu kilitlenmede reolojik ve geometrik etkenler söz konusudur. Mikroskobik olarak oluşan porözite veya yüzey pürüzlülüğünün neden olduğu mekanik adezyon geometrik etkenlere; materyalin akışkanlık özelliği nedeniyle bir çıkıntı etrafına akması ve büzülerek tutunması ise reolojik etkenlere örnektir

(Dayangac, 2011). Dental uygulamalarda rezin içerikli materyallerde oluşan gerilimler ve polimerizasyon büzülmesi reolojik etkenlerin sonucu olarak karşımıza çıkar (Kaya, 2014).

Fiziksel Adezyon: Bu tür adezyon birincil ve ikincil kuvvetlerin etkisi ile oluşur. Birincil kuvvetler; iyonik bağlar, kovalent bağlar ve mekanik bağlar olmak üzere üçe ayrılmaktadır. İkincil kuvvetler ise Hidrojen bağları, Van der Waals kuvvetleri, Keesom dipol interaksiyon kuvvetleri, Debye dipol indüksiyon kuvvetleri ve London dispersiyon kuvvetleridir (Kiremitci ve Altıncı, 2008). Yüzeyler düz ve kimyasal olarak farklıysa oluşan tek bağlantı tipi fiziksel olmaktadır (Özkul ve Küçükeşmen, 2012).

Kimyasal Adezyon: İki materyalin ara yüzeyinde atomların adezivden aderente doğru geçtiği bağlantı tipi olarak tanımlanmaktadır. Adeziv ve adherentin fiziksel ve kimyasal farklılıklarından dolayı, bu bağlanma tipinin genel bağlanma kuvvetine katkısı oldukça düşüktür (Özkul ve Küçükeşmen, 2012).

2.2. Diş Hekimliğinde Adezyon

Çalışmalarını, endüstriyel alanda boya ve rezin kaplamaların metal yüzeye daha iyi adezyon sağlaması amacıyla kullanılan fosforik asit kullanımına dayanarak yapan Buonocore 1955 yılında ilk kez, boyaların ve akrilik kaplamaların 30 saniye boyunca %85 fosforik asit uygulanan insan minesine bağlanabileceğini keşfetti. Bu “adezyon” tekniğinin pit ve fissür örtülmesi, Sınıf III ve Sınıf V restorasyonlar gibi çeşitli diş tedavi prosedürlerinde kullanılabileceği öngörülmüştür (Swift, 2002).

Buonocore; asitlemenin rezin retansiyonu için ulaşılabilir mikroskopik yüzey alanını artırdığını rapor etmiştir. Ancak; Buonocore’un öğrencilerinden John Gwinnett (elektron mikroskopisti) asitlenmiş mine yüzeyi ve rezin infiltrantın arayüzeyini daha yakından inceleyerek, adeziv rezinlerin *asit-etch* uygulanmış mine prizmalarına penetre olabildiğini ve rezinin apatit kristallerini sarmalladığı alanda yapının asite daha dayanıklı hale geldiğini rapor etmiştir. Bu bilgi ilk gerçek “hibrid tabaka” tanımlamasıdır. Asitlenmiş mineye uygulanan rezin iki materyalin hibridizasyonu olan yeni bir yapı oluşturur. Bu *in situ* diş dokusu mühendisliğinin ilk örneğidir (Pashley, Tay, Breschi, Tjäderhane, Carvalho ve Carrilho, 2011). Nakabayashi ve diğerleri (1992); asitlenmiş dentinde gerçek hibrid tabaka formasyonunu göstermişlerdir. Asitlenmiş dentinde açığa çıkan kollajen fibrillerin rezin

infiltrasyonu ile desteklendiğini göstermiş ve bu yeni biyokompozit yapıyı “hibrid tabaka” olarak adlandırmışlardır. Böylece günümüzde diş hekimliğinde kullanılan dental adeziv sistemlerin gelişimi başlamıştır (Swift, 2002).

2.2.1. Mineye Adezyon

Mine dokusu ağırlıkça %95 inorganik, %1 organik ve %4 su, hacimce ise %88 inorganik, %2 organik ve %10 su ve diğer maddelerden oluşur. Minede inorganik yapının büyük bir kısmı hidroksiapatit kristallerinden, organik kısım ise kollajenden oluşmaktadır. Minenin inorganik içeriğinin dentine göre fazla olması nedeniyle, mine asitlere karşı daha dirençli bir yapıya sahiptir ve yüzey enerjisi daha yüksektir. Laboratuvar sonuçlarına göre, fosforik asit uygulaması sonrasında, kompozitin mineye makaslama bağlanma kuvveti çoğunlukla 20 MPa ‘nın üzerindedir (Van Meerbeek, Inoue, Perdiago, Lambrechts ve Vanherle, 2001). Bu bağlanma kuvveti birçok restorasyon için yeterli retansiyonu sağlayarak mikrosızıntının gerçekleşmesini önlemektedir. Mine yüzeyine asit uygulanması, değişik düzeylerde prizmatik ve interprizmatik mineral kristallerini ortadan kaldırarak mikroskobik pürüzlülük sağlar. Aynı zamanda asit uygulaması sonrasında minenin yüzey geriliminde düşüş yaşanarak yüzeyin ıslanabilirliği artar. Bu şekilde oluşan mikroporözitelere rezinin infiltrasyonu daha kolay sağlanır (Kaya, 2014). Temel olarak minenin asitle pürüzlendirilmesinden sonra oluşan porözitelere rezinin infiltre olması ve açığa çıkan hidroksiapatit kristallerinin monomerlerle sarılmasıyla minede mikromekanik adezyon gerçekleştiği bildirilmiştir (Swift, Perdigão ve Heymann, 1995).

Tarayıcı elektron mikroskobu (*Scanning Electron Microscopy*, SEM) ile yapılan bir çalışmada %30-40 oranında fosforik asit ile muamele edilen mine yüzeyinde 3 farklı tip pürüzlendirme olduğu gösterilmiştir. En sık görülen tip 1 pürüzlendirmede mine prizmalarının iç kısmı (kor) çözünerek uzaklaşmış ve dış kısmı bozunmadan kalmıştır. Tip 2 pürüzlendirmede ise kor kısmı çözünmeden kalırken, mine prizmalarının periferlerinde çözünme görülerek ‘kaldırım taşı’ görüntüsü ortaya çıkmıştır. Tip 3 pürüzlendirme, tip 1 ve tip 2 formlarının kombinasyonu şeklindedir ve prizmaların morfolojisine uyum göstermeyen bir çözünme söz konusudur (Silverstone, Saxton, Dogon, Fejerskov, 1975). Günümüzde pürüzlendirme tipleri için bu çalışma dikkate alınmaktadır. Mineye adezyonun temelinin anlaşılması için pürüzlendirme tipleri önemli olsa da mineye bağlanma kuvveti açısından klinik olarak bir bağlantı kurulamamaktadır (Lopes, Thys, Klaus, Oliveira, Widmer, 2007).

Silverstone, (1974) mine dokusuna bağlanmada yeterli retansiyonun sağlanması için %30-40' lık fosforik asit uygulanmasını önermektedir. Önerilen konsantrasyonun üzerindeki konsantrasyonlarda mine dokusundan daha az kalsiyum çözünmekte ve %40'ın altındaki konsantrasyonlara göre daha başarısız bir adezyon oluşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, bazı çalışmalar farklı konsantrasyonlarda aynı bağlanma değerine ulaşıldığını gösterse bile, günümüzde fosforik asit jellerin çoğunun konsantrasyonu %30-40 arasındadır (Gross, Retief, Bradley, 1984). Aynı zamanda asit uygulaması yüzeyde bulunan mikroorganizma sayısında %75 ile %95 arasında değişebilen bir düşüşe neden olmaktadır (Kramer, Zelante, Simionato, 1993). Bununla birlikte, asitle pürüzlendirmenin etkinliği, asidin türü, konsantrasyonu, uygulama yöntemi ve süresi mine/dentin dokusunun içeriğine bağlıdır (Kaya, 2014).

Mineye adezyon, oldukça uzun bir süredir diş hekimliğinde yaygın ve başarılı bir şekilde kullanılmaktadır, ancak güvenilir dentin bağlanması halen tartışmalarını sürdürmektedir. Günümüzde piyasada çok çeşitli dentin / mine adezivleri bulunmaktadır. Bu adezivlerden hiçbirisi “mükemmel” kriterlerini sağlamamaktadır ve her birinin kendine özgü güçlü ve zayıf yanları vardır. Dental uygulamalarda kullanmak için uygun sistemleri seçmek için materyallerin güçlü ve zayıf yanlarını ve klinik performansla ilgili mevcut bilimsel kanıtları dikkatle değerlendirmek gerekmektedir (Swift, 2002).

2.2.2. Dentine Adezyon

Dentin dokusu; ağırlıkça %70 inorganik, %18 organik ve %12 su; hacimce ise %50 inorganik, %30 organik, %20 su ve diğer maddelerden oluşmaktadır. Dentin dokusu, çoğu tip 1 kollajen olan organik madde ve önemli miktarda su içermesi ile karakterizedir. Yoğun bir tübül ağı içeren dentin dokusundaki tübüller içerisinde 1-2,5 mikrometre çapında değişen dentin sıvısı bulunmaktadır. Bu tübüllerin etrafı hipermineralize dentin ile sarıdır ve peritübüler dentin olarak adlandırılır. Dentinin en büyük kısmını oluşturan intertübüler dentin ise peritübüler dentine göre daha az mineralizedir. İntertübüler dentine penetre olan submikron tübüller, komşu kanallardan sıvı ve liflerin geçişini ve intertübüler anastomoz oluşmasını sağlamaktadır. Peritübüler ve intertübüler dentin oranlarının bölgelere göre farklılık göstermesi nedeni ile dentin mineden farklı olarak heterojen özellik göstermektedir (Roberson, Heymann ve Swift, 2006).

Mineden farklı olarak dentin dokusunun nemli olması, adezyon açısından en büyük güçlüğü oluşturmaktadır. Dentin dokusunda bulunan sıvının çoğunluğu dentin tübüllerinin içerisine dağılmaktadır. Vital dentin içindeki tübüllerde 25 ila 30 mm Hg büyüklüğüne sahip intrapulpal basınç nedeniyle sürekli olarak dentinal sıvının transüdayonu vardır. Ortalama tübül çapı ise periferde 0,63 μm iken pulpa yakınındaki 2,37 μm arasında değişmektedir. Dolayısı ile dentine bağlanmada kritik rol oynayan dentin sıvısının miktarı dentin tübüllerinin yoğunluğu, dentinin derinliğine ve lokalizasyonuna göre değişir. Dentin tübüllerinin sayısı mine-dentin birleşiminden (20.000/mm²) pulpaya doğru (45.000/mm²) gidildikçe artar. Tübüller, dentin-mine sınırına yakın alanda toplam yüzeyin sadece %1' ini kaplarken, pulpa yakınındaki yüzeyin %22' sini kaplar. Bu aynı zamanda dişin dış yüzeyine yakın tabakada dentindeki en düşük su konsantrasyonu (%1) görülürken, derin dentinde en yüksek su konsantrasyonu (%22) görüldüğü anlamına gelmektedir (Manuja, Nagpal, Pandit, 2012). Bu bağlamda, pulpaya yaklaştıkça tübüllerdeki sıvı ve dentindeki nemliliğin artması nedeniyle adezivin dentinle temas kurabilmesi için hidrofilik olması gereklidir. Dentinin inorganik kısmını oluşturan hidroksiapatit kristallerinin kalsiyum oranının daha düşük, karbonat oranının daha yüksek olması çözünürlüğü yükseltmektedir. Bu durum da dentini flor gibi iyonların değişimine açık hale getirmektedir (Foreman ve Soames, 1998).

Nemli bir doku olmasının dışında dentine adezyonda rol oynayan etkenler smear tabakası, dentin içeriği (dentin tübüllerinin yoğunluğu, çapı, peritübüler ve intertübüler dentin oranı), dentin yapısı ve kalınlığına bağlı olarak dentinin değişen geçirgenliği (demineralize ya da sklerotik dentin), ve yaşıdır. Hasta yaşı ile sklerotik dentin miktarında paralel bir artış görülmektedir (Kaya, 2014).

Dental adezivler ile ilgili yapılan çalışmalar ile birlikte gelecekte dentinin kimyasal değişkenlik potansiyelinin kullanılması ile kimyasal bağlanmanın yanı sıra mikromekanik bağlanmanın da geliştirilmesi beklenmektedir. Dolayısı ile dentindeki adezyon güçlüklerinin üstesinden gelinebileceği ön görülmektedir (Lin, McIntyre ve Davidson, 1992).

Smear Tabaka

Frez ya da başka dental aletler ile prepare edilen diş sert dokularında, diş yüzeyinde kalan inorganik ve organik bileşenler yüzeyde “smear tabakası” olarak adlandırılan bir debris oluşturur. Yapısında inorganik dentin parçacıkları, hidroksiapatit kristalleri denatüre

kollajen parçacıkları, odontoblast uzantıları, bakteriler, kan hücreleri ve tükürük bulunmaktadır (Van Landuyt, De Munck, Coutinho, Peumans, Lambrechts, Van Meerbeek, 2005). Bu debris dentin kanallarının ağzında toplandığında “smear” tıkaçları olarak adlandırılan yapıları oluşturur. Smear tabakası ve tıkaçları dentin için doğal bir bariyer görevi görürlerken aynı zamanda dentinal sıvının hareketini %80-90 oranında, diffüzyonunu ise %25-30 oranında azaltmaktadır (Mjör, 2001).

Smear tabaka asit uygulaması ile kolaylıkla uzaklaştırılabilirken mekanik olarak herhangi bir alet ile smear tabaka kaldırılamamaktadır. Smear tabakası ve tıkaçlarının asidik solüsyonlar ile uzaklaştırılması, açığa çıkan dentin yüzeyine sıvı akışını artırarak dentine bağlanmayı olumsuz yönde etkilemektedir (Roberson ve diğerleri, 2006).

Preparasyon esnasında kullanılan cihaz tipi, kuru ya da ıslak çalışılması ve uzaklaştırılan dentin dokusunun kalınlığı gibi faktörler oluşan smear tabakasının içeriğini, kalınlığını ve morfolojik özelliklerini etkiler (Perdigão, 2007). Dentin tübüllerinin içerisindeki sıvı hareketlerini ve dentin geçirgenliğini önemli derecede azaltan smear tabakası dentine çok zayıf bağlanmakla birlikte (5 MPa) günümüz adezyon stratejilerinde bu bağlanmanın bir anlamı yoktur. Günümüz dentin adeziv sistemleri smear tabakanın kaldırılması ya da modifiye edilmesi temeline dayanmaktadır (Dayangaç, 2011).

Hibrid Tabaka

Günümüz adeziv materyallerin temel bağlanma mekanizması hibrid tabakanın oluşumuna dayanmaktadır. Hibrid tabaka ilk kez Nakabayashi (1992) tarafından, demineralize dentin kanallarına ve yüzeyine monomerlerin infiltrasyonu ve takiben polimerizasyonu olarak tanımlanmıştır. Diş sert dokularında oluşan mikromekanik bağlanma tabakasına, rezin ile güçlendirilmiş bölge ya da hibrid tabakası ismi verilmektedir (Dönmez ve Özer, 2007).

Asit uygulaması ardından demineralize edilmiş dentinin geçirgenliğini koruması, hibrid tabakası oluşumunda en önemli faktördür (Kaya, 2014).

Hibrid tabakayla ilgili yapılan çalışmalar sonucunda birçok adeziv sistem ile elde edilen hibrid tabaka kalınlığının 1-5 mikrometre arasında farklılık gösterdiği bildirilmektedir. Bu tabakanın kalınlığını etkileyen bir başka etken de dentine asit uygulaması sonrasında

dentinde oluşan demineralizasyonun derinliğidir. Oluşan demineralizasyon miktarı dentinin kimyasal içeriği, mineral yoğunluğu ve morfolojik özellikleri ile de değişebilmektedir. Aynı zamanda yapılan bir çalışmada dentine bağlantı kuvveti ve hibrid tabakasının kalınlığı arasında bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (Kaya, 2014).

Hibrid Tabakanın İmmünohistokimyasal Analizi

Dentin organik matriksi, sağlam dentin dokusunun hacminin yaklaşık %45'ini temsil ettiğinden (yaklaşık %20'si su, geri kalanı apatit gibi minerallerdir), üç boyutlu düzenlemesinin ve kollajen fibrillerin adeziv monomerlerle nasıl etkileşime girdiğinin anlaşılması bağlanma mekanizmalarını netleştirmek için çok önemlidir. Dentin matriksinin ana bileşenleri, diş oluşumu sırasında odontoblastlar tarafından üretilen tip I kollajen fibrilleri ve proteoglikanlardır (Breschi, Mazzoni, Ruggeri, Cadenaro, Di Lenarda ve De Stefano Dorigo, 2008). Dentin organik matriksinin yapısında ayrıca dentin sialoproteinleri, fosfoforenler, kemik morfojenik proteinleri ve insülin benzeri büyüme faktörleri 1 ve 2 gibi diğer kollajen olmayan proteinler yer almaktadır. Dentin organik matriksi, birçok çalışma tarafından transmisyon elektron mikroskopisi, alan emisyonu taramalı elektron mikroskopisi ve atomik kuvvet mikroskopisi kullanarak araştırılmıştır. Bu teknikler, dentinogenez sırasında mineralin daha fazla çöktüğünü ve dentin dokusunun iskelesini oluşturan karmaşık bir fibril ve globüler yapı ağı ortaya koymuştur (Van Meerbeek, Vargas, Inque, Yoshida, Perdigao ve Lambrechts, 2000). Tip I kollajen fibrilleri, dentin organik fibril ağının omurgasını temsil eder. Doğal kollajen fibril grubunun, kollajen olmayan proteinlerin küçük dallı fibrilleriyle (çap 20-40 nm) sırasıyla bağlanan karmaşık bir fibril ağı (yaklaşık 70-90 nm çapında) oluşturduğu gösterilmiştir. Geçirimli elektron mikroskobu (Transmission electron microscopy-TEM) veya taramalı elektron mikroskobu (Scanning electron microscopy-SEM) altında olgun demineralize tip I kollajen fibrilleri gözlendiğinde 64 nm'lik tipik bantlamayı göstermektedir (Breschi, Gobbi, Mazzotti, Ellis, Sacher ve Stangel, 1999). Dentin proteoglikanlarının kollajen fibriller düzenini stabilize etmede temel bir rolü olduğu, proteoglikanlar ve fosfoproteinlerin dentin matriksindeki kollajenöz olmayan proteinlerin ana bileşenini temsil ettiği iddia edilmektedir (Goldberg ve Takagi, 1993). Proteoglikanların; boşluğu doldurma, negatif yüklü molekülleri itme, su moleküllerini bağlama ve düzenleme yeteneklerinden dolayı dentin organik matrisinin üç boyutlu görünümünden sorumlu olacağı düşünülmektedir (Oyarzun, Rathkamp ve Dreyer, 2000). Bu tür proteoglikanlar, hibrid tabaka oluşumu sırasında meydana gelen su ikamesini düzenleyerek hibrid tabakadaki

kollajenin su afinitesini belirleyebilir. Kurutulmuş dentin yapısında bulunan proteoglikanların, *etch&rinse* adeziv sistemlerinin uygulanması halinde hibrid tabakada tutulan su miktarını azaltarak bağlanma mukavemetlerini arttırdığı düşünülmektedir (Embery, Hall, Waddington, Septier ve Goldberg, 2001, Breschi ve diğerleri, 2008).

Etch&rinse adeziv sistemleri doğrudan demineralize dentin kollajen ve proteoglikanlara uygulandığından, aşındırma sırasında ve sonrasında bu yapıların yapısal bütünlüğünün korunması hibrid tabakanın nihai stabilitesini büyük ölçüde etkilemektedir. İmmunohistokimyasal boyama tekniği; temel araştırmalarda kullanılan, çoğalma ya da hücre ölümünün spesifik moleküler işaretçileri aracılığı ile bir hücre ya da dokuda özel bir antijeni (proteini) ve bu proteinlerin farklı biyolojik doku bölgelerinde yaygın dağılım ve lokalizasyonu anlamak için kullanılan arama tekniğidir. İmmunohistokimyasal boyama tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada 15 saniye fosforik asit uygulamasının, kollajen fibrilleri nasıl etkilediği araştırılmıştır. Bu teknik ile pozitif boyanan (etiketlenen) dentin matriksindeki kollajen ve proteoglikanların biyokimyasal olarak korunduğu gösterilmektedir. Çalışma sonucunda, dentine 15 sn fosforik asit uygulamasının büyük yapısal hasara neden olmadan kollajen ve proteoglikanları ortaya çıkardığını, yani kollajen fibril bütünlüklerinin makul derecede korunduğu bulgulanmaktadır. Dentin üzerindeki fosforik asidin daha uzun süre ile uygulanması ise, daha fazla demineralize kollajen fibril ile sonuçlanarak, immünohistokimyasal boyama tekniğinde daha düşük etiketleme indeksi ile gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında, %35 fosforik asitin, 15 saniyeden fazla süre zarfında kollajen ile temas halinde kalması halinde ortaya çıkan yapısal modifikasyonların asit kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Breschi, Lopes, Gobbi, Mazzotti ve Perdigao, 2001). Yapısal olarak değiştirilmiş kollajen veya proteoglikanların hibrid tabakalara dahil edilmesi, hibrid tabakanın oluşmadan önce bile bozulmasının erken bir aşamasını temsil edebilir. Çünkü adezivin doyurulması için bu moleküller daha önce dengesizleştirilir. Sadece nanosızıntı olma ihtimalinin arttıran bozunmuş hibrid tabakayı rezine doyuramama olasılığından kaçınmak için değil, aynı zamanda dentin matriksinin yapısal bütünlüğünü korumak için fazla asitleme işleminden kaçınılmalıdır (Tay, Pashley ve Yoshiyama, 2002).

Etch&rinse ve *self-etch* adezivler arasında immüno-etiketleme açısından farklılıklar bulunmuştur. *Etch&rinse* sistemleri tarafından oluşturulan hibrid tabakanın yüzeysel kısmında az etiketleme gösterilmiş, bu da adezivin kollajen fibrilleri kapladığını ve antikör bağlanmasını önlediğini göstermiştir. Aksine, hibrid tabakanın en derin kısmında yoğun bir

kollajen fibril etiketlemesi görülmüştür, bu da bazı kollajen fibrillerin rezin ile kaplanmadığını gösterir. Bu bulgular, *Etch&rinse* sistemlerinde, adezivin demineralize dentin matrisine nüfuz etme derecesine bağlı olarak farklı derecelerde rezin-kollajen fibril etkileşimlerinin meydana gelebileceği hipotezini desteklemektedir. Buna karşılık, iki aşamalı *self-etch* adeziv sistemi tarafından oluşturulan hibrid tabakada, tip I kollajen için yapılan boyama sonucunda bir etiketleme ortaya çıkmadığı, sadece rezin ile hibrid tabanın birleşim hattında zayıf, tekdüze küçük bir etiketleme gösterdiği bulgulanmıştır (Breschi, Prati, Gobbi, Pashley, Mazzotti ve Teti, 2004). İlginç bir şekilde, hibrid tabakaların immüno-etiketlenmesi, aynı adeziv sistemlerin nanosızıntı çalışmaları ile iyi bir korelasyona sahiptir. Gümüş nitrat ile boyama yapılarak yapılan nanosızıntı çalışmaları rezin monomerlerinin (*etch&rinse* adeziv sistemleri için) eksik infiltrasyon alanlarını veya faz ayırma alanlarını (*self-etch* adeziv sistemleri için) ortaya çıkarırken, "immüno-sızıntı" olarak tanımlanabilen immüno etiketleme, monomerler tarafından kapsüllenmemiş ve bu nedenle büyük moleküler ağırlıklı (yani 30-40 kDa) antikorların bağlanması için mevcut olan kollajen fibrilleri de ortaya çıkartmaktadır. Bu aşamaları basitleştirilmiş adeziv sistemlerin (*etch&rinse* ya da *self-etch* sistemler) su ve küçük moleküller için geçirgen bir yapı oluşturmaları nedeni ile korunmasız kollajen fibriller enzim ile bozunmaya daha duyarlı hale gelmektedir (Suppa, Breschi, Ruggeri, Mazzotti, Prati ve Chersoni, 2005).

Hibrid Tabakanın Yaşlanması

Bağlanma arayüzünün stabilitesi, kompakt ve homojen bir hibrid katmanın oluşturulmasına dayanır. *Etch&rinse* stratejisinde, substratı demineralize etmek için asitlemeden sonra, adeziv monomerler, asitlenmiş poröz substrata uygulanır. Böylece, monomerler asitlenmiş substrata tamamen infiltre edilip, adezyon yüzeyi boyunca farklı derecelerde veya eksik infiltrasyon önlenerek kararlı bağlar elde edilebilir. Diğer taraftan, *self-etch* yaklaşımı ile aynı anda dentin demineralizasyonu ve infiltrasyon yapan asidik adeziv ko-monomerleri kullandığından, adeziv stabilitesi, ko-monomerlerin infiltre edilmiş substrat ile etkili bir şekilde birleştirilmesiyle ilgilidir. Son bulgular ayrıca bazı iki aşamalı *self-etch* sistemlerinin (hafif *self-etch* sistemler, $\text{pH} \geq 2$) fonksiyonel monomerlerinin belirli karboksil veya fosfat grupları ile asidik fazın hafif agresifliğine bağlı olarak dentin kollajen iskelesi üzerinde halen bulunan artık hidroksiapatit kristalleri arasında kimyasal bağlar kurabildiğini ortaya koymuştur. Adeziv monomerlerin dekalsifiye edilmiş substrata üstün infiltrasyonu ile

sinerjik olarak hareket eden bu ilave etkileşimin zaman içinde bağ stabilitesini arttırdığı iddia edilmektedir (Breschi ve diğerleri, 2008).

Hibrid tabakanın klinik ömrünün hem fiziksel hem de kimyasal faktörleri içerdiği görülmektedir. Oklüzal çiğneme kuvvetleri ve ağız boşluğu içindeki sıcaklık değişimlerinden kaynaklanan tekrarlayan genişleme ve büzülme gerilimleri gibi fiziksel faktörlerin arayüz stabilitesini etkilediği varsayılmaktadır. Dentinal sıvı, tükürük, yiyecek ve içecek ve bakteri ürünlerindeki asidik kimyasal maddeler diş / biyomalzeme arayüzünde daha fazla değişime neden olur ve bu da korunmasız kollajen fibrillerin bozulmasına, rezin monomerlerinin çözünmesine (optimal olmayan polimerizasyon nedeniyle) ve rezin bileşenlerinin bozulmasına neden olur (Jaffer, Finer ve Santerre, 2002).

Hibrid tabaka, dentin organik matriksi, artık hidroksiapatit kristalitleri, rezin monomerleri ve solventlerin bir karışımı şeklinde oluşturulduğundan, yaşlanma, ayrı ayrı bileşenlerin her birini etkileyebilir veya hibrid katman içinde meydana gelen bozunma olaylarının sinerjistik kombinasyonlarına bağlı olabilir (Breschi ve diğerleri, 2008).

Rezinin Degradasyonu

Bağlanma stratejisine bağlı olmaksızın, demineralize kollajen fibrillerin adeziv ile tamamen örtülmemesi sonucunda oluşan nano boşluklar veya ilerleyen zaman içerisinde ortaya çıkan ve aktif hale gelen intrinsik enzimler yolu ile rezin-dentin arayüzü degradasyona (bozunma) uğramaktadır. Üç aşamalı *etch&rinse* adeziv sisteminin (Scotchbond Çok Amaçlı, 3M / ESPE, St Paul, MN, ABD) 1 yıl boyunca su içinde saklandıktan sonra, hibrid tabaka içindeki kollajen fibrilleri ve interfibriler boşluklardan rezinin hidrolizi sonucunda rezin-dentin bağının kuvvetinin zayıfladığı bildirilmektedir (Hashimoto, Ohno, Sano, Kaga ve Oguchi, 2003). Hidroliz, ester bağlarına su ilavesiyle polimerler arasındaki kovalent bağları kıran kimyasal bir işlemdir ve rezinin kaybıyla sonuçlanır. Bu kayıp, hibrid tabaka içindeki rezin bozunmasının ana nedenlerinden biri olarak kabul edilir. Bu durum dentin adezivlerinin zamanla yarattığı bağ kuvvetlerindeki azalmaya katkıda bulunur (Tay ve Pashley, 2003). Rezin degradasyonları hibrid tabaka içindeki su absorpsiyonu ile ilgili olduğundan, yeni nesil işlem basamakları azaltılmış adeziv sistemlerin bu özelliklerinin derecesi incelenmiştir. Yapılan iki çalışmada *self-etch* adeziv sistemler için, hidrofobik rezin ile düşük ve kullanılan hidrofilik asidik rezin sistemleri ile yüksek su absorpsiyonu bildirilmiştir. Su emilimi, rezin

hidrolizinden bağımsız olarak bağ kuvvetindeki azalmaya katkıda bulunduğu düşünülen rezinlerin esneklik modülünde önemli bir azalmaya neden olmuştur (Ito, Hashimoto, Wadgaonkar, Svizero, Carvalho ve Yiu, 2005). Aslında hidrolitik degradasyon sadece su varlığında meydana geldiğinden, adezivin hidrofilikliği ile su absorpsiyonu ve bunu takiben hidrolitik degradasyon genellikle ilişkilidir. Başka bir deyişle, *etch&rinse* veya *self-etch* stratejisine bakılmaksızın, hidrofilik ve iyonik rezin monomerlerinin bonding içerisinde birleştirildiği basitleştirilmiş adezivlerde (yani iki aşamalı *etch&rinse* ve tek aşamalı *self-etch* sistemleri) olduğu gibi, bağlanma arayüzünde çözünmemiş hidrofobik rezin kaplaması yoktur. Bu adeziv polimerize olduktan sonra bile adezyon arayüzü boyunca su hareketlerine izin veren yarı geçirgen zarlar gibi davranan hibrid tabakaların oluşturulmasına yol açar (Tay, Pashley, Suh, Carvalho ve Itthagarun, 2002). Bu geçişi, adezyon arayüzlerinin geçirgenliği incelenerek ve amonyak gümüş nitrat gibi elektron mikroskopisi ile saptanabilen bir izleyici kullanılarak ortaya çıkarılmıştır. Bu izleyici, bağlanmış arayüz boyunca, hibrid tabakanın yüzeyinde “su ağaçları” olarak adlandırılan ve tam geçirgenlik hipotezini destekleyen karakteristik su kanallarına diffüze olur (Tay ve Pashley, 2003). İzleyici (gümüş) önce boşlukları, gözenekleri (özellikle *etch&rinse* sistemleri için) ve su dolu bölgeleri ve / veya hidrofilik polimer alanlarını (özellikle *self-etch* sistemleri için), hibrid katmanlar içindeki boşlukların görüntülenmesi amacıyla kullanılmış ve gümüşün görüntülenmesi nanosızıntı olarak adlandırılmıştır. *Etch&rinse* adeziv sistemlerinde, dentin demineralizasyonu ile rezin-dentin arayüzü boyunca adezivin nüfuz etmesindeki tutarsızlık nedeniyle nano sızıntı oluşur (Tay, King, Chan ve Pashley, 2002). Basitleştirilmiş (iki aşamalı) *etch&rinse* adezivleri, üç aşamalı adeziv sistemlere kıyasla daha yüksek oranda hidrofilik monomer içerdiğinden, polimerizasyondan sonra yüksek derecede geçirgenlik sergiledilmektedirler. Böylece bu sistemin, gümüş alımını kolaylaştırdığı ve nanosızıntıyı arttırdığı bulunmuştur (Tay ve Pashley, 2002). Tay ve diğerleri (2003), rezin bağlı örneklerin yapay tükürükte yaşlandırılmasından sonra su emilimi ile başlayan bir dizi olay ile birlikte, izole edilmiş gümüş taneciklerinden adeziv rezin matrislerindeki su ağaçlarına ilk nanosızıntıyı tarif etmişlerdir. Su hareketleri difüzyon tipi bir mekanizma olarak başlar, daha sonra ulaşım yolları nispeten büyük su dolu kanallar oluşturduğundan daha hızlı olmaktadır (Tay, Hashimoto, Pashley, Peters, Lai, Yiu, 2003). Adeziv tabaka içindeki benzer su hareketleri, yüksek konsantrasyonda çözünmüş inorganik iyonlar ve hidrofilik rezin monomerlerinden dolayı ozmotik basınç gradyanları ile tahrik edilebilir ve bu da adeziv tabaka üzerinde su kabarcığı oluşmasına neden olur. Dental adezivlerin polimerizasyon derecesi ve geçirgenliği ile ilişkili olan bir çalışmada, adeziv sistem ve uygulanması için

gerekli adım sayısına bakılmaksızın, tüm sistemlerin sıvı hareketine geçirgenlikleri ile ilişkili değişken derecelerde eksik polimerizasyon sergilediğini ortaya koymuştur. İlginç bir şekilde eksik polimerizasyonlar ve adeziv geçirgenliği, muhtemelen daha yüksek konsantrasyonlarda hidrofilik monomerlerin varlığı nedeniyle, ya iki aşamalı *etch&rinse* ya da tek aşamalı *self-etch* gibi basitleştirilmiş adeziv sistemlerde daha yaygındır (Chersoni, Suppa, Breschi, Ferrari, Tay ve Pashley, 2004).

Kısmen polimerize olmuş adezivler, sıvı hareketine daha geçirgen olduklarından su emilimini hızlandırabilir ve adeziv kompozit bağının uzun vadeli bütünlüğünü tehlikeye atabilmektedirler. Aynı zamanda, hidrofobik dentin bağlanma sistemleri, daha yüksek polimerizasyon boyutları göstermiş ve buna bağlı olarak suya daha az geçirgenlik gösterdiği bildirilmiştir (Cadenaro, Antonioli, Sauro, Tay, Di Lenarda ve Prati, 2005).

Ekspoze Kollajen Fibrillerin Bozunması

Rezin ve kollajenin birlikte bozunması, bağlanmış arayüzün su içeriğini artırabilmekte ve bağın uzun ömürlülüğü üzerinde daha fazla zararlı etkiye yol açabilmektedir. Hibrid tabaka içinde, interfibriler boşluklardan rezin kaybı ve kollajen fibrillerin düzensizliği olmak üzere iki degradasyon paterni gözlenebilmektedir. Resin ve/veya kollajenin hidrolizinden kaynaklanabilen bu bozunma, resin-dentin bağlanma bölgesinin fiziksel özelliklerini zayıflatır (Hashimoto ve diğerleri, 2003). Birçok çalışma resin bozunumunun morfolojik kanıtlarını ve/veya uzun süreli saklama sonrasında kollajen matrislerin hidrolitik degradasyonunu göstermektedir. Özellikle hem *in vitro* hem de *in vivo* testlerde saptanabilen hibrid tabaka içindeki kollajen fibrillerin bozunması, bu tabaka içinde bu durumda olan birçok kollajen fibril bulunduğunu düşündürmektedir. Adezyon prosedürlerinin nihai amacı tam infiltrasyondur ve kollajen fibrillerinin adeziv resin ile kapsüllenmesi, onları bozunmaya karşı korumak için önerilmektedir (Hashimoto, Ohno, Kaga, Endo, Sano ve Oguchi, 2000). Kollajen fibrillerin sarılma derecesinin, bağlanma ajanlarının tipine, yani bir *etch&rinse* veya *self-etch* yaklaşımına bağlı olarak farklı olduğu bilinmektedir. *Etch&rinse* adezivleri için, asitleme derinliği ile resin infiltrasyonu arasındaki uyumsuzluk hibrid tabakanın tabanı boyunca demineralize dentin bölgesinde asitlenmiş dentin içinde ekspoz olmuş kollajen fibrilleri içeren eksik infiltre bölgeler oluşmasına neden olur. Bu durumun Bisfenol-A Glisidil Metakrilat (BisGMA) 'nın suda çözünürlüğünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Su yerine etanol konularak, Bis-GMA / Trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA)

karışımlarının dentine daha iyi infiltre olduğu ve yüksek bağlanma mukavemetleri ürettiği gösterilmiştir. Böylece, “etanol-nemli bağlanma”, dentine bağlanma için az su emen hidrofobik rezinlerin kullanılmasına izin verir (Nishitani, Yoshiyama, Donnelly, Agee, Sword ve Tay, 2006, Brechi ve diğerleri, 2008).

Mineralize Dentine İç Kaynaklı Kollajenolitik Aktivitesi

Dentin yüzeyinde, rezin-dentin bağlanmasının sonucunda genellikle eksik hibridizasyon görülmekte, bunun sonucunda kollajen fibrilleri korunmasız ve hidrolitik bozulmaya karşı savunmasız halde kalmaktadır. Ayrıca adeziv kaynaklı artık çözücü kimyasalın yeterince uzaklaştırılmaması durumunda yüzeyde kalan su gibi diğer bozunmaya neden olan faktörlere karşı da dentin oldukça hassas hale gelmektedir. Son çalışmalar, dentin çürüklerinin ve periodontal hastalığın patogeneğinde konakçı kaynaklı proteinazların kollajen matriksinin parçalanmasına katkısını, dentine bağlanmada potansiyel olarak ilgili çıkarımlarla ortaya koymuştur (Breschi ve diğerleri, 2008). Ferrari ve Tay (2003), rezin-dentin arayüzleri boyunca boşluklar olmadığında dahi nanosızıntı meydana gelebileceğini *in vivo* olarak göstermiştir. Optimum olarak rezin ile infiltre edilmiş dentinal bölgelerde, bakteriyel enzimler mevcut olmasa da görünen bozunmanın dentin matriksi içinde konaktan türetilmiş proteinazlar tarafından oluşurabileceğini düşündürmektedir. Pashley ve diğerleri (2004) asitle aşınmış dentin matrikslerinin bakteri yokluğunda dentin türevi proteolitik enzimler tarafından zaman içinde yavaşça bozunduğunu söylemektedirler. Yaptıkları çalışmada, insan dentininden elde edilen kısmen demineralize kollajen matriksleri yapay tükürükte saklanırken, kontrol örnekleri proteolitik enzim inhibitörleri veya puremineral yağının eklenmesiyle yapay tükürükte saklanmıştır. Demineralize kollajen matrisleri 250 günlük yapay tükürükte saklanan deney numunelerinde neredeyse tamamen yok edildi. Ancak enzim inhibitörleri veya mineral yağı eklenen yapay tükürükte inkübe edildiğinde, kontrol depolama ortamındaki yaşlandırılmış dentin ile asitlenmiş dentin karşılaştırıldığında kollajen ağının kalınlığı ve durumunda önemli bir fark görülmektedir (Suppa ve diğerleri, 2005). Deney aseptik koşullar altında yürütüldüğü göz önüne alındığında bakteriyel kontaminasyon yokluğuna rağmen kollajen bozunması meydana gelmiştir. Yani bakteriyel kollajenolitik aktivite, *in vivo* koşullar altında sıklıkla savunulduğu gibi dentin kollajen yıkımından sorumlu değildir. Pashley ve diğerleri, sığır derisinden elde ettikleri fluorescein etiketli (izleyici olarak) tip I kollajen kullanarak mineralize dentin tozunun kollajenolitik aktivitesini analiz etmiştir. İnsanda mineralize dentinde, spesifik proteaz inhibitörleri

tarafından inhibe edilebilen intrinsik bir kollajenolitik aktivite görülmüştür. Benzer şekilde, fosforik asit uygulamasından sonra tam olmayan inhibisyon bulunurken, düşük konsantrasyonda klorheksidin ile tamamen inhibisyon elde edilmiştir. Bu çalışma ile konakçı kaynaklı enzimlerin ilk kez insan dentin kollajen degradasyonunun sadece bakteri tarafından üretilen kollajenazların aktivitesi nedeniyle değil, zaman içinde salınan ve aktive edilen konakçı kaynaklı “Matriks Metalloproteinazlar” (MMP) olarak tanımlanan enzimler yoluyla meydana geldiği hipotezi desteklenmektedir (Pashley, Tay, Yiu, Hashimoto, Breschi ve Carvalho, 2004).

Zimografi, MMP’lerin incelenmesinde kullanılan bir tekniktir. Bu teknik, bir jel içine ilgili MMP enziminin substratı eklenerek örnek içindeki enzimin bu substratı tüketmesi esasına dayanır. Bu teknik sayesinde dokuda bulunan bir proteinin varlığı, büyüklüğü, konsantrasyonu, konsantrasyon değişimleri, farklı gruplar arasındaki konsantrasyonlarının karşılaştırılması gibi birçok durum araştırılabilmektedir. İnsan dentininde matris metaloproteinazların (MMP’ler) varlığı, kısmen demineralize dentin kollajen matrikslerinde kollajenolitik / jelatinolitik aktivitelerin dolaylı kanıtlarıdır. Jelatin zimografi ve Western blotlama teknikleri ile demineralize olgun dentin içinde MMP-2 ve MMP-9 varlığı gösterilmiştir. MMP’ler çinkoya ve kalsiyuma bağımlı endopeptidazların bir sınıfıdır ve diş gelişimi sırasında mineralize dentin matriksi içinde hapsolmuşlardır. Yapılan *in vitro* çalışmalar sonucunda, bu endojen enzimlerin dentin adezyon prosedürleri sırasında salınmasının ve sonrasında aktivasyonunun dentinde tam olarak infiltre edilmiş hibrid tabakanın yaşlanması, incelenmesi ve kaybolmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir (Brackett, Ito, Tay, Haisch ve Pashley, 2005). Hibrid tabakada meydana gelen bu kollajen yıkımı *in vivo* çalışmalarda da doğrulanmıştır.

İyi bilinen bir antibakteriyel olan klorheksidin uygulaması aynı zamanda da MMP inhibe edici özelliklere sahip bir ajandır. İnsan primer dentinine *etch&rinse* adeziv prosedürünün uygulanmasından sonra klorheksidin uygulandığında, *in vivo* olarak hibrid katmanlar içinde kollajen bütünlüğünün korunmasına neden olmuştur. Bu özellik, MMP’lerin kollajen yıkım sürecine dolaylı katılımını teyit etmektedir. Ancak, *etch&rinse* tekniğinde kullanılan farklı prosedürler ile dentin hibrid tabakanın bozunması arasında kesin bir neden-sonuç ilişkisi henüz oluşturulmamıştır. Bu durumun, fosforik asit demineralizasyonunun dentin içinde hapsolmuş MMP’leri aktive etmiş olabileceği ve böylelikle hibridize dentin içinde tanımlanan kollajenolitik ve jelatinolitik aktivitelere yol açtığı düşünülmektedir. Bununla

birlikte immünohistokimyasal analiz kullanılarak yapılan bir analizde, mineralize dentine 15 saniye boyunca %37 fosforik asit jeli uygulanmasının mineralize dentinin doğal kollajenolitik aktivitesini azalttığı bulunmuştur. MMP'leri kısmen denatüre eden düşük asit seviyesi (pH 0.7), dentin hibrid tabakasının zamanla nasıl bozunabileceği konusunda karışıklık yaratmaktadır. Yapılan bir çalışmada, dentin kaynaklı proteolitik aktivitelerin fosforik asit ile *etch&rinse* sisteminin kullanılmasında, ardışık uygulamalarından önce ve sonra incelendiği bir modelleme yaklaşımı kullanarak adezivlerin dentin proteolitik aktiviteleri üzerindeki potansiyel rolleri araştırılmıştır. Çalışmanın sınırları dahilinde, basitleştirilmiş *etch&rinse* adezivlerin yeni endojen enzimleri aktive edebileceği sonucuna varılmıştır (Mazzoni, Pashley, Nishitani, Breschi, Tjaderhane ve Toledano, 2006).

Estetik restoratif materyallerin vazgeçilmezlerinden olan adeziv sistemlerin yapısal özellikleri ve klinik uygulamalarının çok iyi bilinmesi restorasyonların başarısı için şarttır. Günümüz *etch&rinse* ve *self-etch* sistemler karşılaştırıldığında üç basamaklı etanol-su esaslı *etch&rinse* sistemler adezyonun dayanıklılığı bakımından hala “altın standart” olarak değerlendirilmektedir. Aynı zamanda iki basamaklı *self-etch* adezivler ve *self-etch* sistemlerde minenin seçici olarak asitlendiği “multimod sistemler” bu standarta en yakın olanlardır.

Adeziv sistemlerin dezavantajlarını azaltabilmek adına sürekli iyileştirmelerin yapılması için araştırmalar devam etmektedir. Bu bağlamda hibrid tabakaya yönelik çalışmalar bulunmaktadır.

2.3. Adezyon Kapsamında Hibrid Tabakaya Yönelik Çalışmalar

2.3.1. Matriks Metalloproteinazlar

Dentin'de Matriks Metalloproteinaz Enzimlerinin Varlığının Kanıtı

Dentin, hücre dışı bir matrikse (*Extracellular matrix*, ECM) gömülü inorganik apatit kristalitlerinden oluşan kollajen bazlı mineralize bir dokudur. Tip I kollajen, dentin ECM bölmesinin ana bileşenidir ve organik materyalin %90'ını temsil eder (Linde 1984). Ek olarak, kollajenik olmayan proteinler olarak adlandırılan birkaç protein, matriksin yaklaşık %10' unu oluşturmaktadır. Kollajenöz olmayan dentin proteinleri arasında proteoglikanlar,

fosfolipidler ve enzimler bulunur. Dentin enzimleri arasında, matriks metaloproteinazlar (MMP'ler) son zamanlarda dentindeki çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde olası rolleri nedeniyle çok dikkat çekmektedir (Mazzoni, Tjäderhane, Checchi, Di Lenarda, Salo, Tay, Pashley ve Breschi, 2015).

MMP'ler, neredeyse tüm ECM bileşenlerini parçalayabilen, endojen Zn^{+2} ve Ca^{+2} bağımlı enzimlerdir. İnsanlarda MMP ailesinin, substrat spesifisitesi ve homolojisine (protein ve DNA dizilimi) göre 6 grupta sınıflandırılan 23 üyesi vardır. MMP'ler bir alt alandan, bir katalitik alandan ve ayrıca alt tabaka özgüllüğü, tanıma ve etkileşim gibi faktörleri yöneten diğer alanlardan oluşur (Visse ve Nagase 2003). Genellikle inaktif zimojenler olarak ifade edilirler ve etki alanı, aktivasyonu için katalitik olandan ayrılmalıdır. Etkinleştirilmemiş MMP'lerde, alandaki eşleşmemiş sistein, katalitik çinko ("sistein anahtarı" mekanizması) ile bir köprü oluşturarak, enzimatik aktiviteyi önler ve su molekülleri hariç olmak üzere aktif bölgedeki katalitik çinko atomu için bir bağlayıcı ajan görevi görerek enzimi etkisiz hale getirir (Tjäderhane ve diğerleri, 2013a). Ayrıca, MMP'lerin doku inhibitörleri (*Tissue inhibitor of metalloproteinases* -TIMP'ler), MMP'lerin ana inhibitörlerini temsil eden dokulardaki MMP aktivitelerinin lokal kontrolünde yer alır. Dört üyeden oluşan TIMP ailesi (TIMP1-4); MMP aktivitelerinin inhibe edilmesi ve ECM yıkımının kısıtlanmasını sağlamaktadırlar (Mazzoni ve diğerleri, 2015).

Dentinde kollajenolitik aktivitenin ilk kanıtı 1980'lerin başında hem çürük hem de sağlam dentinde bildirilmiştir (Dayan ve diğerleri, 1983). Daha sonra, MMP'lerin kollajenolitik aktiviteden sorumlu olduğu tespit edilmiş ve bugüne kadar MMP-2 ve -9 jelatinazlarının varlığı, kollajenaz MMP-8, stromelisin MMP-3 ve MMP-20 bildirilmiştir (Mazzoni, Papa Nato, Carrilho, Tjäderhane, Ruggeri, Gobbi, Mazzotti, Tay, Pashley, 2011).

Dentin, farklı dentin formları üretmek için fizyolojik yaşlanma ve hastalık süreçleri ile modifikasyona uğramaktadır. Bu süreç, dentinin biyomekaniğini ve biyokimyasını etkilemektedir. MMP'lerin dentin içindeki fizyolojik rolleri iyi anlaşılmassa da peritübüler ve üçüncül dentin oluşumuna ve dentinal büyüme faktörlerinin salınmasına katıldıkları bildirilmektedir. Kemikten farklı olarak, mineralize dentin önemli bir yeniden yapılanmaya girmez; bununla birlikte, dentinal tübüllerin içindeki pre-dentin ve mineralize olmayan dentin fonksiyonel taleplere yanıt olarak modifiye edilmiş gibi görünmektedir. Dentinin mekanik özellikleri (eğilme mukavemeti ve yorgunluğa direnci) yaşla birlikte önemli ölçüde azalır ve

tübüller arası kollajen matriksindeki değişikliklerin bu yapısal tepkilere katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür. Dentinal MMP'ler, fizyolojik ve patolojik süreçlerin neden olduğu mineralize dentin yapısını ve mekanik özelliklerini yavaşça değiştirmek için birlikte hareket edebilir (Mazzoni ve diğerleri, 2015).

Daha yakın zamanlarda, bir başka önemli proteaz ailesinin, sistein katepsinlerinin dentinde bulunduğu bildirilmiştir (Tjäderhane ve diğerleri, 2013a). MMP'lere benzer şekilde, katepsinler ECM yıkımının fizyolojik ve patolojik süreçlerine de katılırlar. Ağız boşluğu içinde katepsinler; adeziv restorasyonların başarısızlığı ve çürük sürecinin zamanla ilerlemesi ile de ilişkilendirilmiştir (Breschi ve diğerleri, 2008; Tjäderhane ve diğerleri, 2013a).

Diş Çürüğünün İlerlemesinde Matriks Metalloproteinazların Rolü

Diş çürüğü dişin sert dokularında yıkıma neden olan, kronik, bulaşıcı ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Çürüğün mine dokusunu aştıktan sonra dentin içine ilerlemesi, dentin-mine birleşimi boyunca bakteriyel invazyon gerektirmektedir. İlk lezyon “manto dentin” yıkımı ile tarif edilmiştir (Chaussain-Miller, Fioretti, Goldberg ve Menashi.2006).

Diş çürüklerinin demineralizasyon aşamasında hidroksiapatit, oral bakteriler tarafından üretilen organik asitler tarafından çözünmektedir. Lokal pH 5,5'in altına düştüğünde bakteriyel organik asitler kalsifiye diş dokularına diffüze olabilir ve bu da mineral kristallerinin çözünmesine yol açar. Günde birçok kez meydana gelen dinamik demineralizasyon süreci genellikle tükürüğün remineralizasyon sürecinin gerçekleşmesini sağlayan tükürüğün tamponlama potansiyeli ile dengelenir. Bununla birlikte, bu denge kaybedilirse, patolojik faktörler baskın hale gelir ve çürük ilerlemesi gerçekleşir (Chaussain-Miller ve diğerleri, 2006). Çürük ilerlemesi dentin yapısında, mineral içeriğinin azalması, dentin kollajen yapısında bozunma ve kollajen olmayan proteinde değişikliklere bağlı mikro ve nano-gözenekliliklerde artış gibi çeşitli modifikasyonlara neden olmaktadır. Oluşan bu modifikasyonlar ise dentinin fiziksel ve mekanik özelliklerindeki azalmaya katkıda bulunmaktadır (Tjäderhane ve diğerleri 2013a).

Dentin demineralizasyonunu, dentin kollajenöz organik matriksinin imhası izlemektedir. Bu durumun oldukça uzun bir zaman bakteriyel proteazlardan kaynaklandığı düşünülmüştür.

Fakat araştırmalar sonucunda, dentin lezyonlarından toplanan bakterilerin, *in vitro* olarak kollajeni parçalayamadığı ve hatta saflaştırılmış bakteriyel kollajenazların asidik ortamlarda düşük aktiviteye sahip olduğu bulgulanmıştır. Çürük dentin organik matriksinin bakteri aktiviteleri sonucu bozunması hipotezi *in vitro* olarak kanıtlanamadığı için, daha yakın zamanda bu sürece esas olarak konakçı kaynaklı MMP'lerin aracılık ettiği düşünölmektedir (van Strijp, van Steenberge ve ten Cate, 1997).

Dentin içinde bulunan MMP'ler, dentin matriksinin salgılanması sırasında odontoblastlar tarafından üretilmektedirler. Kollajen matriksinin mineralizasyonundan sonra, MMP'lerin inaktif formları kalsifiye matriks içinde hapsolmüş halde kalmaktadırlar. Bununla birlikte çürük sonucunda ya da çürüğün uzaklaştırılması ve sonrasında yapılan tedavi işlemleri sırasında MMP'ler tekrar açığa çıkabilir ve potansiyel olarak aktive edilebilirler (Mazzoni ve diğerleri, 2015).

Bakteriyel asitler tarafından oluşturulan asidik ortam, endojen MMP'lerin aktivasyonunu kolaylaştırabilir. Ancak, aktiveleştirilmüş MMP'ler asidik pH'da stabil olmasına rağmen, en iyi nötr pH'da işlev görmektedirler. Asitlerin nötralizasyonu, dentin tamponlama mekanizmaları veya tükürük tampon sistemleri yoluyla elde edilebilir, böylece pH ile aktive edilen MMP'lerin matriks bileşenlerini ayırmasına izin vermektedir (Chaussain, Boukpepsi, Khaddam, Tjaderhane, George, Menashi, 2013).

Diş çürüklerinin başlangıç aşamasından ilerlemesine kadar olan süreç sırasında proteolitik olarak aktif olma potansiyeline sahip olan MMP'ler arasında, kollajenazlar (MMP-1, MMP-8), jelatinazlar (MMP-2, MMP-9, ayrıca telopeptidaz; stromelisin (MMP-3) ve enameisin (MMP-20) aktivitesi vardır. Çürük dentin'in aktif ve inaktif MMP-2, -9, -8 ve -3 formlarını içerdđi bildirilmiştir. Bu enzimlerden, tip I kollajen hidrolizinde en etkili olanının kollajenaz sınıfında bulunan MMP-8 olduğu, MMP-9'un ise çürük lezyonlarında saptanan baskın jelatinolitik enzim olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, sistein katepsinleri dentin çürük gelişimine katılabilir. Sistein katepsin aktivitesi, lokalizasyon ve lezyon aktivitesine bağlı olarak çürüğün çeşitli bölümlerinde farklı olarak yer almaktadırlar (Vidal, Tjäderhane, Scaffa, Tersariol, Pashley, Nader, Nascimento ve Carrilho, 2014). Pulpaya doğru derinliği artan dentin çürük lezyonunda sistein katepsin aktivitesindeki önemli artış, odontoblast veya pulpa türevli sistein katepsinlerinin aktif çürük lezyonlarının ilerleyişini hızlandırmada önemli olabileceğini göstermektedir. Gingival cep sıvısından ve tükürük bezlerinden

türetilen birkaç MMP içerdiği bildirilmiştir (van Strijp, Jansen, DeGroot, ten Cate ve Everts, 2003). Dentinal sıvı çürük dokularda önemli bir MMP kaynağı olabilir. Sağlıklı dişlerde bile, dentin tübülleri yüksek jelatinolitik aktiviteye sahiptir ve MMP-2 dentin sıvısında gösterilmiştir. İnsan dişlerinde yapılan çalışmalarda çürük hareketine yanıt olarak odontoblastlar tarafından aktif olarak MMP-2 salgılandığı düşünülmektedir. Çürük lezyonunun altındaki dentin tübüllerinde ise MMP-9 ve MMP-20 düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir. Aktif olarak ilerleyen çürüklerde kronik çürük lezyonlarına kıyasla anlamlı derecede daha yüksek MMP aktiviteleri görülmektedir. Aktif çürük lezyonlar demineralize ve remineralize olduktan sonra, pH'ları pH 5,0'dan (katepsin K için optimum pH, ancak MMP'ler için değil) pH 7,0'a, (MMP'ler için optimum pH'dır, ancak katepsin K için değil) yükselmektedir. Bu nedenle proteolitik aktivite uzun süre boyunca meydana gelmektedir (Mazzoni ve diğerleri, 2015). Bununla birlikte bu bulgular, bahsedilen enzimlerin kaynağı olarak tükürüğü gösterebilir. Aynı zamanda tükürük özellikle katepsin B olmak üzere sistein katepsinleri içermektedir (Nascimento, Minciotti, Geraldini, Carrilho, Pashley, Tay, Nader, Salo, Tjäderhane ve Tersario, 2011).

Çürük lezyonlarının altında dentin sıvısı kaynaklı MMP'lerin (ve muhtemelen sistein katepsinlerin) tükürük kaynaklı MMP'lere göre çok daha yüksek seviyelere ulaştığı bildirilmektedir. Dentin sıvısının dışarı doğru akışı ile oluşan hidrostatik basıncın artan MMP aktivitelerinin kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, *in vitro* çalışmalar ile demineralizasyonundan sonra dentin matriksine bağlı enzimlerin aktive edilmesi artan MMP aktivitesinin cevabını karşılayamamaktadır. Örneğin, fosforik asit ile aşındırılmış dentin çok düşük MMP aktivitesi gösterebilirken, asitle aşındırılmış dentinin adezivler ile işlenmesi önemli jelatinolitik ve kollajenolitik reaktivasyona neden olarak daha yüksek MMP aktivitesi gösterebiliyor (Mazzoni ve diğerleri, 2015).

Çürüklerden etkilenen dentin içindeki dentin kollajen matriksinin, inorganik yapısı etkilenene kadar çoğunlukla bozulmadan kaldığı ve inorganik yapının yaklaşık yarısı kaybolduktan sonra bile remineralize olma yeteneğini koruduğuna inanılmaktadır. Bununla birlikte gerçek remineralizasyon, nanometre boyutlu apatit kristallerinin kollajen fibril boşluk bölgelerinde yeniden büyümesini gerektirmektedir (Bertassoni, Habelitz, Kinney, Marshall SJ, Marshall GW, 2009). Fakat daha sonra elde edilen kanıtlara göre, dentin kollajen matriksinin demineralizasyon sırasında inanıldığı kadar sağlam kalmayabileceği düşünülmüştür (Tjäderhane ve diğerleri, 2013a; Vidal ve diğerleri, 2014). Bu yöndeki

kanıtlar; sağlam tip I kollajen ve proteoglikanların immünohistolojik tespitinde önemli bir azalma, çürükten etkilenen dentinde sağlam kollajen tarafından yayılan otofloresan sinyalin neredeyse tamamen kaybı ve kollajende hala remineralize olabileceğine inanılan moleküler değişikliklerin varlığı gösterilmektedir (Vidal ve diğerleri, 2014).

Çürük lezyonlarında dentin, hafif demineralizasyondan sonra kollajenin kademeli kaybı gibi yapısal değişiklikler gösterebilir. Kollajenin devamlılığı, intrafibriller bölge yanındaki terminal telopeptidlerin varlığı ile ilgili olduğundan, telopeptid kaybının, intrafibriller remineralizasyonun gerçekleşmediği anlamına gelebileceği düşünülmektedir (Tjäderhane ve diğerleri, 2013a).

Matriks mettalloproteinaz -2, -9 ve sistein katepsin K, telopeptidaz aktivitesine (kollajen molekülünün C-terminal ucunu parçalama kabiliyeti) sahip oldukları için dentin kaynaklı MMP'ler ve sistein katepsinleri telopeptid fragmanlarının ICTP (karboksitermal) salımından sorumlu oldukları kabul edilmektedir. Kollajen tip 1 in C-terminal çapraz bağlı telopeptidi (ICTP) ve C-terminal ucu telopeptidi (CTX) salımı, birkaç *in vitro* çalışmada demineralize dentin degradasyonunu göstermek için kullanılmıştır (Tezvergil-Mutluay ve diğerleri, 2013). Bu nedenle, dentinal proteolitik enzimlerin demineralizasyonun başlangıcında çürük dentin matriksinde küçük fakat önemli değişikliklere neden olması mümkündür. Bu durum da dokunun onarımını etkileyebilir (Mazzoni ve diğerleri, 2015).

Matrix Metalloproteinazların Hibrid Tabaka Degradasyonundaki Rolü

Restoratif tedavi prosedürleri sırasında, dentin içine rezin infiltrasyonuna izin vermek için bir primer / adeziv sisteminin uygulanmasıyla birlikte veya öncesinde asitle pürüzlendirme yapılmaktadır. Asit çözeltileri veya asidik monomerler, seçilen bağlama stratejisine (*etch&rinse* veya *self-etch*) bağlı olarak dentin dokusunun mineral içeriği ile etkileşime girmektedir. Böylece açıkta kalan dentin matriksi adeziv monomerlerle kaplanarak hibrid tabaka oluşumu sağlanmaktadır. Sentetik rezin polimerlerinin ve kollajen biyopolimerlerinin stabilitesi, adeziv-dentin arayüzünün uzun ömürlülüğü için oldukça önem taşımaktadır. Çünkü her ikisinin degradasyonu adezyonu zayıflatabilir ve diş yapılarıyla restoratif maddeler arasında boşluklara yol açabilir (Breschi ve diğerleri, 2008).

In vivo ve *in vitro* çalışmalar, dentin adeziv sistemleri tarafından oluşturulan hibrid tabakaların, her iki sistemin, hidrolitik bozunma fenomeni ve kollajen fibrillerinin zamanla kaybolması nedeniyle nemli ortamlarda kararsız olduğunu ortaya koymuştur. Dentin organik matriksine bağlı endojen MMP'lerin, hibrid tabakanın adeziv monomerler tarafından iyi bir şekilde sarılmadığı takdirde tabaka içindeki kollajen fibrilleri potansiyel olarak bozabileceği bildirilmiştir. Çürük lezyonlarının ilerlemesi sırasında, MMP'ler dentin matriksinin parçalanmasında rol oynadıkları için, bu enzimlerin hibrid tabaka içindeki günümüz *etch&rinse* ve *self-etch* adezivleri tarafından işlem gören kollajen fibrillerin doğrudan parçalanmasında yer aldığı düşünülmektedir (Tjäderhane, Nascimento, Breschi, Mazzoni, Tersariol, Geraldini, Tezvergil-Mutluay, Carrilho, Carvalho, Tay, 2013b).

Etch&rinse veya *self-etch* adezivler ile tedavi edilen kısmen demineralize dentindeki kollajenolitik ve jelatinolitik aktivitelerin kanıtı, bu proteazların hibrid tabaka içindeki rezinin yetersiz infiltrasyonu sonucu kollajen fibrillerin bozunmasına potansiyel katılımını desteklemiştir. Bu sonuçlar daha sonra hem *etch&rinse* hem de *self-etch* adeziv sistemleri ile tedavi edilen dentin matrikslerinde spesifik MMP-2 ve MMP-9 analizleri ile doğrulanmıştır. Ek olarak, *self-etch* bir adezivin, insan odontoblastlarındaki MMP-2 sentezini arttırdığı gösterilmiştir ve dentinal sıvı yoluyla hibrid tabakaya MMP-2 penetrasyonunu arttırdığı düşünülmektedir (Mazzoni ve diğerleri, 2015). MMP'ler, sistein anahtarını indükleyerek düşük pH'lı ortamlarda aktive edilebilmektedirler (Chaussain-Miller ve diğerleri, 2006). *Etch&rinse* ya da *self-etch* adeziv sistemlerinde bulunan asidik rezin monomerleri, propeptitler tarafından bloke edilen bu enzimlerin katalitik etkilerini ortaya çıkararak sistein-anahtar mekanizması aracılığıyla gizli MMP'lerin (pro-MMP) formlarını aktive edebilmektedir (Mazzoni, Scaffa, Carrilho, Tjäderhane, Di Lenarda, Polimeni, Tezvergil-Mutluay, Tay, Pashley ve Breschi, 2013).

Bu sorunu daha da açıklığa kavuşturmak için yapılan bir çalışmada, rezin bağlı hibrid tabakalar içindeki endojen dentin MMP'lerin aktivitesine doğrudan kanıt sağlamak için zimografi tekniği kullanılmıştır (Mazzoni, Apolonio, Saboia, Santi, Angeloni, Checchi, Curci, Di Lenarda, Tay ve Pashley, 2014). Önceki çalışmalar, insan dentini içinde endojen proteolitik enzimlerin varlığını ve aktivitesini göstermesine rağmen, rezin bağlı hibrid tabakalar içindeki endojen dentin kaynaklı MMP'lerin aktivitesinin kanıtı yoktu. Bu analiz ile, uygulanan adezyon işlemlerinden sonra hibrid tabaka içinde lokalize edilmiş aktif konakçıdan türetilen jelatinazlar gösterilmektedir (Mazzoni ve diğerleri, 2012). Enzim aktivitesi, demineralize tabaka ile ilişkili olarak hibrid tabakanın altında lokalize olarak görülmekte ve kollejene yeterince infiltre

olamayan adeziv arayüzleri immünoglobulin etiketleme tekniği ve konfokal mikroskop ile tespit edilmiştir (Breschi ve diğerleri, 2004). Aynı zamanda ekspozite kollajen alanlar, ara yüzey gümüş nanoleaksiyon ekspresyonu olarak tanımlanan hibrid tabakanın nanoporozitelerinin morfolojik özelliği ile iyi bir korelasyon göstermektedir. Bu alanlar, hibrid tabakanın zaman içinde ilk bozunma yerleri olarak bildirilmektedir (Mazzoni ve diğerleri, 2015).

Etch&rinse ve *self-etch* adezivleri tarafından indüklenen asidik aktivasyon, MMP-2 ve -9 protein seviyelerindeki artışa sebep olurken; aynı adezivler TIMP'lerin (Tissue inhibitors of metalloproteinases-TIMPS) aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır. TIMP'ler, MMP'leri bağlayan endojen inhibitörlerdir ve bunlar arasındaki denge sağlıklı dokuların inhibitör aktivitesini korumak için çok önemlidir. Hafif asidik rezin monomerleri aslında TIMP-MMP komplekslerinde metalloproteinaz-1'in doku inhibitörünü (TIMP-1) inhibe ederek MMP'leri aktive edebilir, böylece aktif MMP'ler üretebilir (Tjäderhane ve diğerleri, 1998).

Adezivler tarafından indüklenen düşük pH ortamı ayrıca dentin sistein katepsinlerinin aktivasyonu için uygun koşullar da sağlamaktadır. Önceki çalışmalar ayrıca MMP'lerin proteolitik aktiviteleri ile sistein katepsinleri arasında pozitif bir korelasyonu desteklemektedirler (Cox, Eley, Kiili, Asikainen, Tervahartiala ve Sorsa, 2006). Bu nedenlerden dolayı, asidik monomerlerin uygulanması sırasında, sadece MMP'ler değil, aynı zamanda sistein katepsinleri de aktive edilir. Böylece her iki durum da HL'nin zaman içinde bozunmasına katkıda bulunmaktadır (Tjäderhane ve diğerleri, 2013b).

Dentin dokusunda yer alan endojen dentin proteazlarının inhibisyonu ile kollajen matriks bütünlüğünün korunması, dentine bağlanma dayanıklılığını arttırmak ve stabil, uzun süreli bir adezyon oluşturmak için çok önemlidir. Resin kompozitinin değiştirilmesinin en yaygın nedeni aslında hibrid tabakanın bozunumu sonucunda oluşan boşluklu rezin-dentin arayüzeyinden kaynaklanan sekonder çürüklerdir. Bu nedenle, son zamanlarda MMP inhibitörleri de dahil olmak üzere dentin yapısını güçlendirmek için yeni tedavi stratejileri önerilmektedir (Mazooni ve diğerleri, 2015).

Dentin-Adeziv Bağlanma Kararlılığını Geliştirmek Amacı ile Kullanılan Terapötik Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri

Matriks metalloproteinaz enzimleri (MMP), dentin matriksinin içinde bulunan ve dentin organik matriksini hidrolize etme yeteneği bulunan proteolitik enzimlerdir. Araştırmacılar,

günümüzde farklı yapıdaki MMP inhibitörlerini kullanarak diş çürüğünün önlenmesi ve dentin remineralizasyonunu nasıl teşvik edebileceklerine odaklanmıştır. Ayrıca, hibrid tabakanın bütünlüğünü korumak ve uzun vadeli dentin-adeziv bağı kuvvetini geliştirmek için çeşitli stratejiler önerilmiştir (Mazzoni ve diğerleri, 2015).

Dentin matrikslerindeki MMP aktivitesi endojen ve eksojen inhibitörler ile azaltılabilir. Endojen inhibitörler farklı insan hücrelerinden köken alırken, eksojen inhibitörler terapötik ajanlar olarak sentezlenir. Bu inhibitörlerin çoğu kalsiyum ile şelatlanmakla birlikte aktif bölgedeki çinko iyonlarını değiştirebilmekte ve / veya MMP propeptid fragmanı ile etkileşime girebilmektedirler. Bazı inhibitörler ise MMP erişimini önleyebilir ve substratı kaplayarak aktiviteyi engelleyebilir (Tjäderhane ve diğerleri, 2013b).

Daha önce hayvan deneylerinde MMP inhibisyonunun dentin çürük ilerlemesini azaltabileceği gösterilmiştir (Tjäderhane ve diğerleri, 1998). Kimyasal olarak modifiye edilmiş tetrasiklin-3 (CMT-3) ve zoledronat (MMP inhibe edici aktiviteye sahip bir bisfosfonat) uygulamalarının sıçan molar dentin çürüklerini %60 ile %87 oranında azalttığı bildirilmiştir. CMT-3 ayrıca insan tükürük jelatinaz aktivitesini de ortadan kaldırır ve sistemik doksisisiklin ilaçlarının da tükürük kollajenaz aktivitesi üzerinde benzer bir etkisi vardır (Sulkala, Wahlgren, Larmas, Sorsa, Teronen, Salo ve Tjäderhane, 2001).

Benzer şekilde, dentin-adeziv bağlanma prosedürü sırasında MMP inhibitörlerinin kullanılması durumunda bağlanma mukavemetinin arttığı ve zaman içinde ara yüzey bozunmasının azaldığının gösterildiği çeşitli çalışmalar bildirilmektedir. Bu veriler MMP'lerin zaman içinde HL'nin stabilitesindeki rolünün dolaylı kanıtı olarak yorumlanmaktadır (Tjäderhane ve diğerleri, 2013).

Klorheksidin (CHX), tetrasiklin, galardin, benzalkonyum klorür ve kuaterner amonyum metakrilatlar, dentin-adezin bağlanma mukavemeti üzerinde olumlu etkiler gösteren test edilmiş MMP inhibitörlerinden sadece bazılarıdır. Bununla birlikte en çok test edilen inhibitör, MMP-2, -9 ve -8 ve sistein katepsinlerinin aktivitesini etkili bir şekilde azaltan CHX'dir (Scaffa, Vidal, Barros, Gesteira, Carmona, Breschi, Pashley, Tjäderhane, Tersariol ve Nascimento, 2012).

Yapılan bir çalışmada, CHX'in %0,2 gibi düşük konsantrasyonlarda bile dentin-adeziv bağlanma mukavemetini koruduğu ve arayüzey bozunmasını azalttığı (azaltılmış nanoleakage ekspresyonu) gösterilmiştir (Breschi, Mazzoni, Nato, Carrilho, Visintini, Tjäderhane, Ruggeri, Tay, Dorigo Ede ve Pashley, 2010). Klorheksidinin proteaz inhibisyonuna neden olmasının, katyon kenetleme özelliğiyle ilişkili olabileceği ve adeziv primerleri tarafından salınan kalsiyum iyonlarının zamanla inhibisyon kaybından sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Bu sınırlama nedeniyle (iyonların süzülmesi ve yeniden doldurulması), son zamanlarda proteaz enzimlerini inaktive etmenin daha kalıcı bir yolu olarak kollajen çapraz bağlayıcı ajanların kullanımı gündemdedir (Bedran-Russo, Pauli, Chen, McAlpine, Castellan, Phansalkar, Aguiar, Vidal, Napotilano ve Nam, 2014).

Çapraz bağlayıcı reaktifler veya çapraz bağlayıcılar, proteinler veya diğer moleküller üzerindeki spesifik fonksiyonel gruplara (birincil aminler, sülfhidritler, vb.) kimyasal olarak bağlanabilen bir veya daha fazla reaktif sonlandırma içeren moleküllerdir. Çapraz bağlayıcıların potansiyeli, kollajen ağının mekanik kuvvetini geliştirme (Bedran-Russo ve diğerleri, 2014), enzimatik bozunmaya karşı direnci geliştirme ve matriks kollajene bağlı MMP'leri etkisiz hale getirme olasılığı ile ilgilidir (Tjäderhane ve diğerleri, 2013b). Bununla birlikte bu durum, kararlı bir HL oluşumunu nihai olarak belirleyebilen kararlı bir dentin matriks ağına yol açmaktadır (Tjäderhane ve diğerleri, 2013b; Bedran-Russo ve diğerleri, 2014; Mazzoni ve diğerleri, 2014).

2.3.2. Matrix Metalloproteinaz İnhibitörleri

Doku İnhibitörleri

Metalloproteinazların ilk doku inhibitörü (TIMP); insan fibroblastları ve serumunun olduğu bir besiyerinde kollejenaz aktivitesini inhibe etme yeteneğine sahip bir protein olarak tespit edilmiştir. Dokularda bulunan metalloproteinaz enzimlerinin doğal doku inhibitörleri, MMP aktivitesinin lokal kontrolünde yer almaktadır ve dört çeşite sahiptir (TIMP 1-4). MMP'lerin esas fiziksel inhibitörü olan TIMP'ler, MMP aktivitesini inhibe ederek ekstraselüler matriks yıkımını sınırlandırmaktadırlar. Farklı dokularda farklı etki ve salınım düzenleri gösteren bu inhibitörler farklı MMP'lere karşı spesifik olmadan etki etmektedirler (Çam ve Bağış, 2018).

Sentetik Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri

Birinci kuşak MMP inhibitörlerinden birçoğu; kollajenaz enziminin bölünme bölgesi etrafına çinko bağlayarak enzimatik aktiviteyi baskılayan ve kollajeni taklit eden bir aminoasit içerecek biçimde tasarlanmıştır. Benzer olarak süksinat gibi farklı şelat grupları da geliştirilmiştir. Bu tür ilaçlar esas olarak onkolojide kullanılmaktadırlar ve ağır yan etkilere sahip olduklarından dolayı çürükten korunmada sistematik kullanımları uygun görülmemektedir. Ancak bu ajanların çürük üzerine topikal olarak uygulanması yeterli olabileceği gibi; daha az toksik ve daha seçici MMP inhibitörleri tercih edilebilir. Örneğin, çinko oksit ojenol içerisindeki çinko, MMP-2 ve -9'un proteolitik faaliyetinin etkili olarak baskılamaktadır (Santos, De Souza, Gerlach, Trevilatto, Scarel-Caminaga ve Line, 2004).

Çinko Metakrilat

Çinko metakrilat (ZM), bir metalloproteinaz inhibitörüdür ve diğer metakrilat monomerler ile kopolimerize olabilir. Yapılan bir çalışmada çinko metakrilat, matrix metalloproteinaz 2 (MMP-2)'yi inhibe etmiştir. Bu nedenle ZM ilavesinin rezin bağlanma gücüne etkisi olmadığı kanısına varılmıştır (Henn, Carvalho, Ogliari, de Souza, Line, da Silva, Demarco, Etges ve Piva, 2012).

Kenetleyici özelliklere sahip sentetik peptidomimetik olan bu inhibitörler, MMP'lerin inhibisyonu ve katalitik alanın aktif bölgesinin inhibisyonunda kullanılabileceği bildirilmektedir. Dental adezivlere ZnO parçacıklarının eklenmesi, minör dentin kollajen degradasyonu ve rezin-dentin bağında artan dayanıklılığa sebep olmaktadır. Böylece adezivin bağlanma etkinliğinin uzun süre korunacağı bildirilmektedir (Toledano, Yamauti., Ruiz-Requena ve Osorio, 2012).

Diş hekimliğinin klinik uygulamalarında sıklıkla kullanılan çinko; diş macunları içerisinde aktif olarak bulunması ve restoratif materyallerin önemli bir parçası olması sebebiyle de MMP inhibisyonunda önemli bir etkiye sahiptir (Erkli ve Ersöz, 2011).

Siklinler ve Bifosfonatlar

Antimikrobiyal olmayan kimyasal olarak modifiye edilmiş tetrasiklinler (CMT) özellikle ağız içi uygulama sonrasında güvenli ve etkili bulunan birkaç MMP inhibitörü arasındadır (Sulkala ve diğerleri, 2001). Her ne kadar tetrasiklin'ler yaygın olarak protein sentezine müdahale

ettikleri ribozomal seviyede hareket eden geniş yelpazeli antibiyotikler olarak bilinseler de aynı zamanda bağışıklık değişikliği, inflamasyon, hücre çoğalması ve anjiyogenezis gibi başka biyolojik hareketlerde de bulunurlar (Marchetti, Piacentini ve Menghini, 1992).

Tetrasiklinler ve onların analogları, bu antibiyotiklerin antimikrobiyal özelliklerinin mekanizmalarından bağımsız olarak MMPs'leri baskırlar. Her ne kadar tetrasiklinlerin ve analoglarının Ca^{+2} ve Zn^{+2} ' ya bağlanma bölgelerinin en azından kısmen MMPs'lerin hücre dışı aktivitesini baskılamaktan sorumlu olduğu iddia edilse de, ekstraselüler matrikste ve hücre içi bölgede de antimikrobiyal olmayan birçok mekanizma ile terapötik özellik göstermekte oldukları bilinmektedir (Wang, Spencer ve Walker, 2007).

Günümüzde üç tetrasiklin grubu mevcuttur; tetrasiklin ve doğal ürünler, yarı sentetik tetrasiklin komponentleri ve kimyasal açıdan modifiye olmuş tetrasiklin. Bunlardan sonuncusu terapötik potansiyele sahiptir ancak gastrointestinal bozukluk gibi yan etkiler meydana getirdiği görülmüştür. Minosiklin ve doksisisiklin, yani sentetik tetrasiklinler ise geniş medikal ve dental uygulamalara sahiptir (Wang ve diğerleri, 2007).

Doksisisiklin minosiklinden daha güvenilir olarak tanımlanan, antikanser ajanı olarak ve kronik periodontitis yönetiminde yardımcı tedavi ajanı olarak kullanılan en yaygın antimikromiyal tetrasiklinlerden biridir (Pashley, Agee ve Wataha, 2003).

Bağlanma performansında asitle aşındırmadan sonra bir ön hazırlık adımı olarak sulu minosiklin ve doksisisiklin solüsyonları uygulaması halen araştırılıyor olsa da tetrasiklinlerin ve onların analoglarının dentine bağlanmada rezin-dentin bağlarının uzun vadede korunmasının bir yolu olarak kullanılması hala literatürde nadirdir. Tetrasiklinlerin MMPs inhibisyonu üzerindeki potansiyel rolü ilerideki araştırmaların odak noktası olması gerektiği bildirilmektedir (Fung, Wang ve Laudier, 2009).

Tetrasiklin ve yarı sentetik formları, doksisisiklin, MMPs'lerin kollajen degradasyonu aktivitesini inhibe etme yeteneğine sahiptir (Stanislawczuk, Costa, Polli, Reis ve Loguercio, 2011). Dentin yüzeyi asitleme prosedüründen sonra kollajenaz ve jelatinazı inhibe edebilme özelliğinden dolayı %2 doksisisilin sulu çözeltisi ön tedavi olarak kullanımı gündemdedir (Longhi, Cerroni, Condo, Ariano ve Pasquantonio 2015).

Doğal Terapiler

Flavonoid bileşimlerin kompleks bir alt grubu olan proantosiyanidinler (PA); çok çeşitli meyve, sebze, çiçek, fındık, kabuk ve tohumlarda bulunmuştur (Ferreira ve Slade, 2002). Daha çok üzüm çekirdeği ekstresi olarak bilinen ve yeni çapraz bağlayıcı olan bu maddenin MMPs'leri de inhibe ettiği gösterilmiş (La, Howell ve Grenier, 2009). Proantosiyanidin (PA) kullanılan adeziv sistemler ile saf adeziv model karşılaştırıldığında, PA eklenmiş sistemlerin biyolojik bozunmaya karşı direnci artırdığı ve enzimatik bozunmadan sonra hibrid tabakanın daha iyi korunmasını sağladığı bulunmuştur. Aynı zamanda PA'nın kollajenin çapraz bağlanmasına etkili olduğu ve 10 sn. gibi kısa bir süre içinde biyolojik kararlılığı artırabildiği bildirilmektedir. Demineralize dentinde PA 'nın ön tedavi olarak kullanılması klinik olarak mümkün ve geçerli bonding sistemlerin dayanıklılığını artırmak için umut verici bir yaklaşımdır (Liu, Chen, Yao, Xu, Zhang ve Wang, 2013).

Soya fasulyesi ve avokadonun MMP inhibisyonu yaptıkları *in vitro* olarak bulgulanmıştır. Yeşil çay ise özellikle MT1- MMP aktivitesini düşürerek proMMP-2 değerlerinde de azalmaya neden olma özelliğine sahiptir. Bu doğal maddelerin baskılayıcı etkisinin dentin çürüğünün ilerlemesinin yavaşlatılmasında da etkili olabileceği düşünülmektedir (Çam ve Bağışcı, 2018).

Etilendiamin Tetraasetik Asit

Etilenediamin tetraasetik asit (EDTA) kök kanal sisteminin mekanik enstrumentasyonu sırasında ve irrigasyonunda en yaygın biçimde kullanılan ajanlardan biridir. Aynı zamanda periodontal mekanik kök temizliğine yardımcı ajan olarak kullanılmaktadır. EDTA, dentin yüzeyinden smear tabakayı arındırır ve etkisi kendi kendine sınırlayıcı bir özellik taşımaktadır.

Matriks metalloproteinazlar (MMPs) daha önce bahsedildiği gibi, katalitik hidroliz faaliyetlerinde üçüncül yapı ile bağlanmak için çinko iyonları ve kalsiyum gereksinimi duymaktadır. Asitlenmiş dentinde açığa çıkan bu iki değerlikli katyonlar ile EDTA şelasyon yaparak MMPs'lerin inaktivasyonunu sağlamaktadır. Bazı araştırmacılar ağızdaki MMPs'leri inaktive edecek bir prosedür olarak mine ve dentin yüzeyine 0,5ml EDTA kullanımı koşulunu savunur (Sauro, Mannocci, Toledano, Osorio, Pashley ve Watson, 2009). EDTA'nın "etching" etkisi birkaç dakikada dentinin 1-2 µm'lik kısmını etkileyecek kadar zayıftır. Araştırmalarda %32-37 fosforik asitle 15sn. asit uygulanan dentinin anti-MMPs

şelatörleri ile tedavi edilmesi önerilmektedir. Asitlenmiş dentinde MMPs'leri inhibe edebilecek diğer olası şelatörler; 1,10-fenantrolin, etilen diamin tetrafosfonik asit olarak belirtilmektedir (Pashley ve diğerleri., 2011).

EDTA'nın 1 ile 5 dakika uygulanması insan dentininde MMP-2 ve MMP-9 aktivasyonuna karşı önleyici bir etki göstermektedir. Sonuç olarak, dentin adezivlerinde bir dentin ön tedavisi olarak EDTA kullanılması önerilmiştir. Ayrıca sonuçlar fosforik asit ve başka asit tipleriyle karşılaştırıldığında dentin-adeziv bağlanma gücünde bir artış sergilendiği görülmektedir. EDTA'nın bu konu üzerindeki uzun dönem takip çalışmalarında dentin-adeziv arayüzündeki adezyonu koruduğu gösterilmiştir (Abate, Rodriguez ve Macchi, 2000).

Etilenediamin tetraasetik asit'in dezavantajı ise, suyla durulandıktan sonra dentin yüzeyinden tamamen kaybolabilmesidir. MMP'lerin aktivitesini baskılayacak artık EDTA ortamda hiç kalmayabilir (Kanca, 1992).

Klorheksidin

Klorheksidin (CHX) oral bakterilere karşı geniş bir aktivite yelpazesine sahip yaygın kullanılan bir antimikrobiyal ajandır. CHX yakın zaman önce MMPs'lerin inhibe edilmesi yoluyla hibrid tabakayı koruyacak bir proteaz inhibitörü olarak incelenmiştir. Dentine kollajen fibrillere rezin tam olarak infiltre olamaz ise MMPs'ler sayesinde hibrid tabaka bozunmaya uğrayabilir. Dentine asit uygulandıktan sonra, CHX içeren su bazlı primer kullanılmasıyla dentine bağlanma gücünün ve hibrid tabakanın bütünlüğünün zaman içerisinde korunduğu rapor edilmektedir.

Yapılan bir çalışmada *etch&rinse* sistemlerde terapötik astar olarak klorheksidin kullanılarak bu enzimlerin inhibe edilmesi amaçlanmıştır. Sonuç olarak yapıştırıcının dentine adezyonunun uzun bir süre için muhafaza edildiği rapor edilmiştir. MMPs'lerin yanı sıra adezyonun kalitesini etkileyen diğer faktörlerin genellikle bir dereceye kadar etkili olduğu ve CHX ile MMPs inaktivasyonu nedeniyle daha uzun süreler için bağlanmanın kararlı kaldığı bildirilmektedir (Liu, Tjäderhane, Breschi, Mazzoni, Li, Mao, Pashley ve Tay, 2011).

Klorheksidin kullanımı ile tamamen nanosızıntıyı önlemek mümkün değildir ve adeziv bağ kademeli olarak azalmaktadır. Fakat dentin ve kompozit rezin arasında dayanıklı ve istikrarlı bir adezyon oluşturma yolunda önemli bir adımdır. Özet olarak; *etch&rinse* sistemler kullanırken asitleme sonrası bonding ajanın kullanılmasından önce CHX nin saf sulu bir çözeltisinin (%0,2, 30sn.) terapötik bir primer gibi uygulanması, bozunma sürecinin gecikmesine katkıda bulunabilir ve dolayısıyla adezivin dentine bağlanmasının uzun süreli kararlılığını geliştirir (Strobel ve Hellwig, 2015).

Carbodiimid

Carbodiimid (1-Etil-3- [dimetilamino propil]), carbodiimid hidroklorür ya da 1-Etil-3-(3-dimetil l amino propil) carbodiimid (EDC) stabil syanamid izomerlerdir. EDC ile dentine bağlanmanın stabilitesi ve onun çapraz bağlanma kapasitesini geliştirmek mümkündür. Kollajenin bu mekanizması rezidüel glutamik ve aspartik karboksilik asit grupları arasında çapraz bağlama aktivasyonunu içermektedir (Bedran-Russo, Vidal, Dos Santos ve Castellan, 2015).

EDC'nin dentin matrixinin yüksek mekanik özellikleri ve kollajenin yavaş parçalanma sürecinin desteklemesi nedeniyle, arayüz stabilitesini artırmak için büyük bir potansiyele sahiptir. Bu yüzden EDC 'nin MMPs' leri uzun vadede etkisiz hale getirdiğini söylemek mümkündür (Mazzoini ve diğerleri, 2014).

Kitosan

Kitin'in deasetilasyonu ile elde edilen lineer bir aminopolisakkarittir. B2 vitamini (riboflavin) ise, pentoz şeker olan ribitol ve lumikromdan oluşur. Kitosan ve riboflavin ile adeziv substratın modifikasyonu ile MMPs'lerin hidrolitik ve kollajenolitik degradasyonuna karşı kollajenin mekanik özellikleri ve demineralize dentinin mekaik stabilitesi arttırılır. Kitosan içeriği, interfibriler alanlarda majör obliterasyon artışına kademeli olarak izin vermekte, bu durum da olumsuz bir bağlanma ile sonuçlanabilmektedir (Fawzy, Nitisusanta, Iqbal, Daood, Beng ve Neo, 2013).

Galardin

Galardin MMPs substratlarının moleküler taklidi olarak tasarlanmış güçlü ve geniş spektrumlu hidroksamik tipinde sentetik MMPs inhibitörüdür. Birkaç MMPs'a karşı aktif olan bu inhibitör, MMPs'nin çinko atomuna bağlanan aktif bölgesine girerek inhibisyon etkisi göstermektedir. Yapılan insan çalışmalarında galardinin yaranın iyileşmesini ve meme bezinin gelişmesini önlediği, fareler üzerinde yapılan çalışmalarda ise tümörün büyümesini ve metastazı önlediği bildirilmektedir. Galardin'in dentin MMPs'leri üzerindeki baskılayıcı etkisi zimografik analizle teyit edilmiş, bağlanma gücünü tehlikeye atmadan hem MMP-2 'nin hem de MMP-9' un aktivitesini tamamen önlediği gözlemlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, bağlanma yüzeyi 0,2 ml galardin su solüsyonu ile muamele edilmiştir. Bağlanma gücünde yavaşlamış bir azalma ve nanosızıntı miktarında düşüş gösterilmiş olsa da bu durumlar tamamen bloke edilememiştir. Bahsedilen çalışmanın 1 yıl takibi sonucunda adezyon gücünde %27 lik bir azalma olduğu rapor edilmiş; ve bu sonucun kontrol gruplarında ölçülen %45 lik azalmadan anlamlı derecede daha az olduğu bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2011).

Epigallotechtin-3-Gallate

Epigallotechtin-3-Gallate (EGCG), matriks metalloproteinaz molekülünü bozarak MMP-2 ve MMP-9'un aktivitesini baskılamaktadır. EGCG, bazı kanser formlarında MMP-2 regülasyonunda/inaktivasyonunda yer alabilen moleküllerin aktivasyonunda, salgılanmasında ve sinyalinde bir terapötik etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir.

Diş hekimliğinde EGCG, bir adezive ilave edildiğinde streptococcus mutans'ın büyümesi üzerindeki baskılayıcı etkisinden ayrı olarak periodontal hastalıkta osteoklast oluşumunda yer alan MMP-9'un aktivitesini ve salınımını engelleyebildiği rapor edilmiştir. Anti-MMP özellikleri yüzünden EGCG içeren adezivler rezin-dentin bağının dayanıklılığını artırma potansiyeline sahip olabileceği düşünülmektedir (Liu ve diğerleri, 2011).

Quarternary Amonyum Tuzları

Quaternary dört elementli amonyum bileşikleridir suda çözülebilen ve antimikrobiyal özelliklere sahip moleküllerdir. Bu bileşik dental rezinlere eklenebilmekte, ancak suda

çözünme özelliğinden dolayı adeziv arayüzünden ayrılabilirler. Dört elementli amonyum molekülleri rezin matriksinde hareketsiz hale geldiklerinde hala anlamlı bakteriyostatik aktiviteye sahip olabilmektedirler.

12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) gibi dört elementli amonyum metakrilat kullanılmasının avantajlarından biri onların adeziv monomerlerle birlikte polimerize olabilmeleridir. Clearfil Protect Bond (Kuraray Noritake Dental Inc. Osaka 8 Japonya) MDPB'yi onun bileşimine dahil eden ilk ticari dentin adezidir (Hashimoto ve diğerleri, 2000).

Dört elementli amonyum metakrilat CHX'e benzer şekilde katyoniktir. Son çalışmalarda, dört elementli amonyum metakrilatın rezin monomerlerinin çeşitli derecelerde MMPs'lerin önleyici aktivitesine sahip olduklarını göstermiştir. Bu monomerin, bir adeziv formülünde başka monomerlerle birlikte polimerize olduktan sonra MMPs'lere karşı baskılayıcı etkisini sürdürüp sürdürmediği ile ilgili olarak daha fazla araştırma yapılması gerektiği bildirilmektedir. Bununla beraber, rezin-dentin bağlarının bozunması Clearfil Protect Bond veya Clearfil SE Bond (çok benzer kompozisyona sahip olan ancak MDPB'den yoksun adeziv) kullanılarak değerlendirildikten sonra sonuçlar Clearfil SE Bond'da bozunma paterni (bağlanma gücünün azalması ve daha güçlü ağaç şeklinde bozunma paterni) gözlemlendiğini göstermiştir. Bu da 12-methacryloyloxydodecylpyridiniu (MDP) içeren adeziv kullanıldığında hibrid tabakanın daha iyi korunduğunu göstermiştir (Armstrong, Vargas ve Chung, 2004).

Ayrıca, asitlenmiş dentine primer olarak, "SB-3CT", "Galardin", "GM6001" veya "Illomastat" gibi spesifik MMPs inhibitörleri de uygulanabilmekte veya spesifik olmayan MMPs inhibitörleri de primerlere eklenebilmektedir. Örneğin; birçok yazar hibrid tabakanın bozunmasını önlemede adeziv primerlerdeki "Klorheksidin" bileşiğinin etkilerini göstermiştir. Klorheksidin; dentinde bulunan kollajenolitik enzimlerin başka bir sınıfı olan sistein katepsinleri inhibe edebilmektedir (Pashley ve diğerleri, 2011).

Benzalkonyum Klorit (BAC)

Benzalkonyum klorit (BAC) molekülü, dört elementli amonyum grubu içeren bir antimikrobiyal maddedir. Bu madde fosforik asite dirençli olan MMPs enzimlerinin

fonksiyonunu olumsuz etkileme özelliğinden dolayı bir fosforik asit jele dahil edilmiştir. Yapılan araştırmalarda, BAC içeren fosforik asit jellerin kullanılması mineye ve dentine bağlanma gücünü etkilemediği sonucuna varılmıştır. Daha sonra ise BAC'nin anti-MMP özellikleri MMP-2, 8 ve 9'a karşı test edilmiştir. Sonuçlar bu maddenin MMP-2; 8 ve 9'u baskılama potansiyelini göstermiştir. Bununla beraber, CHX içeren fosforik asit jelle karşılaştırıldığında, BAC içeren aşındırıcı jelin durulandıktan sonra bile asitlenmiş dentine güçlü şekilde bağlandığı rapor edilmiştir (Hashimoto, 2010).

Alkol

Dentin yüzeyine asit uygulaması ardından açığa çıkan enzimler, rezin infiltrasyonu sonrasında da aktif olarak kalmaktadırlar. Yalnızca, hibrid tabakasının su içermemesi halinde bu enzimlerin inaktif forma geldiği bildirilmektedir. Tezvergil ve diğerleri, değişik konsantrasyonlardaki alkollerin (metanol, etanol, propanol, butanol, pentanol, HEMA, heksanol, heptanol ve oktanol) enzim inhibisyonuna etkisini incelemişler ve konsantrasyonuna bağlı olmaksızın çalışmada kullanılan tüm alkollerin, MMP-9 enziminin aktivitesini bozduğunu bulgulamışlardır. Araştırmacılar, günümüzde kullanılan birçok adeziv sistemin yüksek konsantrasyonda (%35- 50) HEMA içerdiğini, ancak bu adezivlerde zamana bağlı yıkımının gerçekleştiğini, dolayısıyla polimerize edilmiş HEMA'nın aktif bir MMPs inhibitörü olmadığını bildirmektedirler (Tezvergil-Mutluay, Agee, Hoshika, Uchiyama, Tjäderhane, Breschi, Mazzoni, Thompson, McCracken, Looney, Tay ve Pashley, 2011).

Sonuç olarak, MMP'lerin çürük ilerlemesi ve bağ stabilitesine dahil olması nedeniyle enzim inhibitörlerinin yenilikçi terapötik ve önleyici protokollerde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, MMP aktivitesini inhibe edebilen, çürüğün önlenmesine ve adeziv arayüzün stabilitesinin etkili bir şekilde katkıda bulunabilen yeni kimyasallar üzerinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.3.3. Kollajenin Mekanik Özelliklerini Artırma

Kollajenin çapraz bağlanması dentin matriksinin gerilme özelliklerine katkıda bulunur (Cova, Breschi, Nato, Ruggeri, Carrilho, Tjaderhane, Prati, Di Lenarda, Tay, Pashley ve Mazzoni, 2011). Bununla birlikte, kollajen matriksi fizyolojik ve patolojik süreçler

nedeniyle mekanik veya biyokimyasal olarak bozunabilir. Özellikle, bir demineralizasyon süreci olan diş çürüğü, dentinin mineral içeriğini ciddi şekilde etkileyerek kollajen liflerinin bozunmasına neden olur. Demineralizasyona maruz kalan dentin kollajen lifleri kırılgandır ve bakteri kaynaklı enzimler veya endojen proteazlar tarafından kolayca geri dönüşü olmayan bir tahribata uğramaktadırlar (Hass, Luque-Martinez, Gutierrez, Moreira, Gotti, Feitosa, Koller, Otuki, Loguercio ve Reis, 2016). Restoratif diş hekimliğinde, hibrid tabaka içindeki kollajen fibrillerin stabilitesi ve bütünlüğü, uzun süreli bağlanma dayanıklılığı için çok önemlidir (Cove ve diğerleri, 2011). Bu bağlamda, kollajen fibrillerinin stabilizasyonu ve güçlendirilmesi, diş çürüklerinden zarar görmüş dentin restorasyonu ve bağlanma dayanıklılığının artırılması için potansiyel bir yaklaşım olarak kabul edilmiştir (Cai, Palamara ve Burrow, 2018).

Endojen çapraz bağların oluşumu, dentin kollajeninin sertliğine katkıda bulunmaktadır. Ekzojen kollajen çapraz bağlayıcıların uygulanmasıyla, kollajenin intermoleküler ve intramoleküler çapraz bağlarının oluşumu indüklenebilmektedir. Böylece dentin matrisi güçlendirilir ve biyodegradasyon oranı azaltılır (Aguiar, Vidal, Phansalkar, Todorova, Napolitano, McAlpine, Chen, Pauli ve Bedran-Russo, 2014). Bunun ışığında, çapraz bağlayıcılar ile dentin matrikslerinin biyomodifikasyonu, doku onarımı için umut verici bir strateji ve özellikle çürükten etkilenen dentin yönetimi için yeni bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir.

2.3.4. Sentetik Çapraz Bağlayıcılar

Gluteraldehit

Gluteraldehit (GA) ağırlıklı olarak kollajen biyomateryallerini çapraz bağlayan bir fiksatif olarak kullanılır. Gluteraldehit, kollajen içindeki lizil veya hidrolil polipeptit kalıntılarının amino gruplarıyla reaksiyona girebilen ve böylece indirgenebilir *Schiff* bazlı çapraz bağlar oluşturabilen iki aldehit grubu içermektedir (Ritter, Bertoli ve Swift, 2001).

Yapılan bir çalışmada, GA'ya maruz kalmanın dentin kollajen sertliğinde geri dönüşümsüz bir artış ürettiği gösterilmiştir (Maciel, Carvalho, Ringle, Preston, Russell ve Pashley, 1996). Daha sonra restorasyon prosedürlerinde %5 GA, %35 HEMA ve %60 su içeren ticari bir GA bazlı duyarsızlaştırıcı (Gluma- Heraeus Kulzer GmgH, Almanya) test edilmiştir, tedavi

edilen arayüzlerde endojen insan dentin MMP'lerinin inhibisyonu ve gelişmiş dentin-adeziv bağ stabilitesi bulgulanmıştır (Sabatini, Scheffel, Scheffel, Agee, Rouch, Takahashi, Breschi, Mazzoni, Tjaderhane, Tay ve Pashley, 2014).

Bununla birlikte, HEMA'nın GA'nın bağlanma üzerindeki etkileri konusunda tartışmalar ortaya çıkmıştır. Daha sonraki çalışmalar, saf GA'nın, dentinin elastik modülülünü ve bakteriyel kollajenaz bozulmasına karşı direncini önemli ölçüde geliştirdiğini doğrulamıştır. Özellikle, %25'e kadar daha yüksek konsantrasyonlar, elastik modülünde daha hızlı bir artış sağlamış ve %10, yaygın olarak kullanılan %5 konsantrasyona kıyasla daha iyi bir kollajen bozunma direncine yol açmıştır (Xu ve Wang, 2011; Walter, Miguez, Arnold, Pereira, Duarte ve Yamauchi, 2008). Restoratif prosedürlerde primer olarak kullanılan GA uygulaması, adeziv solvent (aseton veya etanol bazlı) ve dentin koşullarından (kuru veya ıslak) bağımsız olarak önemli ölçüde artan gerilme bağı mukavemetleri üretmektedir. Ayrıca “çürükten etkilenen” dentine bağlanmada da etkili olduğu bulunmuştur (Macedo, Yamauchi ve Bedran-Russo, 2009; Pinto, Berger, Cavalli, Bedran-Russo ve Giannini, 2015). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada GA ön tedavisinin, muhtemelen kollajenin mineralizasyonunu indükleyebilen karbonil gruplarının doğrudan etkilemesinden dolayı kollajen üzerine hidroksiapatit çekirdeklenmesi için afinite alanları sağlayabildiğini ve bu nedenle dentin remineralizasyon sürecini teşvik etmek için potansiyel bir strateji olabileceğini ortaya koymuştur (Chen, Mao, Sun, Chen, Wang, Pan, Tang ve Gu, 2016).

Gluteraldetin mekanik özelliklerini geliştirerek ve biyolojik dokularda kollajen bozulmasını önleyerek kollajen stabilitesini arttırdığı yaygın olarak kabul edilmiş olsa da sitotoksitesi ile de bilinmektedir (Hass ve diğerleri, 2016). Bu nedenle, klinik olarak uygulanabilir biyouyumluluk ve uygulama süresine ilişkin güvenli zaman çerçeveleri elde etmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Cai ve diğerleri, 2018).

Etil-3- [3-dimetilaminopropil] Karbodiimid Hidroklorür (EDC)

Etil-3- [3-dimetilaminopropil] Karbodiimid Hidroklorür (EDC), sıfır uzunluklu bir çapraz bağlama maddesidir. Çapraz bağlanma etkisinin mekanizması, peptitlerde glutamik ve aspartik asit kalıntılarının karboksilik asit gruplarının O-asilisourea grupları vererek aktivasyonunda yer almaktır. Genellikle, kollajen matriksine eklenen çapraz bağların sayısını arttırmak ve aktifleştirilmiş karboksil gruplarının hidrolizini önlemek için EDC

içeren çözeltiye N-hidroksisüksinimid (NHS) eklenir (Bedran-Russo, Vidal, Dos Santos ve Castellan, 2010).

Etil-3- [3-dimetilaminopropil] Karbodiimid Hidroklorür'e maruz kalmanın dentinin elastik modülünü önemli ölçüde arttırdığı ve 12 aylık su depolamasından sonra bile kollajenin bozunma oranını azalttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, tedavi süresi klinik olarak pratik olmayan 1 saate kadar uzar. Bu nedenle, daha sonraki çalışmalar uygulama sürelerini kısaltmayı amaçlamıştır (Bedran-Russo ve diğerleri, 2010).

Daha yüksek bir EDC konsantrasyonu, matrikse bağlı dentin proteinazları ve çözünür rekombinant insan MMP-9'unu (rhMMP-9) 30-60 saniye gibi daha kısa tedavi süresi ile inaktive edebilmiştir (Scheffel, Hebling, Scheffel, Agee, Cadenaro, Turco, Breschi, Mazzoni, Costa ve Pashley, 2014). Etkinin konsantrasyona bağlı olduğu gözlenmiştir (Mazzoni ve diğerleri, 2014). Kollajenin stabilitesinin dolaylı bir göstergesi olarak, EDC tedavisinden sonra dentin kollajeninin termal denatürasyon sıcaklığı incelenmiş ve sıcaklığın artması daha dirençli ve çapraz bağlı bir kollajen ağını göstermiştir (Cadenaro, Fontanive, Navarra, Gobbi, Mazzoni, Di Lenarda, Tay, Pashley ve Breschi, 2016).

Yapılan bir araştırmada EDC, bağlanma prosedürlerinde hibrid tabakaya dahil edildiğinde, test edilen iki *etch&rinse* adeziv sisteminin (Adper™ Scotchbond™ 1 XT-3M ESPE, ABD ve Optibond FL™-Kerr, ABD) bağlanma gücünü kısa vadede etkilemediği bulgulanmıştır (Mazzoni ve diğerleri, 2014). Hidroliz veya eksik rezin infiltrasyonu, adeziv veya hibrid tabakada kusurlar bırakabilir, bu da yorgunluk ve çatlak büyümesi nedeniyle döngüsel yükleme altında rezin-dentin bağının bozunmasına neden olabilir. EDC tedavisi, bağlı bir dentin örneğinin 6 aylık saklama sonrasında yorgunluk çatlak büyümesine karşı direnci önemli ölçüde arttırmıştır (Zhang, Beitzel, Majd, Mutluay, Tezvergil-Mutluay, Tay, Pashley ve Arola, 2016).

Klinik olarak daha güvenilir sonuçlar elde etmek için, son araştırmalar kollajen yıkımı ile ilgili koşulları simüle etmeye çalışmıştır. Yapılan bir çalışmada dentin matrikslerini siklik çığneme yüklerine maruz bırakarak insan çığneme kuvvetlerinin dinamik ve fizyolojik koşulları simüle edilmiştir. MMP'ler ve sistein katepsinleri tarafından matriks degradasyonunun inhibisyonunu gösteren daha az miktarda çözündürülmüş tip I kollajen C-terminali çapraz bağlı telopeptitler (ICTP) ve çözündürülmüş C-terminal telopeptitleri

(CTX) elde edilmiştir. Bu nedenle, EDC'nin çiğneme simülasyonu ile oluşturulan bu dinamik yaşlanma prosedürlerinden sonra kollajen koruma potansiyeline sahip olduğu ileri sürülmektedir (Turco, Frassetto, Fontanive, Mazzoni, Cadenaro, Di Lenarda, Tay, Pashley ve Breschi, 2016).

Gluteraldehit ile EDC karşılaştırıldığında, çapraz bağlayıcıdaki salınan üre türevi kollajenden kolayca durulandığından EDC daha düşük sitotoksikite göstermektedir. Böylece artık kimyasal bırakmadığı düşünülmektedir (Mazzoni, Angeloni, Apolonio, Scotti, Tjaderhane, Tezvergil-Mutluay, Di Lenarda, Tay, Pashley ve Breschi, 2013b). Bununla birlikte, EDC'nin pulpal dokular için toksik olmadığını test etmek için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.3.5. Doğal Türetilmiş Çapraz Bağlayıcılar

Her ne kadar dentinde kollajenin çapraz bağlanmasını artırmak için sentetik ajanlar kullanılmış olsa da toksisiteleri ve zaman içindeki kararsızlıkları kullanımlarını sınırlandırmıştır. Son zamanlarda, bitki kaynaklı çapraz bağlayıcılar, dentinin mekanik özelliklerinin artırılmasında ve proteazların inhibisyonu ile biyodegradasyonunun kontrol edilmesinde etkili olduğu araştırılmış ve kanıtlanmıştır. Daha da dikkat çeken bir husus, bu doğal olarak türetilmiş çapraz bağlama maddeleri tarafından dentin biyomodifikasyonunun çürüklerin önlenmesi ve dentin remineralizasyonu üzerinde önemli etkileri olmasıdır (Cecchin, Pin, Farina, Souza, Vidal, Dal Bello, Ferraz ve Bedran-Russo, 2015). Bitki kaynaklı çapraz bağlayıcıların çoğu, amfifilik özelliklere sahip bir hidroksil grubu taşıyan bir fenil halkası içeren polifenolik flavonoidlerdir. Bu iki işlev, kollajen gibi proteinlerle fiziksel olarak etkileşime girme yeteneklerini açıklamaktadır (Cai ve diğerleri, 2018).

Proantosiyanidin (PA)

Proantosiyanidin (PA), flavanollere (flavan-3-ols olarak da adlandırılır) dayalı kimyasal yapısı ile biyo-flavonoid polifenol bakımından zengin bir ajandır (Castellan, Pereira, Grande ve Bedran-Russo, 2010). Meyvelerde, sebzelerde, sert kabuklu yemişlerde, tohumlarda ve çiçeklerde yaygın olarak bulunur, ancak bileşimi oldukça çeşitlidir. Ekstraktların aktivitesi,

biyoaktif bileşiklerin yapısının, stereokimyasının ve içeriğinin karmaşıklığı ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Aguiar ve diğerleri, 2014). Örneğin, üzüm çekirdeği ekstresi (Grape Seed Extract, GSE) en etkili PA açısından zengin ajanlardan biri olarak tanımlanmış ve içindeki biyoaktif bileşen galloylated oligomerik PA olarak ayırt edilmiştir. Bir galloil parçasının varlığı, çapraz bağlanma için daha fazla hidroksil grubu sunarak daha iyi bir performans sağlar (Phansalkar, Nam, Chen, McAlpine, Napolitano, Leme, Vidal, Aguiar, Bedran-Russo ve Pauli, 2015). Proantosiyanidin'in dentin içindeki kollajen, kovalent, iyonik, hidrojen bağı veya hidrofobik etkileşimler yoluyla etkileşime girebileceği ve böylece asit uygulanmış kollajen matriksini stabilize edebileceği bildirilmektedir. Ayrıca, proantosiyanidin dentin kollajeni üzerindeki açık alanlarını gizleyerek, MMP'ler gibi proteazlara karşı önleyici etkiler göstermiştir (Deng, Dong, Zhou, Wang, Li ve Xu, 2013).

İlk çalışmalar PA'nın demineralize dentinin mekanik özelliklerini nihai gerilme mukavemeti ve esneklik modülü açısından iyileştirmedeki etkilerini göstermiştir. Geliştirilmiş biyomekanik özelliklere rağmen, PA ile biyomodifikasyon, kollajen biyokimyasını ve proteoglikanları (dentinde kollajenöz olmayan proteinlerin önemli bir grubu) etkilemektedir (Bedran-Russo, Pashley, Agee, Drummond ve Miescke, 2008). Walter ve arkadaşları (2008), PA'nın kollajenaz degradasyonunu azaltma kabiliyeti olduğunu bildirmektedirler. PA'nın hem kollajenazların (örneğin MMP-8) hem de jelatinazların (MMP-2, MMP-9) aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Liu, Fang, Zhang, Tang, Dou ve Chen, 2014). Dentinde sistein katepsinleri adı verilen bir grup proteolitik enzimin yaklaşık %90'ından fazlası, çözünür rekombinant MMP-2, MMP-8 ve MMP-9'u etkin bir şekilde inaktive etmektedir (Epasinghe, Yiu, Burrow, Hiraishi ve Tay, 2013). PA'nın dentini stabilize etme yeteneği ile 15-30 sn'de kollajenolitik bozunmaya dirençli kollajen lifleri elde edilebilir (Liu, Dusevich ve Wang, 2013).

Ek olarak, PA açısından zengin ajanların kök dentin çürüklerinin önlenmesi ve remineralizasyon üzerindeki etkileri özel olarak belirtilmiştir. PA ile tedavi edilen sığır kök dentininin karyojenik bakterilerle inkübasyonu, kök çürük lezyon oluşumunun inhibisyonu ile sonuçlanmıştır (Mazzoni ve diğerleri, 2013b). Ayrıca PA, bir laboratuvar çalışmasında dentin-rezin sınırlarında tekrarlayan çürüklerin gelişimini inhibe etmiştir (Kim, Leme-Kraus, Phansalkar, Viana, Wu, Chen, Pauli ve Bedran-Russo, 2016). Dinamik pH döngü koşulları altında (doğal çürük prosesinde mineral birikimi ve pH değerlerindeki dinamik varyasyonları simüle etmek için kullanılan bir prosedür), PA tedavisi yapay çürük

lezyonların yeniden mineralleşmesini önemli ölçüde teşvik etmiştir. Sonuçlarda önemli ölçüde daha kalın bir tabaka halinde mineral çökmesi ve remineralize lezyonların sertliğinde artış bildirilmiştir. Mekanizması, PA-kollajen etkileşimi ile dentin matriksinin stabilizasyonuna ve florür ile yeniden mineralizasyondan farklı olan PA-kalsiyum komplekslerinin oluşumuna atfedilmiştir. Yüksek PA konsantrasyonları, etkilerinden ödün vermeden tedavi süresini sınırlamayı başarmıştır (da Silva, Goncalves, Borges, Bedran-Russo ve Shinohara, 2015).

Demineralize dentinin PA ile biyomodifikasyonu, Hank'in tamponlu tuz çözeltisinde 6 aylık depolamadan sonra bile, artan elastik modülü ve sertliğe sahip rezin-dentin bağlanma bölgesinde daha güçlü bir hibrid tabaka ile sonuçlanmıştır (Dos Santos, Karo ve Pedran-Russo, 2011). PA ile 1 saat ön-muamele edilen dentin yüzeyleri, bağ kuvvetlerinin artmasına neden olmuştur (Al-Ammar, Drummond ve Bedran-Russo, 2009). Bir fosforik asit çözeltisine PA katılması, dentin aşındırma sırasında kollajeni stabilize eden bir yapı oluşturmuştur. PA içeren deney primerleri, siklik yükleme sonrasında dentin-adeziv arayüzündeki enzimatik aktiviteyi ve ortak proteaz inhibitörü yani klorheksidin (CHX) ile karşılaştırılabilir MMP aktivitesini bozmuştur (Pauli, Silva Sousa, Vidal, Leme-Kraus, Piresde-Souza ve Bedran-Russo, 2016).

Bununla birlikte, numuneler yapay tükürük içine daldırıldığında rezin-dentin bağlarının dayanıklılığında anlamlı bir artış göstermeyen başka bir çalışmada da negatif sonuçlar bildirilmiştir (Epasinghe, Yiu ve Burrow, 2015). PA, hava ile kurutulduktan sonra asitlenmiş dentinin kollajen fibrillerinin tamamen çökmesini önleyebilir ve rezin infiltrasyonu için yeterli alan sağlamaktadır (Zhou, Chiba, Scheffel, Hebling, Agee, Tagami, Tan, Abuelenain, Abu Nawareg, Hassan, Breschi, Tay ve Pashley, 2016).

Proantosiyanidin dezin avantajı ise, işlenmiş yüzeyin renginin değişmesidir. Bu sorunun özüt karışımının moleküler ağırlık fraksiyonunu düşürmek gibi bir modifikasyon ile giderilebileceği öngörülmektedir (Liu, Bai, Li, Liu, Keightley ve Wang, 2015). PA'da tipik olarak monomerik kateşinler veya epikateşinler bulunmaktadır. Tüm kateşinler, birden fazla hidrojen bağı oluşturarak çeşitli proteinlerle etkileşime girebilen fenolik hidroksil grupları içerir. Epigallokateşin gallat (EGCG) gibi kateşinler, galloil yarisından üç komşu hidroksil grubunun varlığı nedeniyle daha büyük bir hidrojen bağlama kapasitesi sergilemiştir (Vidal, Aguiar, Phansalkar, McAlpine, Napolitano, Chen, Araujo, Pauli ve Bedran-Russo, 2014). Yeşil çaydan

(Camellia sinensis) ekstrakte edilen PA, EGCG gibi monomerik PA açısından zengindir. Bu PA kaynağı, MMP'lerin ve sistein katepsinlerinin yüksek düzeyde aktive olduğu çürüklerden etkilenen dentin ile bağ dayanıklılığını önemli ölçüde artırabilmektedir. Ayrıca, yeşil çayın ana bileşenini içeren bir çözeltinin uygulanması, dentin kollajen fibrillerinin stabilize edilmesinde ve proteolitik bozulmaya karşı direncinin artırılmasında etkili olmuştur (Carvalho, Fernandes, Freitas, Franca, Basting, Turssi ve Amaral, 2016).

Diğer Polifenolik Flavonoidler

Proantosiyanidin'in yanı sıra dentine uygulanan başka polifenolik flavonoidler de vardır. Tannik asit (TA), planlı bir polifenoldür ve çok hücreli glikoz esterlerinin karmaşık bir karışımından oluşur. TA'nın hidroksil grupları ile kollajenin amid grupları arasında hidrojen bağları oluşabilmektedir. Dentin üzerinde TA tedavisi enzimatik bozunmayı azaltmakta, mekanik özellikleri ve rezin-dentin bağlanma kuvvetlerini önemli ölçüde arttırmaktadır (Bedran-Russo, Yoo, Ema ve Pashley, 2009).

Hesperidin (HPN)

HPN, flavanon alt grubuna ait narenciye meyvelerinden ekstrakte edilen bir glikozit flavonoiddir. Flavanon ve kollajen fibrilleri arasındaki etkileşim mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte hesperidin bir fenolik flavonoid olarak kategorize edildiğinden diğer flavonoidlerin çapraz bağlama etkisi ile aynı şekilde açıklanabilir (Hiraishi, Sono, Sofiqul, Yiu, Nakamura, Otsuki, Takatsuka ve Tagami, 2013). Benzer etkiler, flavanon olarak da kategorize edilen naringin'de de bulunabilir. Çalışmalar HPN'nin proteolitik enzimlere karşı kollajen bozunmasını önleme potansiyelini göstermiştir (Islam, Hiraishi, Nassar, Yiu, Otsuki ve Tagami, 2012). % 2HPN içeren *self-etch* sistemin, anında ve uzun süreli (yapay tükürükte 1 yıl depolama) mikrotensil bağ gücünü (ITBS) önemli ölçüde geliştirdiği bulgulanmıştır (Cai ve diğerleri, 2018).

Genipin (GNP)

Genipin (GNP), Gardenia Jasminoides Ellis'in meyvesinden çıkarılan bir genipositin hidrolitik ürünüdür. GNP, kollajen molekülleri içindeki primer amin grupları ile reaksiyona girerek çapraz bağlar oluşturabilir. GNP'nin sıgır dentin üzerinde test edilmesi sonucunda kollajen fibrillerin

enzimatik sindirime karşı direncini konsantrasyon ve zamana bağlı olarak önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir (Nagaoka, Walter, Boushell, Miguez, Burton, Ritter ve Yamauchi, 2014). Ayrıca, insan dentininin GNP ile kimyasal modifikasyonu, nihai gerilme mukavemeti ve adeziv restorasyonlarda bağ mukavemetinde önemli bir artış ile sonuçlanmıştır. Bununla birlikte, pigmentasyon etkileri nedeni ile tedavi edilen dentin yüzeyinin boyanmasına yol açabilmektedir. Bu durum da estetik kaygılar nedeniyle klinik kullanımlarda bir sınırlama getirmektedir (Bedran-Russo, Pereira, Duarte, Drummond ve Yamauchi, 2007).

Riboflavin (B2 vitamini)

Kimyasal etkileşimlerle çapraz bağlanmayı arttıran yukarıda bahsedilen çapraz bağlayıcılar dışında, son çalışmalar, çapraz bağlanma için fiziksel bir yöntem, yani foto-oksidatif rapor etmiştir. Riboflavin, bu yöntemde kullanılan bir çapraz bağlayıcıdır. Ultraviyole ışık A'nın (UVA ışığı) emilmesi ile riboflavin, reaktif oksijen radikalleri üreten, dolayısıyla bir kollajen ağının etkili fiziksel çapraz bağlanmasına neden olan bir zemin hazırlar (Cai ve diğerleri, 2018).

UVA ile aktive edilen riboflavinin, hem asit uygulanmış hem de uygulanmamış dentinin mekanik özelliklerini arttırabildiği kanıtlanmıştır (Liu, Zhou, Chen, Yang ve Tan, 2015).

Dentinal kollajeni çapraz bağlamak için riboflavin deneysel olarak bir primere dahil edildiğinde, dentine derhal bağlanma gücünü arttırdığı ve yaşlandırılan örneklerde yüzeyler arası nanosızıntı ve MMP aktivitesini azalttığı bildirilmiştir. Uygulama için klinik olarak daha kabul edilebilir bir zaman dilimi elde edebilmesi için daha yüksek bir konsantrasyonda kullanıldığında, dentinde sarımsı bir renk değişikliğine yol açmıştır (Fawzy, Nitisusanta, Iqbal, Daood, Neo, 2012). Ayrıca, UVA ışık kaynaklarının güvenlik sorunları ve klinik pratikliği ile ilgili endişeler vardır. Riboflavinin sitotoksik potansiyeli konusu ise halen tartışmalıdır (Cai ve diğerleri, 2018).

2.4. Deproteinizasyon

Asit uygulaması ile dentin demineralizasyonu karışık ve yüzeysel bir prosedür olmakla birlikte dentin dokusunda smear tabakası kaldırılarak 3-7,5 µm arasında bir kollajen örgü açığa çıkmaktadır. (Pioch, Staehle, Duschner ve García-Godoy, 2001). Klinik olarak, uygun bir dentin bonding için ideal senaryo demineralize dentinin tüm uzantılarına homojen olarak rezinin penetrasyonu, çözücü/su buharlaşması ve rezin monomer polimerizasyonu

sonucunda hibrid tabaka oluşmasıdır. Ancak bu prosedür teknik hassasiyet gerektirmekte ve klinik başarıyı etkilemektedir. Araştırmacılar hibrid tabaka varlığının dentine adezyon açısından dezavantajları olabileceğini bildirmişlerdir. Nanosızıntı terimi 1995 yılında Sano tarafından marjinal boşlukların yokluğunda var olan spesifik bir sızıntı olarak tanımlanmıştır. Bu sızıntı hibrid tabakanın altında adeziv rezinin tamamen infiltre olmadığı ve polimerizasyonun zayıf olduğu submikron poröziteler yoluyla lateral olarak oluşur (Sano, 2006). Ayrıca bağlanmayı etkileyen hibrid tabakanın altındaki nonkapsüle kollajen hidrolitik bozunmaya hassastır ve bond stabilitesini tehlikeye atabilir. Araştırmacılar *asit-etch*’ den sonra açığa çıkan kollajenin çeşitli ajanlarla uzaklaştırılmasının (deproteinizasyon) dentin dokusunda da hibrid tabaka oluşumundan bağımsız, mineye benzer mikromekanik adezyona olanak sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

Dentin substratının modifikasyonu, dentin deproteinizasyonu olarak bilinen asitle pürüzlendirilmiş dentin üzerinde proteolitik ajanların kullanılmasıyla gerçekleştirilebilir. Bu uygulama, dentinal substratın organik içeriği ile ilgili olumsuz sonuçları ortadan kaldırmayı amaçlamıştır. Bu bağlamda deproteinizasyonun dentin adeziv prosedürlerinde teknik hassasiyeti azaltabileceği; mikrosızıntı, makaslama ve çekme kuvvetlerinde süregelen artış sağlayabileceği öne sürülmektedir. Dolayısıyla hatalı dentin bonding prosedürleri sonucu oluşan post-operatif hassasiyet gibi klinik semptomların azalabileceği öngörülmektedir (Chauhan, Siddaveerappa, Basavanna ve Shivanna, 2015).

2.4.1. Dentin Deproteinizasyonu Amacıyla Kullanılan Ajanlar

Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

Hipoklorit, ilk kez 1789 yılında Fransa, Javelle’ de klorin gazının sodyum karbonat solüsyonu içinden geçirilmesiyle üretilmiştir. Zayıf bir NaOCl solüsyonu olan bu likit ‘Javelle suyu’ olarak da bilinmektedir. Çoğunlukla hastane antiseptisi için kullanılan NaOCl’ nin %0,5 lik tamponlanmış şekli olan “Dakin solüsyonu” 1. Dünya Savaşı sırasında yaraların dezenfeksiyonu için bulunarak kullanılmıştır. Daha sonra Coolidge tarafından endodontiye tanıtılan NaOCl, 1920’ den beri kanal irrigantı olarak kullanılmaktadır (Kaya, 2012).

Hipoklorit iyonu (OCl^-) hipokloröz asitle (HOCl) denge kurar. Mikrobiyal hücrelerin vital fonksiyonlarını yok ederek hücre ölümüne neden olan hipokloröz asit, solüsyonun antibakteriyal aktivite göstermesini sağlar. Organik doku ile temasta olan hipokloröz asit çözücü olarak görev yapar ve proteinlerin amino grupları ile birleşen klorini salarak hücre metabolizmasını bozan kloramini oluşturur. Bakteriyel enzimler için gerekli sülfidril gruplarını (SH) geri dönüşümsüz olarak okside eden klorin, bakteriyel enzimlerin bozulmasına neden olarak antimikrobiyal aktivite gösterir. NaOCl 'nin antimikrobiyal etkinliği yüksek pH' sından (hidroksil iyonların aktivitesi) kaynaklanır. Yüksek pH, geri dönüşümsüz enzimatik yıkımla stoplazmik membran bütünlüğünü bozar, hücresel metabolizmada biyosentetik değişimlere ve fosfolipid yıkımına neden olur (Estrela, Estrela, Barbin, Spano, Marchesan, Pecora, 2002).

Sodyum hipokloritin, organik ve yağ çözücü olduğu, yağ asitlerini yüzey gerilimini azaltan sabun ve alkole dönüştürdüğü, aminoasitleri de nötralize ederek su ve tuza dönüştürdüğü bildirilmiştir. Organik dokuların NaOCl çözeltileri ile çözülmesi, klorürün proteinler üzerindeki etkisine dayanır ve suda çözünebilen kloraminler oluşturur. Böylece özellikle kollajen fibriller olmak üzere dentinin organik bileşenlerini ortamdan uzaklaştırmakta ve yapılandırmayı değiştirmektedir (Inai, Kanemura, Tagami, Watanable ve Marshall, 1998).

Organik doku ile temas ettiğinde NaOCl 'nin fiziko-kimyasal özellikleri göz önüne alındığında, bu reaksiyonlar doğrulanmaktadır. NaOCl güçlü bir bazdır ($\text{pH} > 11$). NaOCl %1 konsantrasyonda, 75 din / cm^2 'ye eşit bir yüzey gerilimi, 1,04 g / cm^3 yoğunluk ve 1 saat 27 dakikaya eşit nemlendirme kapasitesi sunmaktadır (Estrela ve diğerleri, 2002). Bu özelliklerden yola çıkılarak adezyona olumlu yönde etki eden bir yol bulunmaya çalışılmıştır. Solüsyonun dentinin organik yapısında yıkıma neden olması dentinin mekanik özelliklerini etkileyebilmektedir. Bu ajan ile tedavi edilen dentin ekspoz olmuş hidroksiapatit kristallerinden ve minerallerden zengin olmakla birlikte, uzun vadede daha stabil arayüzler oluşturabilen bir yapıya sahiptir. NaOCl tedavisi ile kollajenin uzaklaştırılması ile restorasyonların uzun ömürlü olmasında rolü olduğu düşünülen adeziv tabakasının bozunum riskinin azaltılacağı düşünülmektedir.

Ekspoz olan kollajen fibrilleri göz önüne alındığında NaOCl bilinen iki mekanizma ile dentin deproteinizasyonunu teşvik ederek, korunmasız kollajen ağ fibrillerinin çıkarılması

yolu ile adezyona müdahale edebilmektedir. (Nima, Cavalli, Bacelar-Sá, Ambrosano ve Giannini, 2020).

Deproteinize edici çözeltilerin (NaOCl veya kollajenaz) kullanımı, ekspozе kollajen fibrillerini çözerek dentin yüzey ultramorfolojisini değiştirir. Ayrıca lateral dentin kanalları açığa çıkar ve dentin tübülleri daha güçlü bir yapıya dönüşür. Bu durum da dentini, karakteristik olan asitle pürüzlendirilmiş mineye benzer bir hale getirerek adezyonu olumlu yönde etkiler. Bu çoklu düzensizlik gösteren modifiye edilmiş dentin yüzeyi, adezivin dentine de mekanik olarak tutulması ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca, dentin yüzeyindeki ekspozе kollajen fibrilleri, mineralize dentinden daha düşük yüzey enerjisine sahiptir. Bu durum da dentinin ıslanabilirliğini ve monomerin daha iyi infiltre olabilmesini sağlayacak substrat serbest enerjisini artırabilmektedir (Abuhaimed ve Abou Neel, 2017; Saboia ve diğerleri, 2008; Yamazaki, Bedran-Russo ve Pereira, 2008).

Yapılan bir çalışmada, asitle aşındırılmış yüzeyden kollajen fibrillerin, %12'lik NaOCl uygulaması ile tamamen çıkarılabildiği bulgulanmıştır. Dentinal tübüllerin çapı, boyutu ve tübüllerin lateral dallarının sayısının NaOCl tedavisinden sonra arttığı ve ayrıca rezin infiltrasyon alanının daha büyük olduğu görölmüştür. Araştırmacılar, asitle pürüzlendirme işleminin ardından dentin yüzeyine NaOCl uygulaması yapıldığı takdirde, hibrid tabaka oluşumundan bağımsız olarak daha yüksek bağlanma kuvvetlerine ulaşılabileceği sonucuna varmışlardır. Bu prosedürlerin, rezin-dentin bağlanma bölgelerinin kimyasal bozunmaya karşı direncini arttırdığı ve daha dayanıklı rezin-dentin bağlarına neden olabileceği bildirilmiştir (Salvatore, Francesco, Manuel, Raquel, David ve Timothy, 2009).

Çalışmalar sonucunda, %10 NaOCl'nin insan dentinine uygulanmasının, dentin tübülleri ve dentin lateral dallarının açığa çıkmasını sağladığı, yüzey pürüzlülüğünü arttırdığı ve daha iyi mekanik retansiyona izin veren çoklu düzensizliklere sahip gözenekli bir yapı oluşturduğu bulunmuştur (Abuhaimed ve Abou Neel, 2017; Saboia, Nato, Mazzoni, Orsini, Putignano, Giannini ve Breschi, 2008). Silva ve arkadaşları dentinde asitleme sonrası %10 NaOCl ile deproteinizasyon yapılmasının 6 aylık dönemde bağlanma kuvvetine etkisini araştırdıkları çalışmada; deproteinizasyon işleminin adeziv sistemlerin dentine bağlanma gücünü arttırdığını bildirmektedir (Silva, Barcellos, Pucci, Borges ve Torres, 2009).

Birçok çalışma, NaOCl'in dentinin organik bileşenlerini çözme yeteneğinin konsantrasyona ve zamana bağlı olduğunu bildirmiştir (Abuhaimed ve diğerleri, 2017; Gu, Huang, Griffin, Bergeron, Pashley ve Tay, 2017). Sauro ve diğerleri, intertübüler ve intratübüler dentin bölgelerinde 2 dakika %12 NaOCl uygulamasının kollajen fibrilleri çözdüğünü ancak uzun süreli uygulama sonucunda %12 NaOCl'nin ortamdan tamamen uzaklaşmadığını ve buna bağlı olarak adezyon kuvvetinin azalmasından uygulama süresinin sorumlu olabileceğini göstermişlerdir (Sauro ve diğerleri, 2009).

Bazı yazarlar, dentin'in NaOCl çözeltileri ile tedavisinin sadece organik kollajen matriksini değil, aynı zamanda dentin'i normalden daha zayıf hale getiren mineral içeriğinin bir kısmını da çıkarabileceği için dentin deproteinizasyonunun bağlanma prosedürünü olumsuz etkilediğini bildirmiştir (Saboia ve diğerleri, 2008). Araştırmacılar bildirilen sonuçlardaki farklılıkların çalışmalarda kullanılan adeziv sistemlerinin içerik ve kimyasal yapılarından kaynaklanabileceğini rapor etmişlerdir (Barbosa de Souza, Silva, Guenka Palma Dibb, Sincler Delfino ve Carneiro de Souza Beatrice, 2005; Xiong, Chen, Wang ve Zhang, 2006). Genel olarak, çalışmalar aseton bazlı adezivlerin etanol bazlı olanlara kıyasla daha iyi bir performans sergilediğini göstermiştir (Dayem, 2010; Ravishanker ve Chaitanya, 2012).

Aseton bazlı adezivlerin, deproteinize/demineralize edilmiş dentinde monomer difüzyonunu etkileyebildiği bildirilmektedir. Asetonun yüksek su deplasman kapasitesi ve daha iyi monomer difüzyonu, uzun ve sağlam rezin infiltrasyonu ile dentin ve adeziv monomerler arasında yakın bir etkileşime yol açabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, fosforik asit ester (PENTA) içeren aseton bazlı sistemlerin, fosfat terminalleri deproteinizasyondan sonra dentin yüzeyinde kalan kalsiyum iyonları ile etkileşime girebildiğinden, adezyonu önemli ölçüde artırmaya eğilimli olduğunu göstermiştir (Pucci, Barbosa, Bresciani, Yui, Huhtala, Barcellos ve Torres, 2016; Ravishanker ve Chaitanya, 2012). Benzer şekilde 2020 yılında Nima ve diğerleri, fosforik asit ester (PENTA) içeren aseton bazlı sistemlerin, *self-etch* adezivlerin stratejisine benzer şekilde deproteinizasyondan sonra dentin yüzeyinde adezyonu önemli ölçüde artırmaya eğilimli olduğunu bildirmişlerdir (Nima ve diğerleri, 2020). Diğer taraftan dentin deproteinizasyonun, etanol bazlı adezivlerin bağlanma dayanımını azaltabileceği rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalar, etanol bazlı adezivlerin deproteinize dentinin içine aseton bazlı sistemler kadar düzgün şekilde infiltre olamadığını bulgulanmıştır. Deproteinizasyon prosedüründen bağımsız olarak etanol bazlı adezivler sadece asitle pürüzlendirilmiş dentin yüzeyine uygulandığında, oluşan rezin

infiltrasyonunun daha gözenekli ve kırılgan görüldüğü belirtilmektedir (Pimenta, Amaral, Bedran De Castro ve Ritter, 2004).

NaOCl ile dentin tedavisinin ana amacı, dentin tübüllerinin ve lateral dentin kanallarının açılmasını arttıran, polimerize rezinin dentin içine daha fazla nüfuz etmesine izin veren intertübüler ve peritübüler dentinin organik içeriğinin çıkarılmasıdır (Pioch ve diğ., 2001). Ayrıca NaOCl, dentin yüzey gerilimini azaltarak asitle aşındırılmış dentin ile karşılaştırıldığında hidrofobik monomerlere nüfuz etmeyi ve uyumluluğu iyileştirebilir (Dayem, 2010; Pioch ve diğerleri, 2001).

Bununla birlikte, bazı çalışmalar NaOCl'in polimerizasyon sırasında üretilip yayılan vinil serbest radikalleri erken zincir sonlandırmasına etki ederek, adeziv rezinin eksik polimerizasyonuna neden olabileceğini rapor etmiştir. (Abuhaimed ve Abou Neel, 2017; Wang, Feng, Gao, Wang M., Wang, Y., Sa ve Jiang, 2017). NaOCl güçlü bir biyolojik oksidan olup sulu çözeltide polimerizasyon reaksiyonunu ve dentine adezyonu tehlikeye atmaktan sorumlu olan süperoksit radikalleri oluşturur (Abuhaimed ve Abou Neel, 2017).

Aguilera ve arkadaşları asitlenen ve asitleme sonrasında NaOCl ile deproteinize edilen dentinde tek aşamalı aseton bazlı adeziv sistem kullanılarak sağlanan dentin bağlantısını ultramorfolojik olarak ve bağlanma gücü açısından değerlendirmişlerdir. Adeziv sistem ve kompozit materyalin uygulanmasından sonra bağlanma kuvveti ölçümleri yapıldığında istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark bulgulanmamıştır. Derin dentinde bağlantı her açıdan daha zayıftır. SEM ile yapılan ultramorfolojik incelemelerde ise asitleme sonrası NaOCl ile yapılan deproteinizasyon işleminin hibrid tabaka olmaksızın daha uzun ve yoğun rezin tagları oluşumunu sağladığı rapor edilmiştir. Bu sonucun tek aşamalı *self-etch* sistemlerinin kullanımında uygulanan %5'lik NaOCl konsantrasyonu ve uygulama süresinden kaynaklanabileceği, fakat konuyla ilişkin ileri çalışmaların yapılması gerekliliği vurgulanmaktadır (Aguilera, Osorio, Osorio E., Moura, Toledano, 2012).

Asitlenmiş dentinin deproteinizasyonu için NaOCl kullanımının çeşitli dezavantajları vardır. Kötü tad ve koku ile birlikte sitotoksik özelliğe sahip olan NaOCl, aynı zamanda kırılgan bir zon oluşturmaktadır. Dentinal derinlik arttıkça NaOCl'nin olumsuz özellikleri de artmaktadır. Yürütülen çalışmalarda kullanılan malzemelerin konsantrasyonu, uygulama süresi ve uygulanan adeziv çeşitliliğine göre sonuçların farklılık göstermesine ve olumsuz

özelliklerine rağmen dentin deproteinizasyonu için en sık kullanan ajan NaOCl'dir. Ancak mevcut dezavantajlar araştırmacıların deproteinizasyon için daha farklı ajanları araştırmaya yönelmesi ile sonuçlanmıştır.

Kalsiyum Hipoklorit (Ca[OCl]₂)

Kök kanal sistemlerinin irrigasyonu için alternatif olarak sunulan çözeltilerden biri de kalsiyum hipoklorittir (Ca[OCl]₂). Bu çözelti nispeten kararlı bir madde olup, genellikle endüstriyel sterilizasyon ve su arıtma işlemleri için kullanılır. CaOCl, kabul edilebilir sitotoksikite ve biyoyumluluk özelliğine sahip antibakteriyel bir maddedir ve NaOCl'ye eşdeğer yumuşak doku çözünmesini destekler. Yüksek alkalinite gösterir ve NaOCl'den daha yüksek miktarda klor (% 65'e varan klor içeriği) içerir (Seballos, Barreto, Rosa, Machado, Valandro ve Kaizer, 2018).

Nispeten stabil olan Ca(OCl)₂ granül halinde bulunur ve taze hazırlanmış sulu bir solüsyonda reaksiyon oluşur: $\text{Ca (OCl)}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} / 2 \text{HOCl} + \text{Ca (OH)}_2$ (Duttan ve Saunders, 2012).

NaOCl ve Ca(OCl)₂, kök kanalı dezenfekte edici potansiyele sahiptir. Bu çözeltilerdeki mevcut klor, antimikrobiyal aktivitelerini ve esas olarak kollajen olmak üzere dentinal yapıyı değiştirme yeteneklerini açıklamaya yardımcı olabilir (Seballos ve diğerleri, 2012).

Ca(OCl)₂ çözeltileri NaOCl'den daha yüksek konsantrasyonlara ulaşabilir ve yağ asitleri üretmez. Ayrıca, bileşiminde sodyum yerine hibrid tabakaya dahil edilmesi varsayımsal olarak daha elverişli olan kalsiyum mevcuttur (Ferreira, Carlini, Galafassi ve Gobbi, 2015). Mountouris ve arkadaşları'nın (2004), dentin deproteinizasyonunda NaOCl'ye alternatif bir madde araştırmasında, NaOCl'ye göre olası avantajlar sunduğu için, kalsiyum hipoklorit önerilmiştir (Mountouris, Silikas ve Eliades, 2004).

Yapılan bir çalışmada, Ca(OCl)₂ ile dentin deproteinizasyonunun dentin yüzeyinin morfolojisi ve adeziv/dentin arayüzü üzerindeki etkisini araştırmak ve farklı konsantrasyonlarda kalsiyum hipoklorit ile önceden muamele edilmiş sınıf V kaviterlerde kompozit rezin restorasyonlarının marjinal sızıntısı değerlendirilmiştir. Sonuç olarak Ca(OCl)₂'nin dentin deproteinizasyonunda etkili olduğu fakat araştırılan parametrelerde

NaOCl ile arasında anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmektedir (Ferreira ve diğerleri, 2015).

Dentin deproteinizasyonunda alternatif bir solüsyon olan $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 'in kullanımı konusunda az sayıda çalışma mevcut olup, daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Bromelain Enzimi

On altıncı ve on yedinci yüzyıllarda ananas bitkileri Asya Pasifik Ülkeleri'ne tanıtılmıştır. Bromelain, ananastan (*Ananas cosmosus*) türetilen proteolitik enzimlerin doğal bir karışımıdır ve kayda değer terapötik özelliklere sahiptir (Rathnavelu, Alitheen, Sohila, Kanagesan ve Ramesh, 2016). Birkaç yerli kültürde ananas tıbbi bir bitki olarak kullanılmıştır ve bu tıbbi nitelikler meyvenin içeriğindeki bromelain enzimine atfedilmiştir. Bromelain diğer bileşiklerin yanı sıra *in vitro* ve *in vivo* çeşitli fibrinolitik, antiödematöz, antitrombotik ve antienflamatuar aktiviteler sergileyen ananastan elde edilen ham bir ekstrattır. Bromelain 1875'ten beri kimyasal olarak bilinmektedir ve fitomedik bir bileşik olarak kullanılmaktadır (Pavan, Jain, Shraddha, Kumar, 2012).

Çeşitli sağlık sorunları için halk sağlığında uzun yıllardır kullanılan bromelain'e ilgi devam etmektedir. Bromelain'in potansiyel terapötik değeri, biyokimyasal ve farmakolojik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Ham bromelain'deki ana bileşenler; mineraller, renkli pigmentler, proteaz inhibitörleri, organik asitler ve organik çözücüler gibi çözünmeyen materyaller ve proteolitik bir enzim olan glikoproteindir (Rathnavelu ve diğerleri, 2016). Şimdiye kadar, proteolitik olarak aktif sekiz bileşen bromelain'den izole edilmiştir. Proteinazların toplam proteinlerin yaklaşık %2'sini oluşturan en aktif fraksiyon olduğu düşünülmektedir (Hale, Greer, Trinh ve James, 2005). Bromelain, aktivitesini 4,5 ila 9,5 pH aralığında gerçekleştirmektedir. Bromelain'i çeşitli yöntemler kullanarak izole etmek ve saflaştırmak mümkündür. Ticari kullanım için bromelain, santrifüjleme, ultrafiltrasyon ve liyofilizasyon ile hazırlanır. Bromelain'in bileşimi, saflaştırma yöntemine ve kaynağa göre değişir; sap bromelain meyveden elde edilen bromelain ile karşılaştırıldığında yüksek miktarda proteaz içeriği içerir. Bromelainin fizyolojik aktivitesinin çoğunun tek proteolitik fraksiyondan kaynaklanmadığı ve bromelain'in faydalı etkilerinin birden fazla faktöre bağlı olduğu gösterilmiştir. Bromelain sadece çeşitli sağlık sorunlarını tedavi etmek için değil,

aynı zamanda sağlığı teşvik etmek için bir besin takviyesi olarak da popülerdir (Rathnavelu ve diğerleri, 2016).

Bromelain için trombosit agregasyonunun geri dönüşümlü inhibisyonu, sinüzit, cerrahi travmalar, tromboflebit, piyelonefrit anjina pektoris, bronşit ve ilaçların, özellikle antibiyotiklerin gelişmiş emilimi gibi çok çeşitli terapötik faydalar iddia edilmiştir. Bromelain'in yararlı fitomedik uygulamaya sahip olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak, bu sonuçlar henüz birleştirilmemiştir ve bromelainin fitolojik bir takviye olarak geniş kabul görüp görmeyeceğini ortaya koymak için eleştirel olarak karşılaştırılmamıştır. Farelerdeki deneyler, sodyum bikarbonat gibi antiasitlerin, gastrointestinal sistemde bromelain'in proteolitik aktivitesini koruduğunu göstermiştir. Bromelain kabul edilir gıda takviyesi olarak, ABD ve Avrupa'daki sağlık gıda mağazalarında ve eczanelerde halkın erişimine açıktır. Mevcut kanıtlar, *bromelain* 'in onkoloji hastaları için gelecekteki oral enzim tedavilerinin geliştirilmesi için umut verici bir aday olabileceğini göstermektedir (Pavan ve diğerleri, 2012).

Bromelain, insan bağırsaklarında bozulma olmadan ve biyolojik aktivitesini kaybetmeden emilebilmektedir. Ayrıca yaklaşık 6-9 saat yarılanma ömrü ile biyolojik olarak aktif kalır. En yüksek bromelain konsantrasyonu, uygulamadan bir saat sonra kanda tanımlanmıştır. Bromelain biyoyararlanımı arttırmakta ve çeşitli antibiyotiklerle ilişkili yan etkileri azaltmaktadır (Rathnavelu ve diğerleri, 2016).

Bromelain'in, bir enzim olarak işlev gören ve proteazlar olarak bilinen enzimlerin bir alt sınıfına ait olan bir protein olması ve proteazların işlevinin amino asitleri açığa çıkarmak üzere proteinlerin hidrolizini katalize etmesi diş hekimliğinde bu maddenin önem kazanmasını sağlamaktadır (Dayem ve Tameesh, 2013).

Araştırmacılar, bromelain enziminin asitlenmiş dentin üzerine uygulanmasının, küresel sızıntı skorunun değerlerini önemli ölçüde azalttığı ve bu skorların en düşük değerlerini verdiğini belirtmektedirler. Bu, bromelain enziminin kollajen ağını asit uygulanmış dentinden etkin bir şekilde çıkarma yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Bu durum, monomerin sağlam dentine difüzyon potansiyelini arttırmaya ve nanosızıntının en aza indirilmesine yol açacaktır. Ayrıca kollajen ağının asitle uygulanmış dentin substratından çıkarılması, dentin substratının organik bileşenini en aza indirerek dentin kimyasal

bileşimini mineye benzer hale getirecek ve bu, dentin hidrofilik özelliklerinin değişmesine yol açacaktır (Dayem ve Tameesh, 2013).

Asit uygulanmış dentin yüzeyinin *bromelain* enzimi ile 1 dakika muameleden sonra taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüsü elde edildiğinde intertubular dentin ve peritubular dentin'i kapsayan kollajen ağı görülmeyişi ve dentin substratının bir labirent gibi görüldüğü bildirilmektedir. Dentin tübülleri arasındaki lateral dalların dentinin kollajen liflerinin azalmasına işaret ettiğı rapor edilmektedir (Dayem ve Tameesh, 2013).

Sharafeddin ve Haghbin'in, restoratif kompozitin dentine kesme bağlanma dayanımı üzerinde bromelain enzimi, NaOCl (kontrol grubu) ve titanyum tetraflorürün etkisinin karşılaştırılması üzerine yaptığı *in vitro* çalışma sonucunda %3'lük bromelain enzim uygulanmasının, kontrol grubuna benzer sonuçlar verdiğı bulgulanmaktadır. *Bromelain* enziminin verdiğı bu sonucun deproteinizasyon etkisi nedeniyle olduğı bildirilmektedir (Sharafeddin ve Haghbin, 2019).

Bromelain enziminin kompozitlerin dentin ile bağlanma gücü üzerindeki etkisini değerlendiren az sayıda çalışma vardır, çünkü bromelain restoratif diş hekimliğinde yeni bir materyaldir ve araştırılmaya devam edilmektedir. Bromelain enziminin farklı konsantrasyonlarda ayrıca derin ve yüzeyel dentin üzerindeki etkisini değerlendirmek için ileri çalışmalar yapılması gerekliliğı bildirilmektedir (Dayem ve Tameesh, 2013).

Lazer Uygulamaları

Dr. Maiman tarafından 1964 yılında ilk lazerin geliştirilmesinden hemen sonra, lazerler tıbbi uygulamalarda kullanılmak istenmiştir. Daha sonraki 50 yıl içerisinde dermatolojide, oftalmolojide ve genel cerrahide kullanımları yaygınlaşmış ve farklılaşmıştır. Lazerlerin, tıp alanında geleneksel metotlara karşı geçerli bir alternatif olarak kullanmasıyla birlikte diş hekimliğinde bu konuya ilgi artmıştır. Örneğın, son 20 yıl içinde yumuşak doku lazerleri, bir tercihten öte rutin kullanılmakta olan bir metot olarak kabul edilmiştir. Yumuşak doku lazerlerinin yaygın kullanımının ardından güvenli ve konservatif olarak diş sert dokularını uzaklaştırabilen bir lazerin geliştirilme ihtiyacı doğmuştur. Sert doku lazerleri ilk olarak 1990'larda geliştirilmiş ve 1997 yılında diş hekimliği alanına girmiştir. Bu sert doku erbium lazerlerinin çürükleri, mineyi, dentini, sementi ve kemiğı prepare etme yeteneğine sahip

olmalarının yanında yumuşak dokuları da kesebilme yetenekleri bulunmaktadır. Günümüzde, sert doku lazerleri, yumuşak dokuların uzaklaştırılmasında, tüm kavite tiplerinde kavite preparasyonunda, kök kanallarındaki patojenlerin ve bakterilerin dezenfeksiyonunda, periodontal işlemlerde ve çene cerrahisinde kemik uzaklaştırılmasında yüksek hızlı döner aletlere alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır (Ayar, MK., 2015).

Neodymium-doped yttrium aluminium garnet (Nd:YAG) lazer, 1964 yılında Geusic tarafından geliştirmiş, 1984 yılında da Meyer tarafından diş hekimliğinde uygulanmıştır. Nd: YAG lazer sadece diş hekimliği için tasarlanmış ilk lazerdir ve en büyük pazar payına sahiptir. Buna ek olarak, dişhekimliği uygulamaları için kapsamlı yayınlanmış bilimsel araştırmalara sahiptir. Emisyon dalga boyu, yakın kızılötesi görünmez iyonize olmayan spektrumda 1.064nm'dir. Nispeten uzun doku soğutma süresi ile daha serbest bir darbe emisyonunun yüksek tepe güçlerinden yararlanan yaygın klinik uygulamalar, iyi hemostatik kabiliyete sahip dental yumuşak dokuların kesilmesi ve pıhtılaştırılmasıdır. Serbest çalışan nabız modu ayrıca klinisyenin çok ince veya kırılğan dokuyu tedavi etmesine izin verir, bu da çevredeki ısı birikimini azaltır. Nd: YAG lazer enerjisi diş sert dokusu tarafından hafifçe emilir, ancak dişe bitişik doku cerrahisinin güvenli ve hassas olmasını sağlayan sağlam diş yapısı ile çok az etkileşimi vardır (Dayem, 2009).

Asitle aşınmış dentini deproteinize etmek için %10'luk NaOCl'nin kullanılmasıyla oluşan dezavantajlar (kırılğanlık bölgesinin oluşumu, NaOCl'nin sitotoksitesi, tahammül edilemesi zor tadı ve kokusu); araştırmacıları dentin deproteinizasyonu için yeni ve farklı bir tedavi bulmaya teşvik etmiş ve lazerin bir alternatif olabileceği fikri ortaya çıkmıştır.

Lazerin, pigmentli dokulara karşı afinitesi daha fazla olmasından dolayı, rengi beyaz olan diş dokusunda Nd:YAG lazer kullanmadan önce, yüzeyin özel boyalar (van Geison boyası gibi) ile işaretlenmesi gerekmektedir (Pick, 1993). Pigmentli doku tarafından oldukça iyi emilir ve bu emilim oranı su ile argon lazerinden yaklaşık 10.000 kat daha fazladır. Bu özelliklerinden dolayı, dentinin asitle aşındırılmasından sonra ortaya çıkan kollajen ağının boyanması sonrasında dentine Nd: YAG lazer uygulanması ile, özel parametreler kullanarak kollajen ağı seçici olarak uzaklaştırılıp ve dentinin mineralize içeriği etkilenmeden deproteinize edilebileceği fikri ortaya çıkmıştır (Dayem, 2009).

Yapılan bir çalışmada, %10'luk NaOCl ile Nd: YAG lazerin, kollajen ağını asitlenmiş dentinden uzaklaştırmak için yeni bir yöntem olarak başarılı bir şekilde kullanılabileceği bildirilmektedir. Aynı zamanda Nd: YAG lazerin, kollajen ağını %10'luk NaOCl'den daha iyi bir şekilde çıkarabileceği sonucuna varılmıştır (Dayem, 2009).

NaOCl ve Nd:YAG lazer ile deproteinizasyonu yüzey tedavilerinin dentin permeabilitesinde uzun dönem etkilerini araştıran bir araştırmada; dentin geçirgenliği permeabilite cihazı ile dentin sıvı akışı ölçülerek değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; lazer ekspozürü ile kombine tedavilerde permeabilitede anlamlı bir azalma gözlenmiştir. NaOCl ile deproteinizasyon ve Nd: YAG lazer birleşimi eroziv/abraziv uygulamalardan sonra en düşük geçirgenlik oranını göstermiştir (Esteves, Huhtala, Gomes, Ye, Spencer ve De Paiva Gonçalves, 2016).

Nd:YAG lazer veya %10 NaOCl çözeltisi ile deproteinize edilen dentine adeziv sistemlerin penetrasyon derinliğini floresan ışık mikroskobu kullanılarak değerlendiren bir çalışma sonucunda; Nd: YAG lazer ile dentin deproteinizasyonunun, adeziv sistemin dentin substratı içine nüfuz etme derinliğinin önemli ölçüde artmasına ve penetrasyon derinliğinin %10'luk NaOCl uygulamasına göre önemli ölçüde daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır (Dayem, 2010).

Ozon (O₃)

Ozon, atmosferin üst tabakasının güneşle temas etmesiyle devamlı olarak üretilen ve yeryüzündeki canlı organizmaları ultraviyole radyasyonundan koruyan doğal bir oksijen allotropudur. Ozon havadan daha ağır bir moleküldür. Bunun sonucu olarak atmosferin alt tabakalarına doğru hareket eder ve bu sırada temasta bulunduğu oksidasyona uygun maddelerle birleşerek havayı temizler. Bu, doğanın kendi kendini temizleme mekanizmalarından biridir. Ozonun inerken su buharıyla temas etmesi halinde, onu da okside ederek hidrojen peroksit döner. Böylelikle hidrojen peroksit yağmur suyunun içinde eriyik halde bulunmaktadır. Bitkilerin büyümesinde yağmur suyunun sulamadan daha etkili olmasının bir nedeni de içinde ozon bulunmasıdır (Lynch, 2004).

Aktif atomik oksijen (O⁺) ile O₂'nin birleşmesinden oluşan ozonun (O₃), yeniden aktif atomik oksijene (O⁺) dönüşmesi için 68400 cal gibi oldukça yüksek enerji miktarına ihtiyaç duyulmaktadır. Stratosfer tabakasında gaz halde 1-10 ppm konsantrasyon aralığında bulunan

bu molekül, enerjiyi UV ışınından ya da elektriksel ve kimyasal enerjiden sağlayabilmektedir (Azarpazhooh ve Limeback, 2008 ve Bocci, 2004). Çok aktif ve kararsız bir yapıda olan ozonun yarılanma ömrünün de kısa olduğu bilinmektedir (Dinç, 2012).

Ozon doğadaki en kuvvetli oksidan maddelerdendir ve pek çok biyomolekülle reaksiyona girebildiği tespit edilmiştir (Baysan, Whiley ve Lynch, 2000).

Ozonun Tarihçesi

Ozon, ilk olarak 1840 yılında bir Alman kimyager tarafından elektriksel deşarjın sudan geçirilmesinde “Kokulu Gaz” (Ozen = Koku) tespit edildiğinde keşfedilmiş ve adlandırılmıştır. Günümüzde Christian Friedrich Schönbein ozon terapisinin babası olarak kabul edilmektedir (Baysan ve diğerleri, 2000; Lynch, 2004).

İlk ozon jeneratörü 1857’de Alman fizikçi Joachim Hensler ve hekim Hans Wolf tarafından tıbbi kullanım için geliştirilmiştir. Terapötik olarak ilk kullanımı ise I. Dünya Savaşı’nda zehirli gazları etkisiz hale getirmek ve yaraları tedavi etmek için test tüplerinde kanı temizlemek üzere 1870’de Lender tarafından kullanılmıştır. 1881’de ise dezenfektan ve terapötik ajan olarak difteride kullanılmıştır (Lynch, 2004). Dr. Charles Kenworthy ozon ile deneyimlerini 1883 yılında Florida Medical Journal’da yayınlamıştır. Ozon, güçlü antibakteriyel etkisinden dolayı su dezenfektanı olarak önerilmiş ve daha sonra 1885 yılında Hollanda’daki Dusbaden su arıtma tesisinde kullanılmıştır. I. ve II. Dünya Savaşı’nda siperlerde yaralı askerleri tedavi etmek için kullanılan ozon ve 20. yüzyılın başlarında ABD’de yasallaşmıştır (Reddy A.S, Reddy, N., Dinapadu, Reddy, M. ve Pasari, 2013).

Birinci Dünya Savaşı sırasında tıbbi olarak enfeksiyon, yara ve gangren tedavisinde; 1915 yılında Dr. Albert Woff tarafından servikal kanser, kolon kanseri ve kübit ülserlerin tedavisinde kullanılmıştır (Baysan ve diğerleri, 2000). Kanser sebeplerinden birinin oksijen azlığı olduğu ve tedavisinde ozonun terapötik bir ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Dr. George Freibott 1979’da ilk kez AIDS (kazanılmış bağışıklık yetersizliği sendromu) tanılı bir hastasını ozon ile tedavi etmeye başlamıştır. Bundan yalnızca bir yıl sonra, 1980’de Dr. Horst Kief AIDS’li hastalarda ozon tedavisinin başarısını bildirmiştir (Lynch, 2004).

Ozon tedavisinin, 150 yılı aşan bir süre boyunca kullanımı sonucunda, ozonun tıp ve dezenfeksiyon alanındaki başarısı birçok araştırmacı tarafından onaylanmakta ve kullanımına devam edilmektedir (Reddy ve diğerleri, 2013; Lynch,2004).

Ozonun Kullanım Alanları

Ozon doğadaki en kuvvetli oksidan maddelerden biridir ve oldukça fazla biyomolekülle reaksiyona girebildiği bildirilmiştir (Baysan ve diğerleri, 2000). Bu etkisi kozmetik tedavi uygulamaların temelini teşkil etmektedir. Ayrıca günümüzde gıda-kâğıt endüstrisi, tekstil sektörü, su arıtma, atık su, içme suları, yüzme havuzlarının dezenfeksiyonu gibi birçok alanda başarısı onaylanmış olan ozonun kullanımı artarak devam etmektedir (Bocci,1992).

Ozon; otoimmün hastalıklar, AIDS, akut ve kronik enfeksiyöz hastalıklar, kimyasala dirençli metazatik kanser, kanser tedavisine bağlı yorgunluk, özellikle antibiyotik ve kimyasala direnç gösteren bakteri, mantar, virus ve parazit enfeksiyonları, iskemik hastalıklar, akciğer, göz ve deri hastalıkları, yanık yaralanmaları, osteoartroz, ortopedik hastalıklar, eklem romatizması, fibromiyalji, travma, felç tedavisi, kronik yorgunluk sendromu, uyku problemleri, baş dönmesi atakları, uyku problemleri, migren, hiperlipidemi, hiperürisemi, kan şekeri düzeyi dengelenmesi, cerrahi transplantasyon öncesi, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve bütün allerji tiplerinde kullanılmaktadır (Baysan ve diğerleri, 2000; Lynch, 2004).

Ozon vücudun metabolizma hızını arttırarak, antioksidan üretimini teşvik eder ve hücresel bazda dezenfekte edici özelliği ile iyileşmeyi sağlamaktadır. İnsan kanına belli miktar ve konsantrasyonda ozon uygulanması, immün sistemi aktive ederek ilgili hücrelerin sayısında artışa neden olmaktadır. Ancak etkinin teröpatik olması için uygulama mutlaka doğru konsantrasyon ve zaman aralıklarıyla yapılmalıdır, ozonun yanlış kullanımının toksik etkileri olabileceği bildirilmektedir. (Bocci, 2007).

Ozonun Diş Hekimliğinde Kullanımı

Diş hekimliği alanında kullanımı ile ilgili ilk çalışma 1932 yılında Alman diş hekimi Edward Fisch tarafından yapılmış, daha sonra yine E. Fisch tarafından 1950 yılında ise diş hekimliği uygulamalarında, özellikle enfekte yara yüzeylerini ve kronik periodontal enfeksiyonları

tedavi etmek amacıyla sıvı formundaki ozon ilk kez düzenli olarak kullanmıştır. Bu tarihten 2000’li yıllara kadar ise diş hekimliği yönünden ozon uygulamaları üzerine herhangi bir araştırmaya rastlanmamaktadır. Daha sonra 2004 yılında diş hekimliğinde ozon kullanımı ile ilgili bilimsel yayın Prof. Edward Lynch tarafından “Ozon - Diş Hekimliğinde Devrim” başlığı ile yayınlamıştır (Reddy ve diğerleri, 2013). Günümüzde ozon tedavisinin diş hekimliğinde kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır (Baysan ve diğerleri, 2000; Lynch, 2004, Dinç, 2013).

Diş hekimliğinde ozonun kullanım alanları, başlangıç mine çürükleri, fissür ve pit çürükleri, konservatif diş tedavisi, dentin çürükleri, kök çürükleri, dişlerin beyazlatılması, dentin hassasiyeti tedavisi, ortodontik braketler etrafındaki demineralizasyonun önlenmesi, protezlerin dezenfeksiyonu kök kanal tedavisi, avulse dişlerin replantasyonundan önce, dental cerrahi girişimler sırasında ve diş çekimi (bakteri üremesini engellemesi, bölgesel oksijenlenmeyi arttırması ve hemostazı sağlaması gibi özellikleri nedeniyle), alveolit tedavisi, implant tedavisi, postoperatif ağrı, herpes ve aft tedavileri, aletlerin sterilizasyonu, dental ünit sularının temizliği olarak sayılabilir (Dinç, 2013).

Doğada atmosferdeki oksijenin parçalamasıyla doğal olarak oluşan ozonu yapay olarak elde edilmesi için ozon jeneratörlerinden faydaniılmaktadır.

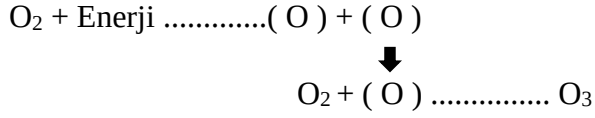
Ozon Jeneratörleri

Ozon jeneratörleri, oksijen molekülünü parçalayarak oluşan atomlardan birini oksijen molekülüne bağlayarak ozon elde etmeyi sağlamaktadır. Bu jeneratörler, çalışma prensibi olarak 3 ana yöntemeye dayanmaktadır (Lynch, 2004):

1. Düşük frekans ozon jeneratörleri
2. UV ozon jeneratörleri
3. *Corona-discharge* esaslı ozon jeneratörleri

Corona-discharge esaslı ozon jeneratörleri, tıp ve diş hekimliğinde en çok tercih edilen jeneratör tipidir. Bu tip jeneratörler, sabit elektrik akımı ile elektronları hızlandırarak kinetik enerjiyi arttırmaktadır. Bu enerji oksijen molekülündeki $O=O$ çift bağını parçalayarak iki

oksijen atomunun ortama salınmasını sağlamaktadır. Bu oksijen atomlarından bir tanesi diğer oksijen molekülü ile reaksiyona girer ve sonucunda ozon oluşmaktadır (Lynch, 2004).



Şekil 2.1. *Corona-discharge* esaslı ozon jeneratörünün şematik diagramı (Park, Kim, Kwon, Lukanin, Khasanov, Kim, Lee, 2001)

Diş hekimliğinde kullanılan ozon jeneratörleri: *OzonyTron®* (Mymed, Almanya), *OzonytronX®-Biozonix®* (Mymed, Almanya), *HealOzone®* (CurOzone ABD, Kavo Almanya), *Sander Ozonizer* (Eltze®, Almanya), *Ozi-Cure®* (Centurion, Güney Afrika), *Cytozon®* (Hansler, Almanya), *Ozonasan* (Fa. Hänsler), *Neo Ozone Water-S®* (KORM Electronics, Japonya).

Ozon gazının diş hekimliği pratiğinde tedavi amaçlı kullanımını sağlayan ve *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalar sonucunda geliştirilen ilk cihaz *HealOzone®*'dur (Kavo, Almanya) (Lynch, 2004). *HealOzone®* tedavi prosedürü; ozon gazının çürük lezyonuna direkt olarak uygulanması, ardından remineralizasyon solüsyonunun uygulanması ve diş macunu, ağız gargarası ve ağız spreyinden oluşan hasta kitinin kullanımı aşamalarını içermektedir (Abu-Naba'a, Al Shorman ve Lynch, 2003).

Diş hekimliğinde ozon kullanımına yönelik olarak geliştirilen bir diğer cihaz *Ozicure/Ozonytron* (Biozonix, Almanya), daha düşük konsantrasyonlarda ozon üreten, vakumlama yapan ya da kavrayıcı kontrollü bir yapı olmadan tedavi sahasına doğrudan ozonu gönderen bir sistemdir (Taştan, 2016).

Almanya'da Mymed firması tarafından 2005 yılında diş hekimliğinde kullanıma uygun olarak üretilmiş olan bir diğer cihaz "*OzonytronX®-Biozonix®*" adı altında üretilmiştir. *OzonytronX®-Biozonix®* cihazı ana ünite, plazma probu ve aplikatörden oluşmaktadır. Cihazın çalışma prensibi, ortamda bulunan oksijen molekülünün atomlarına ayrışması ile oluşan atomik oksijenin ortamdaki oksijen ile geçici olarak birleşip ozon gazını meydana getirmesine dayanmaktadır. *OzonytronX-Biozonix®* cihazı, uygulama alanına göre farklı prob uçlarına sahiptir. Bu cihazda farklı tedavi seçeneklerine göre ayarlanmış ozon konsantrasyon ve uygulama süreleri bulunmaktadır (Songür, 2013).

OzonytronX-Biozonix® cihazının ürettiği ozon miktarı ve konsantrasyonu Almanya’da “TÜV SÜD Industrie Service GmbH” kuruluşu tarafından değerlendirilmiştir. Ozonun diş hekimliğinde kısa sürelerde (20-120 saniye) tatbik edilmesi sonucu oluşabilecek maksimum ozon konsantrasyonunun, insanlar için zararlı olan konsantrasyonun eşik değerinin %37’sinde kalması sebebiyle, cihazın kullanımına izin verilmiş ve herhangi bir toksik etki yaratmadığı “Teknik Denetim Kurumu” belgesi ile kanıtlanmıştır (Aktaş, 2017).

Ozonun Karyojenik Mikroorganizmalar Üzerine Antibakteriyel Etkisi

Yüksek oksidasyon kuvveti nedeni ile bakteri tahribatında etkin rol oynayan etkili ve güçlü bir antibakteriyel ajan olan ozon, diş hekimliğinde bu özelliğinden dolayı kavite dezenfektanı olarak kullanıma girmiştir. Dezenfeksiyon görevini tamamladıktan sonra kararsız yapısı nedeni ile tekrar oksijene dönüşmektedir (Holmes, 2003). Bakteri, fungus, protozoa ve virüslere karşı güçlü bir oksidan olan ozon gaz ya da sıvı formda bulunmaktadır. Bakteri hücre duvarı ve sitoplazmik membranlarını yıkarak okside edici etkisini, gösteren ozon, işlem süresince glikolipit, glikoprotein ve diğer aminoasitleri tutarak bu hücrelerin enzimatik kontrol mekanizmalarını da bloke etmektedir (Celiberti, Pazera ve Lussi, 2006). Ozon, bakteri hücre canlılığı için anahtar faktör olan membran geçirgenliğinde bu yolla artış sağlar ve ardından ani bir fonksiyonel durgunluk sağlar. Geçirgenlikteki bu değişim sonucunda sitoplazmik membrana bağlı birçok canlı türünün kaybına neden olmakla birlikte ozon molekülleri de hücre içine girerek mikroorganizmaların ölümüne neden olur. Aynı zamanda ozon moleküllerinin histidin, metionin, sistein gibi protein biomoleküllerini de okside ettiği bildirilmektedir (Holmes, 2003).

Yapılan bir çalışmada kavitasyon oluşmamış lezyonların altındaki enfekte dentine ozonun dentine direkt temas etmesi neticesinde, kavitedeki mikroorganizma sayısının önemli derecede azaldığı görülmüştür. (Baysan ve Beighton, 2007).

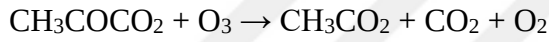
1969 yılında Glantz isimli araştırmacı tarafından, dentinin ıslabilirliğinin azaltılması ile dental biyofilmin oluşumunun azaltılabildiği gösterilmiştir. Knight ve arkadaşları (2008), 40 sn ozon uygulaması ile biyofilm oluşumunun engellendiğini ve dentinin ıslanılabilirliğinin değiştiğini belirtmektedirler. Araştırmacılar, ozonun bakteriler üzerindeki olası etki mekanizmasının, *Streptococcus mutans*’ ın glikozil transferans enzimini inhibe etmesi ile hücresel polisakkarit üretimini bozması sonucu gerçekleştiği görüşündedirler (Knight,

Mcintyre, Craig, Mulyani ve Zilm, 2008). Bu enzimler, yalnızca biofilm kümeleşmesine katkıda bulunmayan, ayrıca sukroza bağlı organizmaların dış sert dokularına adezyonunda temel rolü oynayan glukanların sentezinden sorumludur (Dinç, 2013).

Hemen hemen her organik materyal ile tepkimeye girebilen oldukça güçlü bir oksidan olan ozonun, kollajen gibi organik yüzey bileşenlerini de farklılaştırabildiği düşünülmektedir (Grootveld, Silwooda ve Lynch, 2006).

Ozonun Çürük Remineralizasyonuna Etkisi

Ozonun güçlü okside edici özelliği nedeniyle çürük lezyonundaki protein tabaka ortadan kalkmakta ve bakterilerin canlılığı için gereken ortamı sağlayan biyomoleküllerin oksidasyonu gerçekleşmektedir. Ozon, asidojenik bakterilerin oluşturduğu en güçlü asit olan pirüvik asiti dekarboksile ederek karbondioksit ve asetik asite (asetat) dönüştürür (Lynch, 2004).



Oluşan bu dekarboksilasyon reaksiyonu sonucunda oluşan asetat, pirüvik asitten daha az asidiktir. Bu reaksiyon sonucunda, hem çürük lezyonunun yüzeyini kaplayan protein tabakanın oksidasyonu gerçekleşmekte, hem de dış sert dokularına mineral yığılmasına yardımcı olabilecek optimum alkali ortam sağlanmaktadır (Lynch, 2004). (Baysan ve diğerleri, 2000). Çürük lezyonundaki proteinlerin uzaklaştırılması sonrasında, ortamda bulunan Ca^{+2} ve PO_4^{-3} iyonları demineralize lezyon alanına difüze olarak remineralizasyon süreci meydana gelmektedir (Baysan ve Lynch, 2006).

Ozonun Mine, Dentin ve Restoratif Materyallerin Bağlanması Üzerine Etkisi

Geleneksel olarak çürük dokunun kaldırılması ve kavite hazırlama prosedürleri ile dentin tübüllerinde veya smear tabakasında hapsolmuş; sekonder çürükler ve/veya pulpal enflamasyona neden olabilecek oral karyojenik bakterilerin tamamen ortadan kaldırılması garanti edilememektedir. Artık bakteriler bir yıldan fazla bir süre hayatta kalabilmekte ve iyi bir rezin infiltrasyonu varlığında bile çoğalabilmektedirler. Özellikle çocuk diş hekimliğinde koopere olmayan ve uyumu zor bir çocuk hastada kavitede kalan residüel mikroorganizmaların büyümesini ve aktivitesini kontrol altına almak için kavite

dezenfeksiyonu veya antikaryojenik restoratif materyal kullanımı fikri öne çıkmaktadır (Prabhakar, Kumar ve Prahlad, 2019). Bu nedenlerle restoratif prosedürlerden önce kavite dezenfeksiyonunu iyileştirmek adına ozon gazı kullanımı desteklenmektedir (Schmidlin, Zimmermann ve Bindl, 2005).

Ozonun antibakteriyel özelliği, hücre zarlarının yırtılmasını ve bir oksidasyon reaksiyonu yoluyla hücre içi bileşenlerin yok edilmesini sağlayan güçlü oksitleme aktivitesinden kaynaklanmaktadır (Müller, Guggenheim ve Schmidlin, 2000). Karyojenik bakterilerin yok edilmesi ve demineralizasyon sürecinin durdurulması ile ozonun, diş çürüğü gelişimini durdurabildiği hatta süreci tersine çevirebildiği bildirilmektedir. Ayrıca gaz halinde ozon uygulamasının ağrısız ve atravmatik bir yöntem olduğu bildirilmektedir (Dähnhardt, Jaeggi ve Lussi, 2006). Aynı zamanda çürük dokusu uzaklaştırıldıktan sonra kalan etkilenmiş dentinin miktarını belirlemek için kesin ve güvenilir değerlendirme kriterlerinin olmaması, mikroorganizmaların tespit edilememesine yol açmaktadır. Çürükten etkilenmiş diş dokusunun diş yapısının mümkün olan en geniş ölçüde korunması prensibi ile minimal invaziv diş hekimliği uygulamalarını gündeme getirmiştir (Prabhakar, Kumar ve Prahlad, 2019). Bu bağlamda restoratif diş hekimliğinde, geleneksel "boşalt ve doldur" yaklaşımına alternatif olarak minimal invaziv kavite preparasyon teknikleri ile birlikte yüzey dezenfektanı olarak gaz halinde ozon kullanılması önerilmiştir (Cadenaro, Delise, Antoniolo, Navarra, Di Lenarda ve Breschi, 2009).

Gaz halindeki ozonun kullanılması, kalan bakterileri yok etmek için avantaj olarak görülse de oksijen ve diğer oksidanların (beyazlatıcı ajanlar gibi) dişe bağlanma dayanımı üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu göz önüne alındığında, ozon gazının dişe adezyon prosedürleri üzerindeki etkisi hala net değildir. Farklı konsantrasyonlarda ve formülasyonlarda beyazlatıcı peroksitlerin uygulanmasından sonra adezyon için yapılan kesme ve mikrotensil bağ gücü testlerinde azalmış değerler bildirilmiştir (Perdigao, Baratieri ve Arcari, 2004). Bağlanma gücündeki azalma, diş dokularında kalan monomer polimerizasyonuna müdahale edebilecek artık aktif oksidan kimyasallara atfedilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda ise, oksijenin rezin-mine/dentin bağlanma dayanımının azalmasından sorumlu olabilecek mine ve dentinin mekanik özelliklerinde değişiklikleri indüklediği hipotezini desteklemektedir. Özellikle, dentin organik matriksinin fibriler ağını oluşturan proteinlerin kuaterner yapısının denatürasyonu ve kararsızlaşması azalan bağ dayanımından sorumlu olarak gösterilmektedir (Lai, Mak, Cheung, Osorio, Toledano,

Carvalho, Tay ve Pashley, 2001; Cadenaro, Delise, Antoniollo, Navarra, Di Lenarda ve Breschi, 2009).

Ozon moleküllerinin yüksek reaktivitesi ve substratın muhtemelen gaz akışı tarafından belirlenen dehidratasyonu, diş sert dokularının özelliklerinde bir takım değişikliklerden sorumlu olabileceğini araştırmak amacı ile yapılan bir laboratuvar çalışmasında, ozon uygulamasının insan minesinde *knoop* mikrosertliği, temas açısı ve asit direnci üzerindeki etkisinin olmadığını göstermiştir (Celiberti, Pazera ve Lussi, 2006).Yapılan benzer bir çalışmada ise, 40 sn süreyle uygulanan ozon gazının, minenin fiziksel özelliklerini değiştirmedeği gibi, mikrosızıntı yönünden de olumsuz etkilemediği belirtilmektedir (Rodrigues, Souza, Soares, Lopes ve Estrela, 2011). HealOzone® (CurOzone ABD, Kavo Almanya) cihazı ile yapılan bir çalışmada, 40 sn ozon uygulamasının mine dokusunda mikrosertlik değerlerinde artışa neden olduğu ve geri dönüşümlü olarak dehidratasyon meydana getirdiği rapor edilmiştir. Fakat bu uygulamanın minenin aside karşı direncini ve serbest yüzey enerjisini etkilemediği, buna bağlı olarak minenin fiziksel özelliklerinin değişmediği bulgulanmıştır (Magni, Hickel ve Ilie, 2009).

Farklı dental adeziv sistemler kullanılarak yapılan bir araştırmada ise, adeziv sistemine bakılmaksızın gaz formundaki ozonun mine ve dentine bağlanma gücü üzerinde olumsuz bir etki göstermediği bildirilmektedir (Cadenaro ve diğerleri 2009; Schmidlin ve diğerleri 2005).

Adeziv materyallerin uygulama prosedürlerinden önce ozonun hem koronal hem de kök dentin üzerine uygulanması önerilmiştir (Bitter ve diğerleri 2008; Schmidlin ve diğerleri 2005; Magni ve diğerleri 2008). Mine ile karşılaştırıldığında daha yüksek nem ve organik içeriği nedeniyle dentinin, yüksek reaktif ozon molekülüne ve dehidrastasyona karşı daha hassas olabileceği bildirilmektedir. Dentinin gaz formundaki ozona maruz kalması ile dentinde fazla miktarda dehidrastasyon meydana gelebileceği, böylece dentin ıslanabilirliğinde azalmaya neden olabileceği ve bağlanma prosedürlerine müdahale edebileceği bildirilmektedir (Manso ve diğerleri 2008).

Yapılan bir çalışmada klinik koşulların bir simülasyonunu elde etmek amacı ile kontrol grubunun örnekleri, dentinin amaçsız ve sürekli kurutulması klinik olarak endike olmadığı için kuru hava akışına tabi tutulmamıştır. Böylece, ozonla tedavi edilmiş dentinin herhangi

bir uygulama yapılmamış bir dentin substratı ile doğrudan karşılaştırılmasına izin verilmiştir. Daha önce minenin özellikleri için gözlemlendiği gibi (Celiberti ve diğerleri 2006), bu araştırmanın sonuçları, elastiklik modülü ve *Vicker's* sertliğinin insan dentininde 60 sn ozon gazı uygulamasıyla bozulmadığı gösterilmiştir (Magni, 2011). Magni ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada ise ozonla muamele edilmiş grup ile kontrol grubu arasında mikromekanik özellikler açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiş ve gaz biçiminde ozon uygulamasının dentinin elastik modülünü ve *Vickers* sertliğini etkilemediği bildirilmiştir (Magni, Hickel ve Ilie, 2009).

Ozonun mine ve dentine rezin bağlanmasına olan etkisini araştıran bir diğer çalışmada işlenmemiş mine ve ozonla işlenmiş mine, en yüksek kesme bağlanma dayanımı değerlerini gösterirken; dentinde gruplar arasında istatistiksel fark gözlenmemiştir (Schmidlin, Zimmermann, Bindl, 2005).

Çeşitli çalışmalar sonucunda ozonun koronal ve kök dentine bağlanma sürecini bozmadığı bildirilmiş, ancak ozon ve dentin arasındaki etkileşim hakkında net bir bilgi sağlanmamıştır (Schmidlin, Zimmermann, Bindl 2005; Magni ve diğerleri 2008; Bitter, Noetzel, Volk, Neumann, Kielbassa, 2008). Yapılan bir çalışmanın sonucunda, ozonun dentin alt tabakasını değiştirmedeği ileri sürülmektedir. Bu durum, ozon tedavisine bağlı olarak, ozonun dentine bağlanma üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin gözlenmemesi ile açıklanmaktadır (Sayin, Serper, Cehreli, Otlu, 2007). Bu gözlemler dezenfeksiyon amacı ile ozon gazı kullanımını, dentinin yapısını değiştirdiği ve aynı zamanda dentine bağlanmayı olumsuz yönde etkilediği bildirilen dezenfektan ve oksidanlardan ayırmaktadır (Faraoni-Romano, Da Silveira, Turssi, Serra, 2008; Al-Salehi, Wood, Hatton, 2007). Diş hekimliği pratiğinde kullanılan yaygın dezenfektanlar veya oksidanlar, çoğunlukla çözelti veya jel olarak mevcut olduğundan, formülasyon tipinin de bu maddelerin substrat ile etkileşimini etkileyen kritik bir faktör olabileceği varsayılabilir. Bir sıvı veya jel formülasyon, maddenin diş sert dokularında rezervuar görevi görebilecek sürekli kalıcılığından sorumlu olabilirken, ozon uygulamalarındaki gibi bir gaz formülasyonunun substrat ile daha geçici bir etkileşimi olduğu düşünülmektedir. Yine de gaz formundaki ozon ve dentin arasındaki etkileşim mekanizmasını daha iyi açıklamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Magni, Hickel, Ilie, 2009).

Mekanik bozunma ve serbest radikallerin varlığı, demineralize kollajen matriksinin bozunma sürecini de arttırabilmektedir. Reaktif serbest radikal türleri, çeşitli doku hasarı formları ve yaşlanma süreci ile ilişkili bulunmuştur. Hidroksil radikali (hidrojen peroksitten meydana gelen) gibi oksidanlar (yani reaktif oksijen türleri) eşleşmemiş bir elektron içermektedir. Bu elektronlar ise moleküler düzeyde protein yapılarına oldukça reaktiftir ve zarar vermektedirler. Birçok serbest radikal bir çeşit reaktif oksijen formu yapısına sahip olduğundan, etkili bir temizleyici genellikle 'antioksidan' olarak adlandırılmaktadır (Erhardt, Osorio, Viseras ve Toledano, 2011).

Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koyarak yapısal ve doku bütünlüğünü korur. Askorbik asit, potansiyel olarak zararlı serbest radikalleri nötralize edebilen suda çözünür bir antioksidandır. Reaktif oksijen türleri askorbattan bir hidrojeni soyutlayabilir, böylece monodehidroaskorbat oluşarak kısa süre sonra dehidroaskorbat haline gelmek için başka bir elektron kazanır. Oksitlenmiş askorbat formları nispeten stabildir (Erhardt ve diğerleri, 2011). Askorbik asit, aşınmanın dentin kollajeni üzerindeki denatüre edici etkisini baskılayabilir ve kompozit-dentin bağlarının bozunmasına karşı koruma sağlar. Dentin üzerine yapılan önceki çalışmalar, askorbik asit veya askorbatın, dentinin oksidanlar ile ön-muamelesi ile oluşan zayıf bağ kuvvetlerini tersine çevirebileceğini göstermektedir. Bunun için çoğu çalışmada dentinin oksidan içerikli kimyasallarla muamelesinden sonra %10'luk askorbat kullanılmaktadır (Yiu, Garcia-Godoy, Tay, Pashley, Imazato ve King, 2002; Weston, Ito, Wadgaongar ve Pashley, 2007).

Ozonun oksidatif etkilerini nötralize etmek amacı ile yapılan bir çalışmada ozon kullanımının ardından 10 dakika süreyle %10 konsantrasyonunda sodyum askorbat uygulanmıştır. Sonuçların analizi, sodyum askorbatın adeziv kompozitlerin insan dentinine bağlanma gücü değerlerini tersine çevirdiğini göstermiş, böylece sodyum askorbatın ozon ile muamele edilmiş substrat üzerinde bir redoks reaksiyonu yoluyla oksitleyici maddeleri değiştirme kapasitesine sahip olmasının mümkün olabileceği bildirilmiştir (Weston, Ito, Wadgaongar, Pashley, 2007). Ozondan sonra askorbat kullanımını değerlendirmek için oldukça az sayıda çalışma yapılmış olsa da, sonuçlar aynı prensibin bir parçası olarak diş beyazlatma veya NaOCl kullanımının ardından bir antioksidan kullanımının bir adeziv materyal ile mine/dentin bağlanma dayanımı üzerindeki etkisini değerlendiren çalışmalarla uyumlu sonuçlar ortaya koyacağı düşünülmektedir (Lai, Tay, Cheung, Mak, Carvalho, Wei, Toledano, Osorio ve Pashley, 2002; Kaya ve Turkun, 2003).

Dentin yüzeyinde antioksidan ajanı kullanımını araştıran çalışmalarda uygulama için önerilen 10 dakikalık sürenin gerçekçi olamayacağı bildirilmiştir (Turkun ve Kaya, 2004; Kaya ve Turkun, 2003). Weston ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, %10 sodyum askorbat ile 1 dakikalık uygulamanın 10 dakika uygulama kadar etkili olduğu gösterilmektedir (Weston, Ito, Wadgaongar, Pashley, 2007).

Ozon ve sodyum askorbatın dentine bağlanma dayanımına etkisinin test edildiği *in vitro* çalışma sonucunda; ozon, dentin ile kompozit rezin arasındaki mikrotensil bağ kuvvetini azaltmış ancak ozon uygulaması ardından bir antioksidan kullanımı azalmış mikrotensil bağ gücü değerlerini tersine çevirmiştir (Rodrigues, Souza, Soares, Lopes, Estrela, 2011).

Gaz halindeki ozonun neden olduğu olası substrat modifikasyonları ile ilgili olarak, ağartma maddelerinin aksine mine ve dentin yapısını değiştirmedeği gösterilmiştir. Ozon gazının 40 saniyelik bir uygulaması ile; minenin mikro sertlik, temas açısı, aşındırma direnci veya serbest yüzey enerjisi gibi bağlanmayı etkileyebilecek fiziksel özellikleri üzerinde hiçbir etki göstermediği bildirilmektedir (Celiberti, Pazera ve Lussi, 2006). Bu, ozonun dehidratasyon etkisinin mine üzerindeki serbest yüzey enerjisini bozmadığı ve bağlanma gücünü etkilemediği anlamına gelir. Fakat ozonun neden olduğu dentin dehidrasyonu, kollajen fibrillerin çökmesine neden olabilir ve adeziv sistemlerle dentin ıslanabilirliğini azaltabilir. Aynı zamanda ozon, dentin matriksinin organik bileşiklerini oksitleyip bozabilir, dentin tübüllerini açabilir ve rezin monomerlerinin dentin yapısına difüzyonunu teşvik edebilir (Baysan ve Lynch, 2004; Cadenaro, Delise, Antoniollo, Navarra, Di Lenarda, Breschi, 2009).

HealOzone® (CurOzone ABD, Kavo Almanya) üreticisi tarafından önerilen çalışma protokolünün, işlenmiş yüzeye indirgeyici bir çözelti uygulamasını önerdiği dikkate alınmalıdır. Bu çözelti, bakteriyel asitleri nötralize etmek ve mineral-florür sağlayarak remineralizasyonu desteklemek için formüle edilmiştir. Bu çözeltinin oksitlenmiş substrat üzerine uygulanmasının mantığı, diş beyazlatma işlemlerini takiben %10 sodyum askorbat uygulamasının oksitleyici ajanların olumsuz etkisinin tersine çevrilmesine izin verdiği gözlemi ile ilgilidir (Titley, Torneck, Ruse, Krmec, 1993). Bununla birlikte Schmidlin ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışmada, ozon uygulaması ardından indirgeyici solüsyonun uygulandığı örnekler sadece ozonla muamele edilmiş örnekler ile kıyaslandığında, indirgeyici solüsyon kullanımının bağlanma gücünü düşürdüğü gösterilmiştir (Schmidlin,

Zimmermann ve Bind, 2005; Cadenaro, Delise, Antoniollo, Navarra, Di Lenarda, Breschi, 2009).

2.5. Adeziv Sistemler ve Dentin Dokusu Bağlantısının *In-vitro* Değerlendirme Yöntemleri

2.5.1. Ağız-içi Koşulları Taklit Etmek için Kullanılan Test Yöntemleri

Restoratif materyallerin uzun dönem başarılarının belirlenmesi için yapılan *in vitro* deneylerde ağız içi koşullar laboratuvar ortamında taklit edilmektedir. Ağız içi koşulların gerçeğe yakın olarak taklit edilmesiyle materyal ve zamandan tasarruf edilerek, daha gerçekçi veriler elde edilebilmesi amaçlanmaktadır (El Araby ve Talic, 2007).

Termal Siklus ile Yaşlandırma Yöntemi

Nefes almak, yemek ve içmek gibi nedenlerle ağız ortamında devamlı ısısal değişimler yaşanmaktadır. Restorasyon materyalleri ağız içerisinde sürekli olarak pH ve ısı değişimlerine maruz kalmaktadır. Örneğin buzlu bir suyun sıcaklığı 0 °C' ye yakın iken sıcak bir yiyecek veya içeceğin sıcaklığı 60 °C ye kadar ulaşabilmektedir. Fakat bu alışkanlıklar kişiden kişiye oldukça büyük çeşitlilik göstermekte ve ağzın her bölgesinde farklı derecede sıcaklık değişimine neden olmaktadır. Aynı zamanda nefes alındığı sırada da havanın sıcaklığı, nemi ve hızı ağız içi ortamda değişikliklere sebep olmaktadır (Şengün, Öztürk, Ülker, Dişçioğlu ve Özer, 2005). Bu nedenlerden dolayı dental bir restorasyonun doğal yaşlanma sürecini taklit etmede örneklerin termal döngü protokolleri ya da suda bekletilmesi, *in vivo* şartların *in vitro* ortamda taklidini sağlamak için etkin metotlar olarak önerilmektedirler (El Araby ve Talic, 2007).

Normal koşullarda ağız içi ısı yaklaşık 35,2 (± 2)⁰C olarak saptanmıştır (Spierings ve diğerleri, 1987). Diş sert dokuları ile restoratif materyallerin termal genleşme katsayılarının farklı olması nedeniyle mikrosızıntıya sebep olabilecek boşlukların oluştuğu bulgulanmıştır (Verslius ve diğerleri, 1996). Dental restoratif materyallerle yapılan çalışmalarda, ağız içerisindeki koşulların taklit edilebilmesi için başvuru yöntemlerinden biri olan “termal siklus” yöntemi pek çok araştırmacı tarafından öncelikli olarak tercih edilmiştir (Frankenberger ve Tay 2005). Dişe göre termal genleşme katsayısı daha fazla olan restoratif

materyallerin, termal döngü ile yapılan yaşlandırma sonucunda genişip büzülmesi neticesinde veya kollajenlerin hidrolizi ile dentin-rezin arayüzeyinde boşluklar oluştuğu bildirilmiştir. Bu bağlamda 10,000 kez 5 °C ile 55°C arasında yapılan termal döngünün bir yıl doğal ağız ortamı döngüsünü taklit edebildiği düşünülmektedir (Gale ve Darvell 1999).

Yapılan bir çalışmada iki aşamalı *etch&rinse* adeziv sistemlerinin termal strese maruz bırakıldıklarında, dentin-adeziv mikro-gerilim-bağlanma değerlerinin (μ GBD) istatistiksel olarak anlamlı oranda azaldığı rapor edilmiştir (Xie, Dickends ve Giuseppetti, 2002). Öte yandan bazı araştırmacılar termal siklusun bağlanma dayanımına önemli bir etkisinin olmadığını bulgulamışlardır (Leloup, D'Hoore, Bouter, Degrange ve Vreven, 2001).

Bekletme ile Yaşlandırma Yöntemi

Bu metotta örnekler en çok 37°C'deki su ya da suni tükürük içerisinde belirli süreler ile bekletilerek yapay olarak yaşlandırılmaktadır. Bu periyot birkaç aydan 4-5 yıl veya daha uzun süreler olarak planlanabilmektedir. Yapılan bir *in vivo* çalışmada tek aşamalı adeziv sistem ve hibrid kompozit ile restorasyon tamamlandıktan sonra 3. gün ve 90. gün arasında yapılan mikrogerilim bağlanım değerlerinin zamanla önemli derecede azaldığı bildirilmektedir (Kitasako, Burrow, Nikaido ve Tagami, 2000). Birçok çalışma, bağlanma kuvvetlerinde kısa bir bekleme periyodundan sonra bile düşüş olduğunu göstermiştir (De Munck, Van Meerbeek, Yoshida, Inoue, Vargas ve Suzuki, 2003). Bağlanma kuvvetlerindeki bu azalma, kollajen ve/veya rezinin hidrolizle yıkımı sonucunda oluşmaktadır. Ayrıca su, polimerize matrikse infiltre olarak mekanik özelliklerin zayıflamasına ve artık monomerler sebebi ile bağlantının zayıflamasına sebep olmaktadır (Hashimoto, Ohno, Sano, Tay ve Kaga, 2002).

De Munck ve arkadaşları'nın (2005) yaptıkları klinik çalışmalarında iki basamaklı *etch&rinse* adeziv bir sistem olan *One-Step* ile restore edilen servikal sınıf IV kavitelerde 3 yıl sonunda %50 restorasyon kaybı; üç basamaklı *etch&rinse* adeziv sistem olan *All-Bond 2* ile restore edilen servikal sınıf IV kavitelerde ise bir yıl sonunda %2, üç yıl sonunda %27 restorasyon kaybı bildirmektedirler (De Munck, Van Landuyt, Peumans, Poitevin, Lambrechts ve Bream, 2005).

Oklüzal Yükleme ile Yaşlandırma Yöntemi

Doğal koşulları taklit etmenin bir diğer yöntemi de mekanik olarak diş sert dokularına kuvvet yüklemesi yapmaktır. Araştırmacılar mekanik yüklemenin bağlanma dayanım direnci üzerinde direkt etkisinin olduğuna yönelik mevcut bir kaynak bulunmadığını rapor etmişlerdir (Abdalla, El Zohairy, Aboushelib ve Feilzer, 2007). Amaral ve arkadaşları (Amaral, Colucci, Palma-Dibb ve Corona Silmara, 2007), bu görüşü destekler şekilde mekanik yüklemenin rezin-mine/dentin ara yüzeyine etkisinin net olmadığını bildirmişlerdir (Tekçe, Demirci ve Tuncer, 2013). Yapılan bir çalışmada mekanik yükleme nanosızıntı açısından incelenmiş ve bu yüklemeden sızıntı parametresinin etkilenmediği tespit edilmiştir (Li, Burrow ve Tyas, 2002). Öte yandan belli bir kuvvet altında yapılan bu tip çalışmalara termal siklusun da eklenmesi ile klinik yaşlanma sürecine benzer şekilde materyallerle diş dokuları arasında ölçülen bağlantı değerlerinin zayıfladığı bulgulanmıştır (Gönlüm, 2012).

Çiğneme Simülatörü ile Yaşlandırma Yöntemi

Bu metot ile ağız-içi çiğneme koşulları taklit edilmeye çalışılmaktadır. Bir makine yardımı ile numuneler üzerine istenilen sayıda 50 N kuvvet ve 0,5 Hz. frekansla çiğneme kuvveti uygulanır (Kramer, Rudolph, Garcia-Godoy ve Frankenberger, 2012).

Çiğneme simülatörleri, gelişen teknoloji ile birlikte dikey ve yatay hareket kapasitesi kazanmış olmasına rağmen çiğneme döngüsünü tam olarak yansıtamamaktadırlar (Martin, Miltiadis, Klaus, Matthias, 2009). Ayrıca uzun dönem araştırmalarda kuvvet uygulanan materyalde oluşan yüzey aşınmalarını tolare edebilme kabiliyetleri bulunmamaktadır. Bu sebeple bir süre sonra cihaz üzerindeki karşıt ucun aşınan yüzeyle teması kesilebilmektedir ve cihazda temas olmadığını algılayabilecek sensörler bulunmamaktadır. Çiğneme simülatörlerinde oluşturulan çiğneme sikluları araştırmacının ayarladığı sabit frekansla devam ederken ağız içi ortamlardaki çiğneme sikluları değişik frekanslarda devam etmektedir (Heintze, Zellwegera, Cavalleria, Ferracane, 2006). Çiğneme simülatörleri klinik öncesi ağız ortamını yansıtabilmeleri nedeni yine de özellikle protetik *in vitro* araştırmalarda kullanılmaktadır (Bulut ve Sağlam, 2016).

2.5.2. Adeziv Sistemlerin Dentine Bağlanma Dayanım Testleri

Diş hekimliğinde restorasyonların klinik ömrünü etkileyen unsurlardan biri restorasyon içeriğindeki materyallerin bağlanma yeteneğidir ve bu nitelik “bağlanma dayanımı testi” ile ölçülmektedir. Uzun yıllar boyunca, klinisyenler kullandıkları adeziv sistemler için laboratuvar araştırmalarına güvenmişlerdir. Dental adezivlerin klinik uygulamalardaki performansını öngörmek için *in vitro* çalışmalarda kullanılan bağlanma kuvveti testlerinin geçerliliği sorgulanılsa dahi (Sudsangiam ve van Noort, 1999) mevcut kanıtlar yeterli laboratuvar şartlarında bağlanma dayanımı testlerinin klinik performans sonuçlarını ölçmek maksatı ile kullanılabileceğini bildirilmektedir (Van Meerbeek, De Munck, Yoshida, Inoue, Vargas, Vijay, Van Landuyt, Lambrechts ve Vanherle, 2003).

Laboratuvar ortamında yürütülen bağlanma testleri statik ve dinamik testler olarak ayrılmaktadır (Yoon, 2019).

2.5.3. Statik Testler

Statik testler, makro testler (bağlanma alanı $>3 \text{ mm}^2$) ve mikro testler (bağlanma alanı $<3 \text{ mm}^2$) olarak kategorize edilmektedir (Yoon, 2019).

Makro Test Yöntemleri

Makro-bağlanma dayanımı, makaslama (*shear*), gerilme (*tensile*) veya itme (*push-out*) protokolleri uygulanarak ölçülür. Makro testler basitliği ile tanınmasına karşın gelişen teknoloji koşulları ile birlikte halen en çok tercih edilen testlerin başında gelenlerden birisidir (Braga, Meira, Boaro ve Xavier, 2010).

Makro-Makaslama (Shear) Testi

Araştırmacılar diş dokusu ve adeziv sistemleri kapsayan arayüz bağlantı kuvvetlerinin ölçümünde diş yüzeyine paralel olarak hareket eden bir kuvvet yoluyla adezyon bölgesinde kırılma sağlanan “makaslama dayanım testi” yönteminin daha çok tercih edilmesi gerektiğini bildirmektedir. Bu yöntemde örnekler makine içerisindeki özel bir parça kullanılarak sabitlenir ve diş yüzeyine paralel olarak belli bir hız ile hareket eden makaslama aparatı yardımı ile kırılır (Özyöney, 2008). Materyallerin adeziv sistem ile bağlanması

prosedüründen başka bir işlem gerektirmediğinden ve elde edilen bağlantı değerleri gerilim testinde elde edilenden daha büyük olduğu için makaslama bağlanma testi diş hekimliğinde en yaygın kullanılan testlerden biri olarak bildirilmektedir (Burke, Hussain, Nolan ve Fleming, 2008; Perdigao, Lopes, Lambrechts, Leita, Van Meerbeek ve Vanherle, 1997).

Bağlanma dayanımı testine dahil olan unsurlar ile ilgili yapılmış bir meta analiz çalışmada; dentinin yapısı, kompozit, adezyon bölgesi, bağlanma düzeneklerinin ve örneklerin depolanma koşulları ve test tasarımı gibi çeşitli değişkenlerin önemi ortaya çıkmıştır (Leloup ve diğerleri, 2001). Bir diğer parametre ise noktalar, tel halkaları ve bıçak kenar tiplerini kapsayacak şekilde kesme kuvvetini uygulamak için kullanılan çeşitli konfigürasyonlardır. Genel olarak diş hekimliğinde materyallerin mekanik özelliklerinin değerlendirildiği yöntemler karşılaştırıldığında makaslama kuvvetlerinin ağız ortamını daha iyi taklit ettiği düşünülmektedir. (Yoon, 2019).

Makro Gerilme (Tensile) Testi

Makaslama testlerinde değişken kuvvet dağılımları nedeni ile diş dokusunda koheziv kopmalara sebep olabileceği konusunda yaşanan endişeler sonucunda “gerilme dayanım testi (μ TBS)” yöntemi bağlantı kuvvetlerinin tespitinde araştırmacılar tarafından tercih sebebi olmuştur (Tantbirojin, Cheng, Versluis, Hodges ve Douglas, 2000). Bölgesel farklılık gösteren diş yapılarında (aşınmış dentin, çürükten etkilenmiş dentin gibi) gerilme dayanım testi yönteminin bağlanma dayanım kuvvetlerinin belirlenmesinde daha gerçekçi bir yöntem olduğu ileri sürülmüştür (Pashley, Carvalho, Sano, Nakajima, Yoshiyama, Shono, Fernandes ve Tay, 1999). Ancak gerilme dayanımı testlerinde kuvvet uygulanması sırasında meydana gelen streslerden dolayı oluşan küçük farklılıkların sonuçları negatif yönde etkileyebileceği de rapor edilmiştir (Sano, Shono, Sonoda, Takatsu, Ciucchi, Carvalho ve Pashley, 1994). Gerilme testinde gerilmeler arayüz boyunca makaslama testine göre daha homojendir ve bu nedenle maksimum temel gerilme değerleri nominal dayanıma çok daha yakındır (Braga ve diğerleri, 2010).

Makro İtme (Push-out) Testi

Bu yöntemde adezyon bölgesi universal test makinesine monte edilmiş bir piston aracılığıyla diş yüzeyine 90° açıyla hareket eden bir yük uygulanarak kırılır. Bu test yönteminde

genellikle 7-12 mm²'lik bir bağlantı yüzeyi kullanılmaktadır ve dikkat edilmesi gereken en önemli nokta, substrat ve materyalin birbirine bağlanması sırasında yanlış yüzey açılmasından kaynaklanan kusurlu sonuçların meydana gelmesinin engellenmesidir (Özyöney, 2008). İtme testlerinin, çoğunlukla kök kanallarına uygulanmış doldurucu patların adezyonunu ve postların tutuculuğunu ölçmek için kullanışlı olduğu bildirilmektedir (Goracci, Tavares, Fabianelli, Monticelli, Raffaelli, Cardoso, Tay ve Ferrari, 2004).

Mikro Test Yöntemleri

Mikro-bağlanma dayanımı testleri numunelere uygulanan kuvvetlere dayanarak mikro makaslama (*shear*), mikro gerilme (*tensile*) veya mikro itme (*push-out*) olarak ayrılmaktadır (Sirisha, Rambabu, Ravishankar ve Ravikumar, 2014).

Mikro Makaslama (Shear) Testi

Adeziv sistemlerin verimli bir şekilde değerlendirilmesine, çeşitli alt tabakaların derinlik ve bölgesel kesitlerinin alınmasına, aynı zamanda dişlerin korunmasına izin veren bu test kesit alanı 3 mm²' den daha az olan örnekleri değerlendirmektedir (Phrukkanon, Burrow ve Tyas, 1998). Ancak makaslama kuvveti uygulaması ardından hataların ve farklı gerilme konsantrasyonlarının meydana gelebileceği bildirilmiştir (Ayaz, Tağtekin, Yanıkoğlu, 2011).

Mikro Gerilme (Tensile) Testi

Makaslama ve makro gerilim testleri ile kıyaslandığında yüksek bağlanma değeri ve oldukça düşük varyasyon katsayısı elde edilmesiyle güvenilirliği yüksek sonuçların ortaya çıktığı mikrokerilim testleri, 0,25-1 mm² alana uygulanan adezivin bağlanma direnci için kullanılan bir test metodudur (Sano ve diğerleri, 1994). Bu test metodunda bond uygulanan yüzey minimal olduğu için bağlanılan yüzeylerdeki internal defektler daha az sayıda olup kuvvet uygulama sırasındaki stres dağılımı da daha homojen olur. Böylece yüksek bağlanma kuvvetleri elde edilebilir. Aynı diştten çok sayıda örnek elde edilebilmesi, çeşitli diş bölgelerinde çeşitli derinliklerde ölçüm yapılabilmesi, mikrokerilim bağlantı testinin öne çıkan özellikleridir (Pashley, Sano, Ciucci, Yoshiyama ve Carvalho, 1995; Ayaz, Tağtekin, Yanıkoğlu, 2011).

Mikro İtme (Push-out) Testi

Örnek kalınlığının 1 mm²' den küçük veya ona eşit olduğu makro itme testinin bir modifikasyonu olan mikro itme testi genellikle intrakanal dolgu malzemeleriyle çalışmak için kullanılmaktadır (Soares, Santana, Castro, Santos-Filho, Soares, Qian ve Armstrong, 2008). Mikro itme testi, fiber postların bağlanma kuvvetini ölçerken mikro çekme tekniğinden daha güvenilir bulunmaktadır (Goracci ve diğerleri, 2004).

Esneklik Dayanım Testleri (Flexural Strength Test)

Esneklik dayanım testleri materyalin çatlak yayılımına direncinin ölçülmesi olup bu testte materyaldeki çatlak başlaması ve yayılması incelenir. Esneklik dayanıklılığı materyalin yapısal özelliği olduğundan test tipinden bağımsızdır ve örneğin yüzey pürüzlülüğüne, geometrisine, test konfigürasyonu gibi faktörlere bağlıdır (De Munck ve diğerleri, 2005).

2.5.4. Dinamik Testler

Ağız ortamında diş ve restorasyon arasındaki bağlantı, fonksiyon sırasında sürekli olarak belli bir kuvvet altında kalır ve bu döngülerin her biri tek başına yıkıma neden olmasa da zamanla büyüyen çatlaklar oluşturarak marjinal bozulmaya ve restorasyon kaybına neden olur. Yorulma, materyalin kırılma gücünün altında yinelenen stres uygulamalarından sonra, mekanik özelliklerde meydana gelen azalmadır. Yorulma testleri, arayüz ve materyalin fazla sayıda döngüden sonra çatlak oluşumuna dayanımına ilişkin bilgiler verir (Baran, Boberick ve McCool, 2001). Klinik koşulların simülasyonunu daha iyi yaratmak için statik bağlanma kuvveti verilerinin dinamik yorulma verileri ile desteklenmesi gereklidir. Bunun için makaslama yorulma testi, gerilme yorulma testi, itme yorulma testi, 4 noktalı eğilme yorulma testi, döngüsel yorulma testi gibi çeşitli yorulma protokolleri kullanılmaktadır (Braem, 2007).

2.6. Restoratif Materyallerin Mikrosızıntı Açısından Değerlendirilmesinde Kullanılan Testler

Restoratif materyallerin diş sert dokularına bağlanmadaki zayıflığı sonucunda mikrosızıntı oluşmaktadır. Diş ve restorasyon arasında oluşan bu sızıntının önlenmesi restorasyonların klinik ömrünü uzatır. İdeal restorasyon materyali kavite duvarlarına iyi adapte olmalı ve

boşluk yaratmamalıdır. Yeterli olmayan adaptasyon materyal-substrat aralığında toksin ve bakteri geçişine yani mikrosızıntıya sebep olacaktır. Bunun sonucunda hassasiyet, kenar renklenmesi, sekonder çürük, pulpa hastalıkları ve dişeti iltihabı gibi tablolar meydana gelebilmektedir. Mikrosızıntı analizleri restoratif materyallerin klinik başarısına ilişkin yararlı bilgi edinimini sağlar (Gwinnett, Tay, Pang ve Wei, 1995).

Mikrosızıntının değerlendirilmesi için; radyoaktif izotop, hava basıncı, bakteri aktivitesi, nötron aktivasyon analizi, taramalı elektron mikroskobu ve boya penetrasyonu test teknikleri geliştirilmiştir. Kullanan bu testlerin tümünün avantaj ve dezavantajları mevcuttur (Öztürk, Ersöz, Öztürk, Hatunoğlu ve Malkoç, 2016).

2.6.1. Boya Penetrasyonu

Boya penetrasyonu tekniği oluşan sızıntının tespit edilmesinde kullanılan en eski mikrosızıntı yöntemlerinden olup, tekniğinin basitliği ve ucuz maliyeti ile en çok tercih edilen metodlardandır (Taylor ve Lynch, 1992). Bu teknikte, restore edilmiş bir dişin apeksi kompozit materyali ile kapatılarak restorasyon dışında kalan tüm diş yüzeyi cila ile kaplanır. Daha sonra boya solüsyonu içinde belirli bir süre bekletilen numunelerden kesitler alınır, sızan boya mikroskop altında incelenerek mikrosızıntı düzeyi belirlenir (Heintze, 2007). Sıklıkla kullanılan boyalar; %2' lik eritrosin, %20'lik floresan, %0,5-2'lik bazik fuksin, %0,25'lik toludin mavisi, %0,05'lik kristal viyole, %2' lik anilin mavisi, %50'lik gümüş nitrat, %5'lik eosin, %0,2-2 veya %10'luk metilen mavisi olarak sıralanmaktadır (Erdilek, Dörter, Koray, Kunzelmann, Efes ve Gomec, 2009). Bu boyalar içerisinde en sık kullanılan %2' lik metilen mavisidir (Erdilek ve diğerleri, 2009). Boyaların ucuz ve kolay temin edilebilir olması, direkt ve hızlı ölçüm olanağı, radyasyona ve kimyasal reaksiyona ihtiyaç duyulmaması boyama yönteminin avantajlarıdır. Bu yöntemin en büyük dezavantajı ise, üç boyutlu olan sızıntının yalnızca iki boyutta izlenebilmesidir. Araştırmacılar bu problemin çözümü için çoğunlukla iki ayrı bölgeden aldıkları kesitler ile değerlendirme yapılmasını önermektedir (Ayyıldız, Uyar ve Yüzügüllü, 2009).

Hava Basıncı Testi

Diş, pulpa odasına ve kök kanalına basınçlı bir hava gönderilerek statik sistem içerisinde kaybolan basıncın ölçülmesi ile sızıntının tayin edildiği eski bir tekniktir (Taylor ve Lynch, 1992).

Radyoaktif İzotop Testi

Boya penetrasyon yönteminden sonra en çok tercih edilen testtir. Diş ile materyal arasından geçen radyoizotoplar incelenir ve izotopun gözlendiği alanlara göre mikrosızıntı belirlenir (Alani ve Toh, 1997).

2.6.2. Bakteri Aktivite Yöntemi

Restorasyon yapılan örnekler bir bakteri kültürü içerisine yerleştirilerek diş ve restorasyon ara yüzeyinde üreyen bakteri miktarı hesaplanarak sızıntının belirlendiği yöntemdir (Taylor ve Lynch, 1992).

Nötron Aktivasyon Analizi

Bu analiz ile *in-vivo* ve *in-vitro* ölçümler yapılabilir. Restorasyon sınırına kimyasal işaretleyicinin sızmasının sağlanması ardından nükleer bir reaktör vasıtası ile mikrosızıntının belirlenmesi yöntemidir (Taylor ve Lynch, 1992).

2.6.3. Taramalı Elektron Mikroskobu

Bu yöntem, restoratif materyallerin özelliklerinin tanımlanmasına olanak sağlarken iki yüzey arasındaki bağlantının mesafesinin ölçülmesini de mümkün kılar. Farklı mikrosızıntı yöntemleri ile birlikte kullanıldığında sonuçların karşılaştırılması ve aralarında bağlantı kurulabilmesine olanak sağlar (Taylor ve Lynch, 1992).

Diş hekimliğinde restoratif materyallerin klinik başarısını değerlendirmek amacıyla yapılan bağlanma dayanımı ve mikrosızıntıyı değerlendiren birçok yöntem var olmakla birlikte güvenilir, basit tekniğe sahip, maliyeti ucuz olan altın standart bir test tanımlanamamakta olup arayışlar hala sürdürülmektedir (Ayyıldız, Uyar ve Yüzügüllü, 2009).

2.7. Bağlanma Dayanım Testleri Sonucu Oluşan Kırılma Tiplerinin Değerlendirilmesi

Bağlanma dayanım testi sonucu örneklerden elde edilen yüzeyler stereo mikroskop altında incelenerek başarısızlık türleri saptanır. Başarısızlık tipinin değerlendirilmesi test metodunun ve materyallerin güvenilirliği açısından önem teşkil etmektedir. Işık mikroskobu ile yapılan inceleme neticesinde kırılma tipleri belirlenmektedir. Oluşan kırılma, bağlantı bölgesinde ise “adeziv”, bağlanılan materyal veya yüzey içerisinde ise “koheziv” ya da her iki durum birlikte görölüyosa “karişık (mix)” olarak isimlendirilmektedir (Kwong, Cheung, Kei, Itthagaran, Smales, Tay ve Pashley, 2002).

Stereo mikroskoptaki incelemeler ağıklanan kriterler dogrultusunda değerlendirilmiştir (Price ve Hall, 1999; Ateyah ve Akpata, 2000);

- *Adeziv kırık tipi*; Bağlayıcı sistem ve/veya kompozit dentinde izlenmiyor, temiz bir dentin yüzeyi var,
- *Kompozit içinde koheziv kırık tipi*; Dentin yüzeyinde kompozit paręası var olmakla birlikte dişte kırık görünmemekte,
- *Karişık kırık tipi*; Dentin yüzeyinde hem dentin rezin hem de kompozit kırığı izleniyor
- *Dentinde koheziv kırık tipi*; Dentinden kompozit tamamen ayrılmış fakat dentin kırığı gözleniyor.

2.8. Adeziv Sistemlerin Dentine Bağlantılarının Görüntüleme Sistemleriyle Değerlendirme Yöntemleri

2.8.1. Geçirimli Elektron Mikroskobu ile Değerlendirme (Transmission Electron Microscopy)

Geçirimli Elektron Mikroskobu veya TEM (*Transmission Electron Microscope*) cismin içinden geçirilen yüksek enerjili elektronların görüntülenmesi ilkesine dayanır. Teorik olarak atomik seviye altındaki ayrıntıların görölmesi için icat edilen bir mikroskoptur. Nanosızıntı ęalıřmalarında oldukęa sık kullanılan bu teknikte rezin tabakasındaki veya hibrid tabakasındaki boşluklara gümüş iyonlarının birikerek verdiği görüntülerle bağlantıdaki detaylar saptanmaktadır (Sano, Yoshiyama, Ebisu, Burrow, Takatsu ve Ciucchi, 1995; Watson, Azzopardi, Etman, Cheng, Sidhu, 2000).

2.8.2. Taramalı Elektron Mikroskobu ile Değerlendirme (Scanning Electron Microscopy-SEM)

Dentin dokusu ile bağlantı kuran materyaller arasındaki ilişkinin saptanmasında oldukça sık kullanılan görüntüleme yöntemlerinden biri olan SEM’de incelenecek örnek yüzeyi elektron demeti aracılığı ile taranır. Materyalden yansıyan elektronların dedektörler vasıtasıyla toplanarak elde edilen görüntüde elektronların absorbe edildiği bölgeler koyu yansıtıldığı bölgeler ise parlak olarak görülmektedir (Watt 1996). Bu yöntem birkaç mikrometre genişliğinde olan aralıkların saptanmasına olanak sağlamaktadır. Bağlantının görüntülenebilmesi için dentinin yüksek konsantrasyonlu asitler (HNO_3 veya HCl) ile demineralize edilmesi ve ardından organik içeriklerin uzaklaştırılması için NaOCl içerisinde bekletilmesi gerekmektedir (Nakabayashi ve Takarada 1992; Ayyıldız, Uyar ve Yüzügüllü, 2009).

2.8.3. Atomik Güç Mikroskobu ile Değerlendirme (Atomic Force Microscopy)

Atomik güç mikroskobu (*atomic force microscopy*-AFM) dış sert dokularındaki yapısal değişiklikleri görüntülemek amacıyla kullanılabilmektedir (Marshall, Chang, Saeki, Gansky ve Marshall SJ., 2000). AFM ile asit uygulanmış dentinde intertübüler demineralizasyonlar, peritübüler değişiklikler, kalsifiye dokulardaki yapısal değişiklikler ve dentindeki kollajen yapı incelenebilir olmuştur (Kinney, Balooch, Marshall SJ, Marshall GW ve Weihs, 1996). Bu metotun en önemli avantajı hava ile nemden etkilenmemesi ve yüksek çözünürlüklü görüntüler vermesidir (Cassinelli ve Morra 1994). Dentindeki boyutsal ve yapısal değişikliklerin belirlenmesinde kullanılan en iyi metotlardan biri olan AFM, malzemelerin yüzey topografisini çok hassas bir iğnenin yüzeyi taramasıyla atomlar arası kuvvetleri *nanonewton* duyarlılığında ölçebilen bir yöntemdir. (Georgescu, Iovan, Stoleriu, Topoliceanu ve Andrian, 2010).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

Yürütülen çalışmada; dentin deproteinizasyonu amacı ile kullanılan Sodyum Hipoklorit (*Endosolve-Hp*, Imicryl, Türkiye), Bromelain enzimi (*Bromelain*, Solgar, ABD), Ozon gazı (*OzonyTronX®* Mymed, Almanya) ve kontrol grubu örneklerinde *etch&rinse* adeziv sistem (*Imicryl-Panora 200*, Konya, Türkiye; *Prime&Bond NT*, Dentsply, Milford, ABD) ile birlikte sınıf V kompozit rezin (*Charisma Smart®*-Kulzer, Frankfurt, Almanya) restorasyonlar ve kompozit bloklar tamamlandı. Hazırlanan örnekler 1 yıl ve 2 yıl süre ile yaşlandırılarak, restorasyon-dentin arayüz birleşiminin mikrosızıntı ve bağlanma dayanıklılığı düzeyi açısından karşılaştırılması amaçlandı. Bu karşılaştırma sonucunda yaşlandırılmış restorasyonlarda bağlanma dayanıklılığı açısından en yüksek değeri gösteren ve en düşük mikrosızıntı düzeyini oluşturan dentin deproteinizasyon ajanının tespit edilmesi ve geleneksel metot ile karşılaştırılması hedeflendi. Yürütülen tez çalışması kapsamında Resim 3.1’de gösterilen gruplar oluşturuldu.



Resim 3.1. Tez çalışmasında oluşturulan gruplar ve uygulama basamakları

3.1. Etik Kurul Onayı

Çalışma için gerekli olan etik kurul onayı, Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan alınmıştır (21071282-050.99- sayılı; 06.12.2018) (Ek-1). Çalışmada kullanılacak, Gazi Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Kliniği'nde çekim endikasyonu konulan dişlerin toplanması amacı ile hastalara araştırma hakkında bilgi verildi ve aydınlatılmış onam formları imzalatıldı (Ek-2).

3.2. Örneklem Genişliği Hesaplaması

Gruplardan herhangi ikisi arasında mikrosızıntı varlığı ve bağlanma dayanıklılığı yönünden en az %35'lik, bağlanma dayanımı yönünden ise en az 4,5 (MPa)'lık bir farkın, %85 güç ve %5 yanılma düzeyinde istatistiksel olarak önemliliğini test edebilmek için ana grupların her birine en az 28'er örneğin dahil edilmesi öngörüldü. %35'lik fark bilgisine klinik öngörülerden yola çıkarak ulaşılrken 4,5 (MPa)'lık fark bilgisi ise yapılan bir çalışmadan (Ferreira ve diğerleri, 2015) elde edildi. Örneklem genişliği hesaplamaları G*Power 3.0.10. (Franz Faul, Universität Kiel, Kiel, Germany) paket programında yapıldı.

3.3. Mikrosızıntı Testleri

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Kliniği'ne başvuran hastalardan çekim endikasyonu konularak ve aydınlatılmış onamları alınarak çekilen alt ve üst daimi 3. büyük azı dişler toplandı. Toplanan dişlerin mine yüzeyleri büyütme altında incelenerek dişler, çalışmaya dahil edilme kriterleri yönünde seçildi:

- Çekime bağlı defekt bulunmaması
- Mine-dentin defekti bulunmaması
- Mine yüzeyinde hipomineralizasyon olmaması
- Diş yüzeyinin çürüksüz olması
- Diş yüzeyinde daha önceden yapılmış bir restorasyon bulunmaması

Sonuç olarak, yapılan *power* analizi verileri ve belirtilen kriterler doğrultusunda 56 adet alt/üst daimi 3. büyük azı dişleri çalışmaya dahil edildi.

Çalışmada seçilen dişler, üzerlerindeki eklentilerin el aletleri yardımı ile uzaklaştırılması sonrasında düşük turda mikromotor yardımıyla pomza ve lastikler kullanılarak temizlendi. Dişler kullanılmadan önce en fazla 3 ay süre ile olmak üzere %0,1 timol içeren serum fizyolojik içerisinde bekletildi.

Mikrosızıntı grubunda bulunan her dişin bukkal ve lingul/palatinaline dijital kumpas yardımı ile 2 mm okluzogingival, 2 mm bukkolingual ve 3 mm meziodistal boyutlarında 836-109/010 numaralı elmas frez (DMA Dilman Dental, Ankara, Türkiye) ile su soğutması altında standart servikal kaviteler açıldı (56 diş, 112 kavite). Gruplardaki tüm kavitelere mine kenarından başlanarak 15 saniye %37 fosforik asit (Imicryl-Panora 200, Konya, Türkiye) uygulandı, kaviteler 30 saniye boyunca su spreyi ile yıkandı. Yıkanan kaviteler steril pamuk peletlerle kurularak dentinin hafif nemli kalması sağlandı (Resim 3.2). Kaviteleri açılan ve standart işlemlerden geçirilen dişler rastgele olarak 4 ana gruba ayrıldı (n=28).



Resim 3.2. Mikrosızıntı testi için kullanılacak dişte servikal kavitenin hazırlanması ve asitle pürüzlendirme işleminin tamamlanması

Mikrosızıntı Testi; Grup 1 Örneklerinin Hazırlanması (Kontrol Grubu, n=28) :

Asitle pürüzlendirme işlemi tamamlanan servikal kavitelere üretici firmanın talimatlarına göre aseton bazlı bir *etch&rinse* sistemi olan *Prime&Bond NT* (Dentsply, Milford, ABD) uygulandı. Ardından kaviteler tek tabaka halinde kompozit (*Charisma Smart®*-Kulzer, Frankfurt, Almanya) ile restore edildi. Üretici firma önerileri doğrultusunda 20 sn süreyle LED cihazı (Woodpecker, Guilin, Çin) kullanılarak polimerizasyon işlemi tamamlandı. Ardından polisaj diskleri (Maxflex Snap On, Stoddard, İngiltere) ile restorasyonların bitimi yapıldı (Resim 3.3).



Resim 3.3. Mikrosızıntı testi için grup 1 (kontrol grubu) örneklerinin hazırlanması

14 adet dişin bukkal ve lingual/palatinal yüzeylerinde hazırlanan kavitelere tamamlanan 28 adet restorasyon, 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında mikrosızıntı testi yapılması amacı ile 2 alt gruba ayrıldı.

Mikrosızıntı Testi; Grup 2 Örneklerinin Hazırlanması (Sodyum Hipoklorit Grubu, n=28) :

Asitle pürüzlendirme işlemi tamamlanan kavitelere bond fırçası (*HERO Microbrush*, Shanghai Hua En Industrial Limited Company) ile 30 sn boyunca %5,25'lik NaOCI (*Endosolve-Hp*, Imicryl Diş Malzemeleri San. Ve Tic. A.Ş., Türkiye) uygulandı. Uygulama sırasında oklüzoservikal ve meziodistal yönlerde 15'er sn süreyle fırçalama yapıldı. Duvarlar 30 sn su spreyi ile yıkandı, 5 sn hava spreyi ile kurutuldu. Kontrol grubu örneklerinde olduğu gibi 2 aşamalı *etch&rinse* bonding sistemle birlikte uygulanan 28 adet kompozit restorasyonun polimerizasyon, polisaj ve bitim işlemleri tamamlanarak, örnekler 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında mikrosızıntı değerlendirmeleri yapılması amacı ile 2 alt gruba ayrıldı (Resim 3.4).



Resim 3.4. Mikrosızıntı testi için grup 2'de deproteinizasyon ajanı olarak sodyum hipoklorit uygulaması ve yaşlandırma gruplarının oluşturulması

Mikrosızıntı Testi; Grup 3 Örneklerinin Hazırlanması (Bromelain Grubu, n=28) :

Yüz ml distile su ve 3 gr bromelain tozu (*Bromelain*, Solgar, ABD) ile hazırlanan %3'lük bromelain solüsyonu asitle pürüzlendirilmiş servikal kavitelere bond fırçası (*HERO Microbrush*, Shanghai Hua En Industrial Limited Company) ile 30 sn boyunca oklüzoservikal ve meziodistal yönde eşit sürelerle kullanıldı. Ardından duvarlar 30 sn su spreyi ile yıkandı, 5 sn hava spreyi ile kurutuldu. Polimerizasyon, polisaj ve bitim işlemleri tamamlanan 28 adet kompozit restorasyon, 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokollerinin ardından mikrosızıntı testi yapılması amacı ile 2 alt gruba ayrıldı. (Resim 3.5)



Resim 3.5. Mikrosızıntı testi için grup 3'de deproteinizasyon ajanı olarak %3 bromelain solüsyonu uygulaması ve yaşlandırma gruplarının oluşturulması

Mikrosızıntı Testi; Grup 4 Örneklerinin Hazırlanması (Ozon Grubu, n=28):

Asitle pürüzlendirilmiş servikal kavitelere 40 sn. boyunca endodontik prob ile ozon gazı (*OzonyTronX®* Mymed, Almanya) uygulandı. Ardından 30 sn süre ile %10 konsantrasyonunda askorbik asit (Exvitamin, Türkiye) uygulanan örnekler diğer gruplarda anlatıldığı şekilde tamamlandı. Hazırlanan 28 adet kompozit restorasyon, 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokollerini takiben mikrosızıntı değerlendirmeleri yapılması amacı ile 2 alt gruba ayrıldı. (Resim 3.6)



Resim 3.6. Mikrosızıntı testi için grup 4'de deproteinizasyon ajanı olarak 40 sn ozon gazı (OzonyTronX® Mymed, Almanya), askorbik asit uygulaması ve yaşlandırma gruplarının oluşturulması

Hazırlanan tüm örnekler 48 saat süre ile distile su içinde 37 °C' de etüvde (*Nüve Incubator EN 120*, Türkiye) bekletildi (Resim 3.7).



Resim 3.7. Distile su içerisinde etüvde bekletilen örnekler

Etüvden çıkarılan örnekler ağız ortamında 1 yıl yaşlanma sürecine karşılık gelen (Gale ve Darvell 1999) 5-55 °C' de, banyoda kalma süresi 30 saniye; banyolar arası geçiş süresinin 10 saniye olduğu 10.000 kez tekrarlanan termal siklus ile yaşlandırma protokolüne (Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protez Laboratuvarında *SD Mechatronik Thermocycler* cihazı (SD Mechatronik GMBH Felderkirchen- Westerhan, Almanya) tabi tutuldu (Resim 3.8).



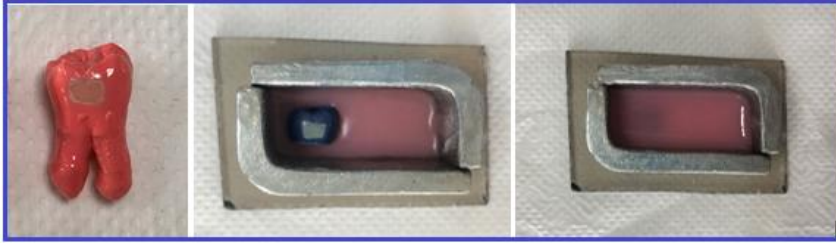
Resim 3.8. Bir yıl yaşlandırma protokolü; 5-55 °C, 10 sn/10.000 termal siklus cihazı (*SD Mechatronik Thermocycler* cihazı, Almanya)

İki yıl yaşlandırma protokolü uygulanacak gruplardaki dişler termal siklus ile yaşlandırma işleminden sonra hergün değiştirilen distile su içerisinde 1 yıl süre ile 37 °C’de etüvde (*Nüve Incubator EN 120*, Türkiye) muhafaza edildi (Resim 3.9).



Resim 3.9. İki yıl yaşlandırma protokolü; 5-55 °C, 10 sn / 10.000 termal siklusu takiben 1 yıl süre ile etüvde (*Nüve Incubator EN 120*, Türkiye) bekletilen örnekler

Bir ve 2 yıl yaşlandırma protokollerine tabi tutulan dişlerin apeksleri 15 sn asitlenerek 30 sn su ile durulandı. Ardından 5 sn hava-su spreyi ile kurutularak *Prime&Bond NT* (Dentsply, Milford, ABD) uygulandı. Dişlerin apeksleri kompozit rezin (*Charisma Smart®*-Kulzer, Frankfurt, Almanya) ile kapatıldı. Adeziv ve kompozit uygulamalarında LED cihazı (*Woodpecker*, Guilin, Çin) ile 20 sn polimerizasyon işlemi yapıldı. Dişlerin labial ve lingual/palatinal yüzeylerine restorasyon sınırlarından 1-2 mm mesafe kalacak şekilde adeziv bant yapıştırıldı. Adeziv bant dışında kalan alanlara iki kat tırnak cilası uygulanarak izolasyon sağlandı. Örnekler %2 metilen mavisi (Merck, Darmstadt, Almanya) içinde 4 saat bekletildikten sonra 5 dakika akan su altında yıkandı. Ardından su soğutması altında aeratör yardımı ile köklerinden ayrılan kronlar metal kalıplar aracılığı ile akrilik bloklara gömüldü (Resim 3.10, Resim 3.11).

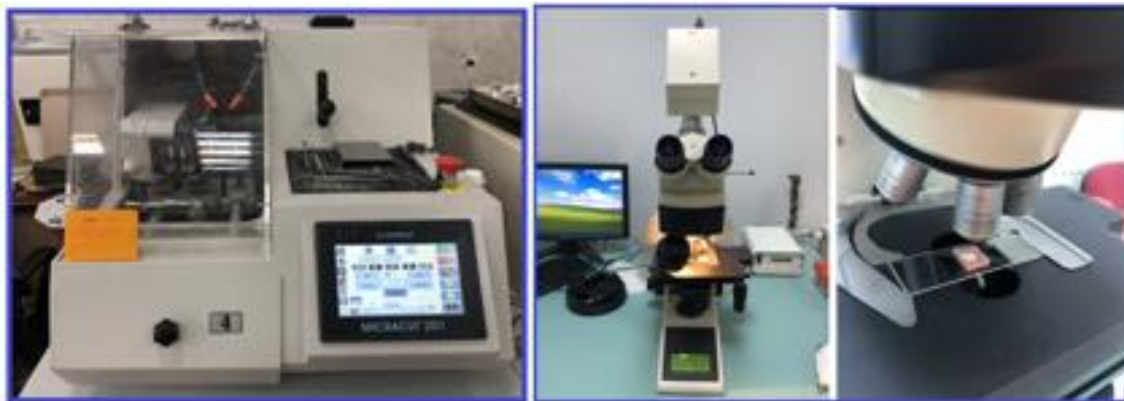


Resim 3.10. Mikrosızıntı testi hazırlık aşamaları



Resim 3.11. Mikrosızıntı testi için hazırlanan çalışma gruplarına ait örnekleri

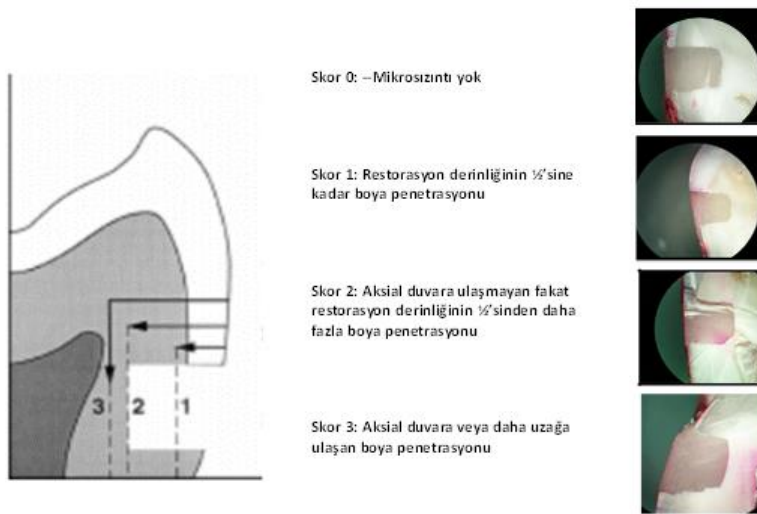
Örneklerin gömülü olduğu akrilik bloklardan, *Metkon Microcut 201* cihazı (Metkon, Türkiye) ile 2mm'lik kesitler alınarak (Resim 3.12.) mikrosızıntı testi değerlendirilmesi Çizelge 3.1 ve Resim 3.13'de gösterilen skorlamalar doğrultusunda iki ayrı gözlemci tarafından yapıldı (Baseggio, Consolmagno, Carvalho, Ueda, Schmitt, Formighieri ve Naufel, 2009).



Resim 3.12. Mikrosızıntı testi microcut cihazı (*Metkon Microcut 201*, Türkiye) Stereomikroskop (*Olympus SZ4045 TRPT*, Japonya)

Çizelge 3.1. Mikrosızıntı test skorları ve tanımları (Baseggio ve diğerleri, 2009)

Skor 0	Boya penetrasyonu yok
Skor 1	Restorasyon derinliğinin ½'sine kadar boya penetrasyonu
Skor 2	Aksial duvara ulaşmayan fakat restorasyon derinliğinin ½'sinden daha fazla boya penetrasyonu
Skor 3	Aksial duvara veya daha uzağa ulaşan boya penetrasyonu



Resim 3.13. Mikrosızıntı test skor diyagramı ve örnek stereomikroskop görüntüleri (Evancusky ve Meiers, 2000; Kılınç, Aslan, Kılıç, Er ve, Kurt, 2016)

3.4. Bağlanma Dayanımı Testleri

Bağlanma dayanımı yönünden en az 3,7 MPa'lık bir farkın %80 güç ve 0,05 yanılma düzeyinde istatistiksel olarak önemliliğini test edebilmek için *Power Analizi* yapıldı, araştırma kapsamında yer alacak grupların her birine en az 28' er deneğin dahil edilmesi öngörüldü. Örneklem genişliği hesaplamaları *G*Power* 3.0.10. (Franz Faul, Universität Kiel, Kiel, Almanya) paket programında yapıldı.

Bağlanma dayanıklılığı (BD) ölçümleri amacı ile okluzal yüzeyleri yere paralel olacak şekilde konumlandırılan dişler, mine-sement birleşiminin 2mm altına kadar polipropilen borular yardımı ile akrilik bloklara gömüldü. Örneklerin okluzal yüzeyleri su soğutması altında silikon karbid diskler kullanılarak yüzeyel dentin açığa çıkana kadar aşındırıldı. Düz bir dentin yüzeyi sağlamak ve dentin üzerinde homojen bir smear tabakası oluşturmak

amacıyla, dişlerin oklüzal yüzeyleri sırasıyla 360 ve 600 grit silikon karbid zımpara kağıtlar yardımı ile (*Presi Mepacol P230*, Fransa) su irrigasyonu altında zımparalandı. Hazırlanan dentin yüzeylerine, %37'lik fosforik asit (*Imicryl-Panora 200*, Konya, Türkiye) 15 saniye uygulandı ve örnekler 30 saniye boyunca su spreyi ile yıkandı. Yıkanan yüzeyler steril pamuk peletlerle 5 saniye süreyle kurulandı ve dentin hafif nemli bırakıldı (Resim 3.14).



Resim 3.14. Bağlanma dayanım testi örneklerinin yüzey hazırlığı aşamaları (*Presi Mepacol P230*)

Hazırlanan dentin yüzeylerine kompozit rezinin standart olarak uygulanabilmesi amacıyla 2 mm derinliğinde ve 3 mm genişliğinde standardize silikon kalıplar hazırlandı. Hazırlanan 112 diş rastgele olarak 4 ana gruba ayrıldı (n=28).

Bağlanma Dayanımı Testi; Grup 1 Örneklerinin Hazırlanması (Kontrol Grubu, n=28):

Dentin yüzeylerine *Prime&Bond NT* yapıştırıcı sistemi (Dentsply, Milford, ABD) üretici firmanın talimatlarına göre uygulandı. Dentin yüzeyine yerleştirilen standart silikon kalıp yardımı ile kompozit rezin restorasyon (*Charisma Smart®*-Kulzer, Frankfurt, Almanya) tamamlandı. LED cihazı (*Woodpecker*, Guilin, Çin) ile 20 saniye süreli polimerizasyon işleminin tamamlanmasının ardından silikon kalıp bir bistüri yardımı ile kesilerek uzaklaştırıldı. 28 adet dişin açığa çıkarılan dentin yüzeylerinde hazırlanan kompozitler, 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında bağlanma dayanımı değerlendirmeleri yapılması amacı ile 2 alt gruba ayrıldı (Resim 3.15).



Resim 3.15. Bağlanma dayanımı testi; grup 1 örneklerinin hazırlanması (kontrol grubu)

Bağlanma Dayanımı Testi; Grup 2 Örneklerinin Hazırlanması (NaOCl Grubu, n=28) :

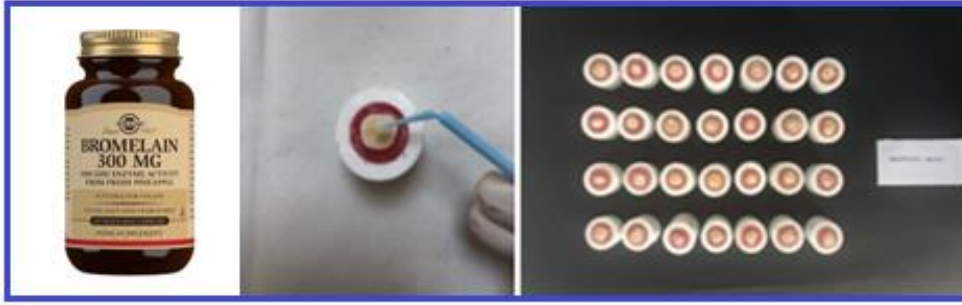
Asitle aşındırma işlemi tamamlanmış dentin yüzeylerine %5,25'lik NaOCl (*Endosolve-Hp*, Imicryl Diş Malzemeleri San. Ve Tic. A.Ş., Türkiye) 30 sn boyunca bir fırça (*HERO Microbrush*, Shanghai Hua En Industrial Limited Company) yardımı ile uygulandı. Uygulama sırasında oklüzoservikal ve meziodistal yönlerde 15'er sn süreyle fırçalama yapıldı. Daha sonra dentin yüzeyi 30 sn su spreyi ile yıkanıp 5 sn hava spreyi ile kurutuldu. Kontrol grubu örneklerinde olduğu gibi *Prime&Bond NT* yapıştırıcı sistemi (Dentsply, Milford, ABD) ve kompozit rezin kullanılarak tamamlanan 28 adet kompozit blok, 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında bağlanma dayanımı testi yapılması amacı ile 2 alt gruba ayrıldı (Resim 3.16).



Resim 3.16. Bağlanma dayanımı grup 2'de (sodyum hipoklorit grubu) kullanılan deproteinizasyon ajanı ve uygulaması

Bağlanma Dayanımı Testi; Grup 3 Örneklerinin Hazırlanması (Bromelain Grubu, n=28) :

Hazırlanan dentin yüzeylerine distile su ve Bromelain tozu (*Bromelain*, Solgar, ABD) ile hazırlanan %3 oranında bromelain içeren solüsyon oklüzoservikal ve meziodistal yönde eşit sürelerle olmak üzere 30 sn boyunca bir fırça yardımı ile uygulandı. Ardından dentin yüzeyi 30 sn su spreyi ile yıkandı ve 5 sn hava spreyi ile kurutuldu. Diğer gruplarda uygulandığı şekilde hazırlanan 28 adet kompozit blok, 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokollerinin ardından bağlanma dayanımı testi yapılması amacı ile 2 alt gruba ayrıldı (Resim 3.17).



Resim 3.17. Bağlanma dayanımı grup 3’de (bromelain grubu) kullanılan deproteinizasyon ajanı ve uygulaması

Bağlanma Dayanımı Testi; Grup 4 Örneklerinin Hazırlanması (Ozon Grubu, n=28) :

Hazırlanan dentin yüzeylerine 40 sn. boyunca endodontik prob ile ozon gazı (*OzonyTronX®*, Mymed, Almanya) uygulandı. Ardından 30 sn süre ile %10 konsantrasyonunda askorbik asit (Exvitamin, Türkiye) uygulanan örnekler diğer gruplarda anlatıldığı şekilde tamamlandı. Hazırlanan 28 adet kompozit blok, 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokollerini takiben bağlanma dayanımı testi yapılması amacı ile 2 alt gruba ayrıldı (Resim 3.18).



Resim 3.18. Bağlanma dayanımı grup 4’de (ozon grubu) kullanılan ozon jeneratörü (*OzonyTronX ®*) ve uygulaması

Tüm örnekler 48 saat süre ile distile su içerisinde 37⁰C’ de etüvde (*Nüve Incubator EN 120*, Türkiye) bekletildi. Etüvden çıkarılan örnekler ağız ortamını taklit eden 1 yıl yaşlandırma protokolü için (Gale ve Darvell 1999) 5-55⁰C’ de, banyoda kalma süresi 30 saniye; banyolar arası geçiş süresinin 10 saniye olduğu 10.000 kez tekrarlanan termal siklus ile yaşlandırma işlemine (Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protez Laboratuvarında SD *Mechatronik Thermocycler* cihazı; SD Mechatronik GMBH Felderkirchen-Westerhan, Almanya) tabi tutuldu.

Gruplarda 2 yıl yaşlandırma protokolü uygulanacak olan örnekler termal siklus ile yaşlandırma işleminden sonra hergün değiştirilen distile su içerisinde 1 yıl süre ile 37°C'de etüvde (Nüve Incubator EN 120, Türkiye) bekletildi.

Termal siklustan çıkartılarak 1 yıl yaşlandırma protokolünü tamamlamış olan örnekler ve termal siklusu takiben 1 yıl süre ile distile su içerisinde etüvde bekletirlererek 2 yıl yaşlandırma protokolünü tamamlamış olan örneklerin tümü makro-makaslama bağlanma dayanımı testi için *Shimadzu AG-IS Autograph* (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, Amerika) cihazına yerleştirildi. Cihazın üzerinde yer alan özel bıçak, dentin yüzeyine konumlandırılarak makro-makaslama yöntemiyle (1 mm/dakika) bağlanma dayanımı ölçüldü (Resim 3.19). Kopma bağlanma değeri N (Newton) cinsinden elde edildi. Elde edilen değer yüzey alanına bölünerek MPa (Megapaskal) olarak hesaplandı.



Resim 3.19. Makro-makaslama testi için kullanılan *Shimadzu AG-IS Autograph* (Shimadzu Scientific Instruments, Amerika) cihazı

Makro-makaslama testi uygulanan her bir örneğin kırılma yüzeyleri stereomikroskop altında (Olympus SZ4045 TRPT, Osaka, Japonya) X 40 büyütmede kırık tipi açısından incelendi;

- *Adeziv kırık tipi*; Bağlayıcı sistem ve/veya kompozit dentinde kırık yüzey izlenmiyor, temiz bir dentin yüzeyi izleniyor.
- *Kompozit içinde koheziv kırık tipi*; Dentin yüzeyinde kompozit parçası var olmakla birlikte dişte kırık izlenmiyor.
- *Karışık kırık tipi*; Dentin yüzeyinde hem dentin rezin hem de kompozit kırığı izleniyor.
- *Dentinde koheziv kırık tipi*; Dentinden kompozit tamamen ayrılmış fakat dentin kırığı gözleniyor.

3.5. İstatistiksel Analiz Yöntemi

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Mikrosızıntı değerlendirmesinde gözlemciler arasındaki uyum ya da uyumsuzluk *Kappa* istatistiksel test yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Gruplara göre kırık tipi ve mikrosızıntının karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. Gruplara ait 1 ve 2 yıl yaşlandırma prosedürlerine göre kırık tipi ve mikro sızıntının karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. Bağlanma dayanımı üzerine etki eden grup ve dönem ana etkilerinin ve etkileşimlerinin incelenmesi Univariate analizi ile gerçekleştirildi ve ortalamaların karşılaştırılmasında İki yönlü varyans analizi kullanıldı. Analiz sonuçları nicel veriler için ortalama ve standart sapma olarak kategorik değişkenler frekans (yüzde) olarak sunuldu. Önem düzeyi $p<0,050$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışma; 168 adet insana ait alt/üst daimi 3. molar dişlerde dentin deproteinizasyonu amacı ile Sodyum Hipoklorit (NaOCl), Bromelain enzimi, Ozon gazı kullanılarak *etch&rinse* adeziv sistemi ile birlikte oluşturulan kompozit (*Charisma Smart®* -Kulzer, Frankfurt, Almanya) restorasyonlar ve kontrol grubu örneklerinde yürütüldü. Çalışmada 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokollerinden geçirilen gruplar kompozit-dentin arayüz birleşiminin mikrosızıntı ve bağlanma dayanıklılığı düzeyi açısından karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma sonucunda yaşlandırılmış restorasyonlarda bağlanma dayanıklılığı açısından en yüksek değeri gösteren ve en düşük mikrosızıntı düzeyini oluşturan dentin deproteinizasyon ajanının tespit edilmesi ve geleneksel metot ile karşılaştırılması hedeflendi.

4.1. Mikrosızıntı Test Bulguları

Yürütülen tez çalışmasında iki ayrı gözlemci tarafından yapılan mikrosızıntı skorlamalarında gözlemciler arası uyum düzeyi *Cohen'in Kappa* testine göre “çok iyi” olarak bulgalandı ($K=0,83$; $p<0,001$).

Gruplar arasında yaşlandırma protokolleri sonrasında elde edilen mikrosızıntı dağılımları Çizelge 4.1’de görülmektedir.

Bir yıl yaşlandırma protokolü sonrasında elde edilen mikrosızıntı değerleri karşılaştırıldığında, Bromelain ile dentin deproteinizasyonu yapılan grubun istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak şekilde diğer gruplardan yüksek mikrosızıntı skorları oluşturduğu bulgalandı ($p<0,001$). Kontrol ve NaOCl gruplarının %85,7’sinde, Ozon grubunun %64,3’ünde mikrosızıntı oluşmadığı bulgulanırken; Bromelain grubunun %85,7’sinde farklı mikrosızıntı skorlarının (Skor 1: %14,3; Skor 2: %21,4; Skor 3: %50) oluştuğu saptandı.

İki yıl yaşlandırma protokolü sonrasında elde edilen mikrosızıntı değerlerinde, 1 yıl yaşlandırma protokolü sonrasında elde edilen sonuçlara benzer şekilde Bromelain grubunun diğer gruplardan yüksek mikrosızıntı skorları ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturduğu bulgalandı ($p<0,001$). Kontrol grubunun %42,9’unda, NaOCl grubunun %50’sinde, Ozon grubunun %42,9’unda mikrosızıntı gözlemlenmezken; Bromelain

grubunun %100'ünde farklı mikrosızıntı skorları (Skor 2: %14,3; Skor 3: %85,7) gözlemlendi.

Kontrol grubu örneklerinden 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında elde edilen mikrosızıntı değerlerinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulgalandı ($p=0,032$). Bir yıl yaşlandırma protokolü sonrasında kontrol grubunun %85,7'sinde mikrosızıntı yokken, 2 yıl yaşlandırılan kontrol grubu sonrasında bu oran %42,9'a düştü. Bir yıl yaşlandırma protokolü uygulanan kontrol grubunun restorasyon derinliğinin $\frac{1}{2}$ 'sine kadar boya penetrasyonu (Skor 1) oranı %14,3 iken, 2 yıl yaşlandırılan kontrol grubunda bu oranın %28,6'ya yükseldiği saptandı. Aynı zamanda kontrol grubunda 1 yıl yaşlandırma protokolü uygulanan örneklerde mikrosızıntı yönünden skor 2 ve 3 dereceleri görülmediği halde, 2 yıl yaşlandırma protokolü uygulanan örneklerde bu oranlar sırası ile %7,1 ve %21,4 olarak elde edildi.

Sodyum Hipoklorit grubunda 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri uygulanan örneklerin mikrosızıntı değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulgalandı ($p=0,033$). Bir yıl yaşlandırma protokolü uygulanan grubun %85,7'sinde mikrosızıntı gözlemlenmezken, 2 yıl yaşlandırma protokolünün uygulandığı grupta bu oranın %50'ye düştüğü görüldü. Ayrıca 1 yıl yaşlandırılan NaOCl grubunun restorasyon derinliğinin $\frac{1}{2}$ 'sine kadar boya penetrasyonu (Skor 1) oranı %14,3 iken, bu oran 2 yıl yaşlandırılan grupta %35'e yükseldi. Kontrol grubu sonuçlarına benzer şekilde NaOCl grubunda 1 yıl yaşlandırma protokolü uygulanan örneklerde mikrosızıntı yönünden skor 2 ve 3 dereceleri görülmediği halde, 2 yıl yaşlandırma protokolü uygulanan örneklerde her iki oran da %7,1 olarak bulgalandı.

Bromelain grubunda 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokollerini takiben elde edilen mikrosızıntı değerlerinin dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p=0,027$). Bromelain grubunun 1 yıl yaşlandırılan örneklerinin %85,7'sinde çeşitli derecelerde mikrosızıntı gözlemlenirken, 2 yıl yaşlandırma protokolü uygulanan örneklerde bu oranın skor 2 ve skor 3 derecelerinde olmak üzere toplam %100'e yükseldiği tespit edildi.

Ozon gazı ile dentin deproteinizasyonu yapılan grupta diğer gruplardan farklı olarak 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında elde edilen mikrosızıntı değerleri karşılaştırıldığında anlamlı istatistiksel farklılık oluşmadığı saptandı ($p>0,050$).

Çizelge 4.1. Deproteinizasyon ajanları ve yaşlandırma protokollerine göre mikrosızıntı skorlarının dağılımı

	Kontrol	Sodyum Hipoklorit	Bromelain	Ozon	Toplam	Test istatistiği	P
1 Yıl Yaşlandırma Mikrosızıntı							
Skor 0	12(85,7) ^a	12 (85,7) ^a	2 (14,3) ^b	9 (64,3) ^a	35(62,5)	χ^2 =34,362	<0,001
Skor 1	2 (14,3)	2 (14,3)	2 (14,3)	3 (21,4)	9 (16,1)		
Skor 2	---	---	3 (21,4)	2 (14,3)	5 (8,9)		
Skor 3	---	---	7 (50)	---	7 (12,5)		
2 Yıl Yaşlandırma Mikrosızıntı							
Skor 0	6 (42,9)	7 (50)	---	6 (42,9)	19(33,9)	χ^2 =31,468	<0,001
Skor 1	4 (28,6)	5 (35,7)	---	5 (35,7)	14 (25)		
Skor 2	1 (7,1)	1 (7,1)	2 (14,3)	2 (14,3)	6 (10,7)		
Skor 3	3 (21,4) ^a	1 (7,1) ^a	12 (85,7) ^b	1 (7,1) ^a	17(30,4)		
Test istatistiği	Z=48,000	Z=32,500	Z=33,500	Z=35,500			
p	0,032	0,033	0,027	0,403			

: Ki-kare test istatistiği, Z: Wilcoxon test istatistiği,
a-b: aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur.

4.2. Bağlanma Dayanımı Test Bulguları

Bağlanma dayanımı test sonuçları açısından gruplar ve yaşlandırma dönemleri arası etkileşimler Univariate analizi ile incelendi.

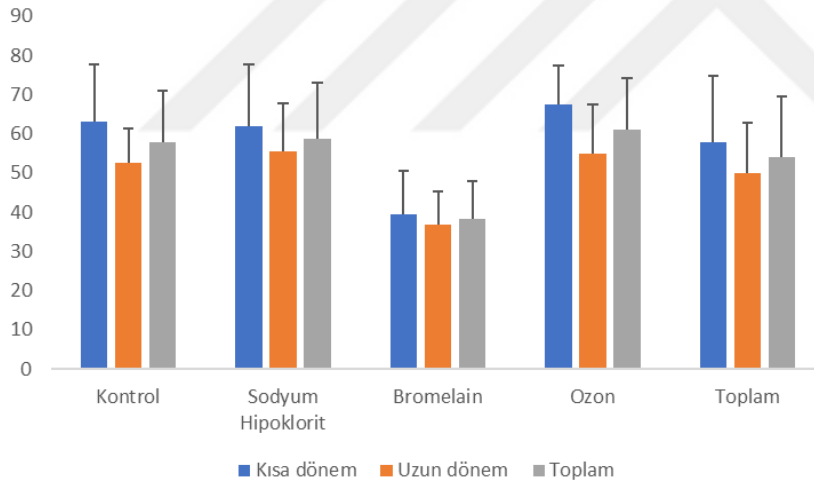
Dentinde deproteinizasyon amacı ile kullanılan NaOCl, Bromelain, Ozon gazı ve kontrol grupları 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında karşılaştırıldığında, Bromelain grubunda her iki dönemde de diğer gruplarla istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratacak düzeyde düşük bağlanma dayanımı değerleri bulguları (p<0,001) (Çizelge 4.2, Şekil 4.1). Çizelge 4.2’de gösterildiği üzere bağlanma dayanımı testi sonucunda elde edilen bulguların ortalamaları; kontrol grubunda 57,9 MPa, NaOCl grubunda 58,7 MPa, Bromelain grubunda 38,2 MPa ve Ozon gazı grubunda 61,2 MPa olarak raporlandı. Tüm gruplardan elde edilen bağlanma dayanımı verilerinin ortalamaları; 1 yıl yaşlandırma protokolü sonrasında 58; 2 yıl yaşlandırma protokolü sonrasında ise 49,9 olarak saptandı. Yaşlandırma sürelerinin grup-içi bağlanma dayanımı değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olduğu görüldü

($p<0,001$) (Çizelge 4.3). Bir yıl yaşlandırma protokolü uygulandığında grupların sergilediği bağlanma dayanımı ortalamalarının, 2 yıl yaşlandırma protokolü sonrasında elde edilen bağlanma dayanımı ortalamalarından yüksek olduğu, gruplar arasında oluşan fark açısından istatistiksel farklılık oluşmadığı testpit edildi ($p=0,430$).

Çizelge 4.2. Deproteinizasyon ajanları ve yaşlandırma protokollerine göre elde edilen bağlanma dayanımı değerlerinin (MPa) dağılımı

	Kontrol	Sodyum Hipoklorit	Bromelain	Ozon	Toplam
1 yıl yaşlandırma protokolü	$63,1 \pm 14,6$	$61,9 \pm 15,9$	$39,6 \pm 11,1$	$67,5 \pm 9,8$	$58 \pm 16,8$
2 yıl yaşlandırma protokolü	$52,7 \pm 8,7$	$55,4 \pm 12,5$	$36,8 \pm 8,4$	$54,8 \pm 12,8$	$49,9 \pm 13$
Toplam	$57,9 \pm 13^b$	$58,7 \pm 14,4^b$	$38,2 \pm 9,8^a$	$61,2 \pm 12,9^b$	$54 \pm 15,5$

a-b: Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur



Şekil 4.1. Deproteinizasyon ajanları ve yaşlandırma protokollerine göre elde edilen bağlanma dayanımı değerlerinin dağılım grafiği

Çizelge 4.3. Çalışma gruplarında bağlanma dayanımı değerlerinin yaşlandırma dönemlerine göre karşılaştırılması

	Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	P
Grup-İçi*					
Yaşlandırma Süresi	9472,880	3	3157,627	21,882	<0,001
Gruplar-Arası*					
Yaşlandırma Süresi	401,783	3	133,928	0,928	0,430

F: İki yönlü varyans analizi test istatistiği

Deproteinizasyon amacı ile oluşturulan gruplar kendi içlerinde Bonferroni testi ile karşılaştırıldığında; Bromelain grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p<0,001$) bulgulanırken; Ozon gazı, NaOCl ve kontrol grupları arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı ($p=1,000$) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Deproteinizasyon ajanlarının etkisine ait çoklu karşılaştırma sonuçlarının dağılımı

(I) Grup	(J) Grup	Ortalama Farkı (I-J)	S. hata	p	95% Güven aralığı	
					Alt limit	Üst limit
Kontrol Grubu	Sodyum Hipoklorit Grubu	-0,783	3,211	1,000	-9,419	7,852
	Bromelain Grubu	19,695	3,211	<0,001	11,06	28,33
	Ozon Grubu	-3,29	3,211	1,000	-11,925	5,346
Sodyum Hipoklorit Grubu	Bromelain Grubu	20,478	3,211	<0,001	11,843	29,114
	Ozon Grubu	-2,506	3,211	1,000	-11,142	6,129
Bromelain Grubu	Ozon Grubu	-22,985	3,211	<0,001	-31,62	-14,349

*Bonferroni testi

Deproteinizasyon amacı ile kullanılan ajanlar ve yaşlandırma protokolleri açısından bağlanma dayanımı testi sonrasında elde edilen kırık tiplerinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmediği saptandı ($p>0,050$) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Deproteinizasyon ajanları ve yaşlandırma protokollerine göre bağlanma dayanımı testi sonrasında gözlemlenen kırık tiplerinin dağılımı

	Kontrol	Sodyum Hipoklorit	Bromelain	Ozon	Toplam	Test istatistiği	p
1 yıl yaşlandırma protokolü uygulanan gruplarda görülen kırık tipleri							
Adeziv	2 (14,3)	2 (14,3)	5 (35,7)	2 (14,3)	11 (19,6)	χ^2 =3,080	0,799
Karışık	9 (64,3)	9 (64,3)	7 (50)	9 (64,3)	34 (60,7)		
Koheziv	3 (21,4)	3 (21,4)	2 (14,3)	3 (21,4)	11 (19,6)		
2 yıl yaşlandırma protokolü uygulanan gruplarda görülen kırık tipleri							
Adeziv	3 (21,4)	1 (7,1)	6 (42,9)	2 (14,3)	12 (21,4)	χ^2 =8,853	0,182
Karışık	11 (78,6)	13 (92,9)	8 (57,1)	11 (78,6)	43 (76,8)		
Koheziv	---	---	---	1 (7,1)	1 (1,8)		
Test istatistiği	Z=9,000	Z=2,500	Z=8,000	Z=10,500			
P	0,157	0,317	0,257	0,527			

: Ki-kare test istatistiği, Z: Wilcoxon test istatistiği

5. TARTIŞMA

Diş sert dokularına restoratif rezin materyallerin bağlanma değerlerini arttırmak amacı ile mine ve dentin yüzeylerinde pek çok çalışma yapılmaktadır. Mine yüzeyinde yüksek bağlanma değerleri elde edilebilirken dentinin yapısal özelliklerinden dolayı bağlanma değerlerinde azalma bildirilmektedir. Dentinde oluşan hibrid tabakanın restorasyonun bağlanma ve zaman içerisindeki uzun ömürlülüğünden sorumlu olduğu açıklanmış olmasına rağmen, primer ve adeziv rezinin demineralize dentin kollajen tabakasına her zaman tam olarak nüfuz edemeyeceğine dair kanıtlar vardır. Asitle aşındırma işleminden sonra dentin demineralizasyonunun derinliği ile rezin infiltrasyonunun derinliği arasındaki tutarsızlık, hibrid tabakanın içinde ve altında mikro gözenekli bölgelerin oluşmasına izin verir. Gözenekler, kollajen fibrilleri ve/veya polimerize rezinlerin hidrolizi ile arayüzün bozunması için bir yol oluşturur (Ghonaim, Abdelmohsen, Elkassas, Abo-El-Ezz, 2014).

Asit ile aşındırma işleminden sonra dentinde kollajen fibrillerin çözünmesi sağlanarak, dentin geçirgenliği artırılarak ve bileşimi değiştirilerek daha iyi monomer difüzyonu sağlanacağı ve böylece bağlanma dayanımı değerlerinde artış olabileceği düşünülmektedir. Deproteinize dentin, demineralize dentin'den daha yüksek sertliğe, esneklik modülüne, ıslanabilirliğe ve geçirgenliğe sahiptir. Aynı zamanda deproteinizasyon işleminden sonra dentin substratı, sadece normal demineralizasyon işlemiyle oluşturulamayan, çok sayıda düzensizlik ve anastomoz içeren gözenekli bir yapıya dönüştürülür. Bu modifiye edilmiş dentin substratı, adezyon için uygun bir karakteristik olan asit uygulanmış mineye benzer bir dentin oluşturur ve rezinin mekanik olarak tutunmasına olanak sağlar (Gisele, Roberta, Maria, Ana ve Regina, 2006). Deproteinize edilmiş dentin üzerine uygulanan adeziv sistemlerin rezin-dentin bağlanma dayanımında artışı teşvik edebileceği bildirilmektedir (Ghonaim, Abdelmohsen, Elkassas, Abo-El-Ezz, 2014). Yürütülen tez çalışmasında farklı ajanlar ile dentin deproteinizasyonu yapılarak hazırlanan örnekler mikrosızıntı ve bağlanma dayanımı açısından incelenmiştir.

In vitro çalışmalarda sıklıkla kullanılan sığır dişlerinin insan dişlerine oranla daha fazla mikrosızıntı gösterdiği ve daha düşük bağlantı değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Retief, Mandras, Russel ve Denys, 1990). Abuabara ve arkadaşları'na göre sığır dişleri, adeziv/mine-dentin arayüzünde farklı sızıntı davranışlarına neden olabilen histolojik, kimyasal, yapısal ve morfolojik kompozisyonlarda varyasyonlar göstermektedir (Abuabara,

Santos, Aguiar ve Lovadino, 2004). Yapılan bir diğer çalışmada, sığır mine ve dentininin adeziv sistemler uygulandığında insan mine ve dentinine oranla daha düşük yüzey enerjisi sunduğunu bildirmişlerdir (Lopes, Sinhoreti, Correr, Sobrinho ve Consani, 2003). İnsan ve sığır daimi dişlerinde dentinin %37'lik fosforik asit ile aşındırıldırılması ardından adeziv-dentin bağlanma dayanımı karşılaştırılması yapılan bir çalışmada, sığır dentininin insan dentinine oranla bağlanma dayanımının önemli ölçüde düşük olduğu bildirilmiştir (Titley, Childers ve Kulkarni, 2006; Yassen, Platt ve Hara, 2011). Yapılan bir diğer çalışmada ise sığır, domuz, koyun mine ve dentininin insan dişindeki bu dokulara kıyasla organik ve inorganik içeriğinde değişiklikler olduğu ve insan materyalinin yerine hayvan substratlarının kullanıldığı çalışmaların sonuçları yorumlanırken dikkate alınması gereken farklılıklar olduğu vurgulanmaktadır (Ortiz-Ruiz, Teruel-Fernández, Alcolea-Rubio, Hernández-Fernández, Martínez-Beneyto ve Gispert-Guirado, 2018). Bu bilgiler ışığında yürütülen tez çalışmasında dentin deproteinizasyonun mikrosızıntı ve bağlanma dayanımı açısından incelenmesi amacı ile toplam 168 adet insan alt ve üst 3. daimi molar dişi kullanılmıştır.

Adeziv restorasyonların klinik ömrünün uzatılması, farklı derinliklerde dentine adezyon stabilitesinin iyileştirilmesini gerektirir. Bu nedenle, farklı derinliklerdeki dentinal substratların bağlanma stabilitesi üzerindeki etkisini değerlendirmek ilgi çekici olmaya devam etmektedir. Adezivlerin farklı dentin derinliklerindeki bağlanma performansları literatürde tartışmalı bir konudur (Zhang, Wang, Fanc, Li, Chena ve Chen, 2014). Bağlanma sırasında önemli bir rol oynayan intertübüler dentin ve kollajen fibrillerinin derin dentinde düşük içerik göstermeleri sebebiyle bağlantının zayıflayacağı bildirilmektedir (Villela-Rosa, Gonçalves, Orsi ve Miani, 2011; Pegado, Do Amaral, Flório ve Basting, 2010). Yapılan çalışmalar sonucunda, dentinin derinliği ve yapısına göre sahip olduğu nem miktarındaki farklılıklar ve bağlanma için mevcut olan intertübüler dentinin miktarı nedeniyle, tipik olarak yüzeyel dentindeki bağlanma kuvvetinin derin dentindekine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Simmer, Moreira da Silva, Bezerra, Miranda, Filho ve Amaral, 2019). Öte yandan yapılan bazı çalışmalar ise derin dentinin yüzeyel dentinden daha yüksek bağlanma gücü sunduğunu bildirmiştir (Tao, Tagami ve Pashley 1991; Özcan ve Mese, 2012). Derin dentin içerisindeki dentin tübüllerinin daha hassas olması ve yönelimlerin neredeyse radyal olması nedeni ile rezin monomer infiltrasyonuna fayda sağlayabileceği ve derin dentinin yüzeyel dentine göre daha yüksek bağlanma gücü ile sonuçlanabileceği düşünülmüştür (Yoshiyama, Carvalho, Sano, Horner, Brewer VE Pashley, 1995).

Yüzeysel ve derin dentin arasındaki morfolojik ve yapısal farklılıklar, adeziv sistemler tarafından oluşturulan hibrid tabakanın kalitesini doğrudan etkileyebilir. Ayrıca yapılan çalışmalar sonucunda derin dentine bağlanmanın yaşlanmadan sonra yüzeysel dentine göre bozunmaya daha duyarlı olduğunu göstermektedir (Zhang ve diğerleri, 2014).

Yapılan bir çalışmada, örneklerin termal döngüden geçirilmesinin ardından ölçülen bağlanma dayanımlarının derin dentin gruplarında yüzeysel dentin gruplarına göre önemli ölçüde daha düşük olduğu bulgulanmıştır. Bu durum derin dentinin özel yapısının, rezin-dentin bağlanma bölgesindeki degradasyona önemli katkıda bulunduğunu göstermektedir (Huo, 2005). Derin dentinin yüzeysel dentine göre içerdiği fazla su nedeni ile rezin etiketlerinin polimerizasyonunu kısıtlayabileceği ve ısıl döngü zorluğu altında bağlanmanın daha fazla zayıflayabileceği ön görüşü ile yapılan çalışmada., derin dentin gruplarında zayıf hibrid tabakanın varlığı gözlenmiştir. Aynı zamanda derin dentinde adezivin bağlanma dayanımının ısıl döngüden sonra önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir Burada MMP'lerin ve TIMP'lerin dağılım karakterine bağlı olarak derin dentinde yüksek jelatinolitik potansiyel olabileceği tahmin edilmektedir (Zhang ve diğerleri, 2014).

Klinik olarak çoğunlukla çürükten etkilenmiş ya da erozyon, abrazyon, atrizyon sonucu oluşan reaksiyonel dentin yüzeyleri üzerine restorasyonlar yapılsa dahi bağlanma dayanımı ve mikrosızıntı çalışmalarında çoğunlukla sağlam dentin yüzeyi kullanılmaktadır. Yapılan bir sistematik derlemeye dahil edilen çalışmalar, sağlam diş yapısına bağlı kompozit restorasyonlardan yapılmış test bloklarını önermektedir. Klinik durumlarda adezyonun çürükten etkilenmiş veya reaksiyonel dentin üzerinde yapılmasına rağmen, bu tip dokulara bağlanmadaki teknik zorluklar ve standardizasyon sağlanamamasından dolayı *in vitro* çalışmalarda sağlam dişler yaygın olarak kullanılan substratlardır (Masarwa ve diğerleri, 2016). Bu bağlamda yürütülen tez çalışması sağlam dişlerden elde edilen yüzeysel dentin örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Geçmişten bugüne yaygın olarak kullanılan amalgam restorasyonlar ile kompozit restorasyonlar kıyaslandığında, kompozit rezinlerin bağlanma dayanımı ve uzun ömürlülüğü ile ilgili endişeler duyulduğu için son 35 yıldır kompozit malzemelerin diş yapılarına bağlanması aktif bir araştırma alanı olmuştur. Çalışmalarda, kompozit restoratif materyallerin bağlanma gücünün bir dizi faktöre bağlı olduğu, bağlanma gücünün adeziv sistemlerinin bağlanma moduna göre farklılık gösterebileceği rapor edilmiştir. Literatürde,

bugüne kadar *self-etch* ve *etch&rinse* adeziv sistemler olarak tanımlanan 2 ana bağlanma sistemi türü bulunmaktadır; Her bir adeziv sistemin, klinik olarak görülebilecek avantaj ve dezavantajlara sahip olduğu bildirilmektedir (Masarwa, Mohamed, Abou-Rabii, Zaghlán ve Steier, 2016). Üç aşamalı *etch&rinse* sistemler restorasyonun dayanıklılığı, bağlanmanın uzun ömürlülüğü açısından başarılı sonuçlara sahip olmaları nedeniyle altın standart olarak kabul edilmektedirler (Frankenberger ve Tay, 2005). Fakat 3 aşamalı *etch&rinse* adezivlerin uygulama zorluğu ve uygulama basamaklarının fazlalığı nedeniyle primer ve bağlayıcı ajanların tek bir şişede toplanmasıyla basamak sayısının ikiye indirildiği beşinci jenerasyon bağlayıcı sistemler geliştirilmiştir (Tay ve Pashley, 2002).

Self-etch adezivler kullanıldığında erken zamanda yüksek rezin-dentin-bond bağlantı kuvveti elde edilirken, bağlanma etkinliklerinin zamanla azaldığı gösterilmiştir (Frankenberger ve Tay, 2005). Öte yandan özellikle evrensel adezivler olmak üzere çoğu adeziv ajan *self-etch* modunda uygulandığında, test edilen altın standart malzemelerle karşılaştırılabilir sonuçlar bululduğu ve stabil dentin bağlarına sahip olduğu bildirilmektedir (Cardoso, Nakanishi, Isolan, Jardim, Moraes, 2019). Yapılan bir diğer çalışmada ise özellikle altın standart olarak kabul gören üç aşamalı *etch&rinse* yaklaşımı ile karşılaştırıldığında, *self-etch* adezivlerin dentine bağlanma dayanıklılığı açısından uzun vadede daha düşük değerler ortaya koyduğu rapor edilmiştir (Marchesi, Frassetto, Mazzoni, Apolonio, Diolosa, Cadenaro, Di Lenarda, Pashley, Tay ve Breschi, 2014).

Yapılan sistematik bir derlemede dahil edilen çalışmalar arasındaki heterojenliğe rağmen, çalışmalar oybirliğiyle tek adımlı adeziv sistemin; 3 ay, 6 ay ve 12 ay yaşlandırma sürelerinde diğer adeziv sistemler ile karşılaştırıldığında (örn. 24 saat, 2 adımlı veya 3 adımlı bağlama sistemlerine kıyasla) daha düşük bağlanma gücü sağladığı bildirilmektedir (Masarwa, Mohamed, Abou-Rabii, Zaghlán ve Steier, 2016).

Bu bilgilerin ışığı altında, yürütülen çalışmada adeziv sistem olarak yüksek bağlanma gücü bildirilen ve klinik olarak daha kolay uygulama şansı olan 2 aşamalı *etch&rinse* adeziv sistem tercih edilmiştir.

Organik çözücüler (genellikle etanol veya aseton) dental adezivlerin önemli bileşenleridir. Çözücüler, demineralize dentin içindeki suyun yerini alır ve rezin monomerlerinin infiltre olmasına izin verir. Solventler, yüksek uçuculuklarından dolayı, tekrarlanan kullanımın bir

fonksiyonu olarak adeziv şişesinden kendiliğinden buharlaşabilir ve kullanım sıklığının yüksek olması, artan saklama sıcaklığı gibi değişkenler buharlaşmayı hızlandırabilir (Reis, Oliveira, Giannini, De Goes ve Rueggeberg, 2003). Çözücü içeriğindeki azalma, adeziv-dentin bağının gücünü etkileyebilir. Solvent içeriğinde kayıp yaygın olarak gözlemlendiğinden, solvent bağımlılığını azaltan adeziv teknikleri klinik açıdan ilgi çekicidir (Faria-e-Silva, Araújo, Rocha, Silva de Oliveira ve Ratto de Moraes, 2013).

Yapılan bir araştırma sonucunda, sadece etanol bazlı adeziv ajanlarda solvent içeriğindeki azalmanın dentin bağlanma kuvvetlerine olumsuz yönde müdahale ettiği bildirilmiştir. Ayrıca sonuçlar, orta ve yüksek aseton içerikli adezivler arasında viskozitede hiçbir değişiklik oluşmadığını ve bu yüzden daha düşük aseton içeriğinin ticari adeziv ajanlarda kullanılabileceğini göstermiştir (Faria-e-Silva, Araújo, Rocha, Silva de Oliveira ve Ratto de Moraes, 2013). Aynı zamanda çalışmalar genel olarak aseton bazlı adezivlerin etanol bazlı olanlara kıyasla daha iyi bir adeziv-dentin bağlanma performansı sergilediğini göstermektedir (Dayem, 2010; Ravishanker ve Chaitanya, 2012). Bununla birlikte, aseton bazlı adezivler, teknik olarak yüzey neminin derecesine daha duyarlıdır ve yüzeyde kalan nem seviyesini standardize etmek zordur (Nunes, Swift ve Perdigão, 2001). Ek olarak, çözücünün hızlı buharlaşmasıyla yüksek uçuculuğa sahip olması nedeni ile aseton içeren yapıştırıcıların raf ömrü azalmaktadır (Manso, Marquezini, Silva, Pashley, Tay ve Carvalho, 2008). Çözücü olarak aseton içeren sistemler karşılaştırıldığında, daha yüksek aseton içeriğinin daha düşük bağlanma dayanımı değerleri ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (Aguilera ve diğerleri, 2012).

Aseton bazlı adezivlerin, deproteinize/demineralize edilmiş dentinde monomer difüzyonunu etkileyebildiği bildirilmektedir. Asetonun yüksek su deplasman kapasitesi ve daha iyi monomer difüzyonu, uzun ve sağlam rezin infiltrasyonu ile dentin ve adeziv monomerler arasında yakın bir etkileşime yol açabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, fosforik asit ester (PENTA) içeren aseton bazlı sistemlerin, fosfat terminalleri deproteinizasyondan sonra dentin yüzeyinde kalan kalsiyum iyonları ile etkileşime girebildiğinden, adezyonu önemli ölçüde artırmaya eğilimli olduğunu göstermiştir (Pucci, Barbosa, Bresciani, Yui, Huhtala, Barcellos ve Torres, 2016; Ravishanker ve Chaitanya, 2012). Benzer şekilde 2020 yılında Nima ve diğerleri, fosforik asit ester (PENTA) içeren aseton bazlı sistemlerin, *self-etch* adezivlerin stratejisine benzer şekilde deproteinizasyondan sonra dentin yüzeyinde adezyonu önemli ölçüde artırmaya eğilimli olduğunu bildirmişlerdir (Nima ve diğerleri,

2020). Diğer taraftan dentin deproteinizasyonun, etanol bazlı adezivlerin bağlanma dayanımını azaltabileceği rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, etanol bazlı adezivlerin deproteinize dentinin içine aseton bazlı sistemler kadar düzgün şekilde infiltre olamadığını bulgulanmıştır. Deproteinizasyon prosedüründen bağımsız olarak etanol bazlı adezivler sadece asitle pürüzlendirilmiş dentin yüzeyine uygulandığında, oluşan rezin infiltrasyonunun daha gözenekli ve kırılgan görüldüğü belirtilmektedir (Pimenta ve diğerleri, 2004).

Prime&Bond NT (Dentsply, Milford, ABD), dipentaeritritol pentaakrilat monofosfat aseton (PENTA) içeren ve kollajen çıkarıldıktan sonra bile dentin yüzeyinde kalan kalsiyum iyonlarıyla etkileşime giren aseton bazlı bir *etch&rinse* adezividir. Elastomerik dimetakrilat rezinler de *Prime&Bond NT* 'nin formülasyonuna dahildir ve rezin kompozitin polimerizasyon büzülmesini telafi ederek bağlanmayı stabilize edebilmektedir (Van Landuyt, Snauwaert, De Munck, Peumans, Yoshida, Poitevin, 2007). Fakat, PENTA gibi asidik metakrilat fosfatlar söz konusu olduğunda, metakrilat ester bağının su varlığında meydana gelen hidrolizinden ek bir hidrolitik kararsızlık ortaya çıktığı (Moszner, Sal ve Zimmerman, 2005) bildirilse de yapılan araştırmalarda *Prime&Bond NT* 'nin (gözlemlenen temas açısı ve bağlanma etkinliği) NaOCl işleminden etkilenmediği rapor edilmektedir (Aguilera, Osorio, Osorio E, Moura, Toledano, 2012; Aguilera ve diğerleri 2012).

Bu bağlamda yürütülen çalışmada, tüm örneklerde 2 aşamalı aseton bazlı bir *etch&rinse* adeziv sistemi olan *Prime&Bond NT* kullanılmıştır.

Kompozit rezinler, kabul edilebilir estetik nitelikleri, geliştirilmiş mekanik özellikleri, düşük maliyetleri ve daha minimal kavite tasarımına izin vermeleri nedeniyle restoratif diş hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, uzun dönem klinik başarı açısından kompozit restorasyonlarda kullanılacak ideal içeriğin hangisi olduğu konusunda hala belirsizlik bulunmaktadır (Balkaya ve Arslan, 2020). Günümüzde kullanılan kompozit rezinlerin çoğu “hibrit kompozitler” genel terimi ile sınıflandırılmaktadır. Bu geniş sınıflandırma içerisinde geleneksel hibrit, mikrohibrit ve nanohibrit kompozitler bulunmaktadır. “Hibrit” tanımı submikron boyuttaki (0,04 µm) inorganik doldurucu partiküller ve küçük partiküllerin (1 µm-4 µm) karışımını ifade etmektedir. Farklı boyutlardaki doldurucu partiküllerin birleşimi fiziksel özelliklerde olumlu yönde gelişmelere sebep olurken aynı zamanda cilalanabilirliği yüksek seviyelere

ulaştırabilmektedir. Doldurucu teknolojisindeki gelişmeler sonucunda submikron boyuttaki (0,4 μm) partiküller ve daha küçük partiküllerin (0,1 μm -1 μm) birleşimi ile oluşturulan yeni kompozit formülasyonu “mikrohibrit” kompozitler olarak sınıflandırılmıştır. Mikrohibrit kompozitlerin geleneksel hibrit kompozitlere göre manipulasyonunun ve cilalanabilirliğinin daha iyi olduğu bildirilmektedir (Albers, 2002). Öte yandan yapılan bir diğer araştırma sonucunda mikrohibrit kompozitlerin fiziksel özelliklerin geleneksel mikrofil kompozitlerden üstün olmasına rağmen cilalanabilirliklerinin daha iyi olmadığı rapor edilmiştir (Burgess, Walker ve Davidson 2002; Esener, 2011).

Restoratif materyallerin retansiyon düzeyleri, klinik başarılarını belirlemek için en önemli değerlendirme kriterlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Amerikan Diş Hekimleri Birliği, post operatif 18. ayda bir kompozit restorasyonun retansiyon alanlarının en az %90'ının bozunmaması halinde başarılı olduğunu bildirmektedir (Loguercio ve Reis, 2008). Yapılan bir çalışmada, mikrohibrit kompozit restorasyonlarının iki yıl sonunda sağkalım oranının %100 olduğu bildirilmektedir. Sınıf II kavitelerin kalıcı restorasyonu için uygun olmadığı kabul edilirken, mikrohibrit ve geleneksel kompozit rezinlerin klinik olarak kabul edilebilir olduğu rapor edilmektedir (Balkaya ve Arslan, 2020). Sınıf II kavitelerde hibrit kompozit rezin ile bulk-fill kompozit rezinin uzun vadeli klinik performanslarını (10 yıl) karşılaştıran başka bir çalışmada yazarlar, her iki materyalin klinik olarak önemli bir farklılık olmaksızın oldukça iyi performans gösterdiğini bildirmiştir (Heck, Manhart, Hickel, Diegritz, 2018).

Mikrohibrit ve nanohibrit rezinlerin kesme bağlanma dayanımını araştıran bir çalışma sonucunda, bu iki rezin arasında istatistiksel bir fark olmadığı bulgulanmıştır (Ribeiro, Gomes, Moysés, Dias, Pereira, Ribeiro, 2008). Yapılan bir diğer çalışma mikrohibrit kompozit rezin, bulk-fill kompozit rezin ve yüksek viskoziteli rezin modifiye cam iyonmer restorasyonların bağlanma dayanımlarını araştırmış ve mikrohibrit kompozit rezinin diğerlerine göre yüksek bağlanma değerleri gösterdiğini bildirmiştir (Tavarez, Almeida Júnior, Guará, Ribeiro, Maia Filho, Firoozmand, 2017). Bununla birlikte yüksek inorganik partikül miktarına sahip rezinlerin mikro makaslama testine tabi tutulduğunda daha yüksek bir direnç gösterdiği raporlar ile desteklemektedir (Ribeiro, Gomes, Moysés, Dias, Pereira, Ribeiro, 2008).

Kompozit rezinlerde oluşan mikrosızıntının bir nedeninin de yetersiz polimerizasyondan ve polimerizasyon esnasında meydana gelen büzülmeden ileri geldiği bilinmektedir (Muniz, Quioca, Dolci, Reis ve Loguercio, 2005). Farklı renkteki kompozit rezinlerde polimerizasyon derinliklerinin incelendiği çalışmalar sonucunda kompozit opasitesi ve renginin polimerizasyon derinliğini etkilediği, renk tonunun koyulaşması ile polimerizasyon derinliğinde azalma görüldüğü rapor edilmiştir (Kaya, 2014).

Bu bilgilerin ışığı altında tez çalışmasında restorasyon materyali olarak; ışıkla sertleşen, radyo-opak, BIS-GMA matriksi ve 0,005–10 µm partikül boyutunda hacimce yaklaşık %59 oranında baryum alüminyum florür cam, yüksek oranda dispersiyonlu silikon dioksit dolgu içeren bir mikron altı mikrohibrit kompozit olan A2 renginde *Charisma Smart®* (Kulzer, Frankfurt, Almanya) kullanılmıştır.

Rezin bazlı restoratif materyallerin polimerizasyonunda arttırılmış ışık yoğunlukları ile geleneksel tungsten quartz halojen ışık kaynakları, plasma arc ışık kaynakları, LED (Light Emitting Diodes-Işık Yayan Diyotlar) ışık cihazları ve argon lazerler kullanılmaktadır. Ancak kullanım kolaylığı ve ekonomik açıdan birbirlerine göre değişen avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır (Yoon, Lee, Lim ve Kim, 2002).

Rezin bazlı restoratif materyallerin polimerizasyonu için genellikle LED (Light Emitting Diodes-Işık Yayan Diyotlar) ışık cihazları kullanılmaktadır. Halojen ışık kaynaklarına göre, bu ışık cihazlarında ısının oldukça az oluşması en büyük tercih sebeplerindendir. Halojen ışık kaynaklarında oluşan ısı zamanla reflektörleri ve filtreleri negatif yönde etkilemekte, ışığın etkisini azaltmaktadır. Aynı zamanda LED ışık kaynaklarının; enerji tüketimi daha düşüktür, kablosuz ve hafif oldukları için taşınabilir ve rahatça kullanılabilirler (Leonard, Charlton, Roberts ve Cohen, 2002; Hammesfahr, O'Connor ve Wang, 2002; Gökçe ve Özel, 2005).

Kompozit rezinlerin polimerizasyonları sırasında oluşan polimerizasyon büzülmesinin minimumda tutulabilmesi amacı ile ışık kaynağının polimerize edilecek yüzeye mümkün olan en yakın noktada konumlandırılması ve kaviteye uygulanan kompozit tabakalarının 2 mm'yi geçmemesi gerektiği bildirilmektedir (Kaya, 2014).

Yürütülen tez çalışmasında adeziv ve kompozit rezin uygulamaları ardından polimerizasyon için LED ışık kaynağı kullanılmış ve çalışmanın *in vitro* ortamda gerçekleştirilmesi nedeni ile ışık kaynağı restorasyona maksimum düzeyde yaklaştırılmıştır.

Sürekli olarak gelişen adeziv diş hekimliğinde daha başarılı restorasyonlar yapabilmek amacı ile yeni materyaller üretilmektedir. Bu materyallerin özelliklerini incelemek için en etkili yöntem klinik çalışmalar olsa da klinik uygulamaların uzun zaman alması ve takip zorluğu nedeniyle araştırmacılar laboratuvar şartlarında histolojik çalışmalar, bağlanma dayanım testleri veya mikrosızıntı testleri uygulamaktadırlar. Günümüzde *in vitro* testlere kıyasla daha az uzun dönem klinik çalışma yürütülmekte ve bazı materyallerin yeterli klinik çalışması yapılmadan üzerine yeni jenerasyon ürünler eklenmektedir (Salz ve Bock, 2010; Perdigao, 2009). Diş hekimliğinin günümüzdeki materyal üretim çeşitliliği ve hızı göz önüne alındığında genellikle laboratuvar çalışmalarının sıklıkla tercih edildiği görülmektedir. Ayrıca adeziv teknolojiye hızlı değişim ve klinik çalışmaların uzun zaman almasının dışında laboratuvar testlerinin daha az maliyetlerde olması da araştırmacıların laboratuvar test yöntemlerini tercih etmelerine sebep olmaktadır. Fakat laboratuvar ortamında hazırlanan örneklerle; ağız ortamında restoratif materyallerin maruz kaldıkları kuvvetler, ısısal değişiklikler, mine ve dentinin standardize edilemeyen yapıları, mikroorganizma ve tükürük özelliklerindeki farklılıklar gibi değişkenler tam olarak yansıtılamayabilir (Meerbeek, Peumans, Poitevin, Mine, Ende, Neves ve Munck 2010; Peumans, Munck, Landuyt, Lambrechts ve Meerbeek, 2007.) *In vitro* ortamda karşılaşılan bu farklılıklar, adeziv sistemlerin bağlanma değerlerini etkileyerek, bu sistemlerin klinik performansı hakkında yanıltıcı bilgi elde edilmesine sebep olabilmektedirler. Bu nedenlerden dolayı, laboratuvar testleri materyallerin klinik performansları ile ilgili kesin bir hüküm veremezler. *In vitro* testler, klinik deneylerle birlikte seyretmeli ve birbirlerinin tamamlayıcısı olmalıdırlar. Materyallerin performanslarını belirleyen esas yöntem olarak klinik deneyler gösterilmekle beraber, *in-vitro* çalışmalar adeziv restoratif materyallerin başlangıç değerlendirmelerine ve gelişimine katkıda bulunarak klinik kullanımlarına ışık tutumaktadırlar (Tekçe, 2013; Cebe Ata, 2011).

Diş hekimliğinde Sınıf V restorasyonlar yapısal ve anatomik varyasyonlardan dolayı diğer bölgelere kıyasla bağlanma açısından daha zor bir bölge olarak bildirilmektedir. Bu nedenle bu restorasyonların başarı oranlarının artırılabilmesi için farklı restorasyon materyalleri, yardımcı yöntemler ve değişik teknikler uygulanmakta ve araştırılmaya devam edilmektedir.

Klinik uygulamalarda dişlerin servikal bölgesindeki erozyon, abrazyon gibi sert doku defektleri ve çürük lezyonları ile sıkça karşılaşmaktadır. Uzun dönemde yüksek klinik başarı elde edilmesi güç vakalar olarak değerlendirilen Sınıf V restorasyonlarda, dişeti dokusuna yakınlıkları sebebi ile nem kontrolü zordur ve yoğun bir şekilde abfraksiyon kuvvetlerine maruz kalırlar. Bu bölgedeki lezyonlar çoğu zaman mine, dentin ve sement gibi üç farklı diş sert dokusunda yer alan kenarlara sahiptir. Bu üç dokunun farklı bağlanma gücüne sahip olması sebebiyle bu tip kavitetlerin restorasyonları oldukça zorlayıcıdır. Bu nedenle günümüz çalışmalarının önemli amaçlarından biri, servikal bölgedeki restorasyonların tedavisinde mikrosızıntıyı en aza indirmeyi sağlayacak materyal ve metotların belirlenmesidir (Çellik, 2015).

Restorasyonların başarısını olumsuz yönde etkileyen mikrosızıntının belirlenebilmesi için yapılan *in vitro* çalışmalarda bugüne kadar gümüş nitrat, metilen mavisi, bazik fuksin ve eritrosin gibi kompozit-diş arayüzüne sızabilen boyalar ve hatta bazı radyoaktif belirteçler olmak üzere çok çeşitli izleyiciler kullanılmıştır (de Almeida, Platt, Oshida, Moore, Cochran ve Eckert 2003). İzleyicilerin kullanımının ardından dişler enine kesitler alınarak mikroskopik olarak değerlendirilir (Van Meerbeek, Peumans, Poitevin, Mine, Van Ende, Neves ve De Munck, 2010).

Mikrosızıntı çalışmalarında en eski yöntemlerden olan organik boyaların kullanılması, uygulama kolaylığı ve düşük maliyet özellikleri dolayısı ile diğer yöntemlere oranla daha çok tercih edilmektedir. Sızıntı çalışmalarında akridin turuncusu %0,01, floresan %20, eritrosin %2, toluidin mavisi %0,25, kristal violet %0,05, bazik fuksin %0,5- %2, anilin mavisi %2, gümüş nitrat %50 ve metilen mavisi %0,2-%2 gibi çeşitli boya solüsyonları ve konsantrasyonları kullanılmıştır (Karaaslan, Altıntaş, Cebe ve Üşümez, 2010). Bağlanma dayanımı ölçümlerinden daha kolay olması dolayısı ile çok sık tercih edilen boyama ile mikrosızıntı değerlendirmesi yönteminin güvenilirliği tartışmalıdır (Raskin, D'Hoore, Gonthier, Degrange ve Déjou 2001; Heintze, 2007; Amarante de Camargo, Sinhoreti, Correr-Sobrinho, de Sousa Neto ve Consani 2006). Restoratif materyaller için *in vitro* boya penetrasyonu çalışmalarının sistematik bir incelemesi; bağlanma dayanımı çalışmalarında olduğu gibi dünya çapında kullanılan metodolojik parametrelerin büyük değişkenliği nedeniyle çalışma sonuçlarının karşılaştırılmasının imkânsız olduğunu rapor etmiştir (Raskin ve diğerleri, 2001). Ek olarak, enine kesite dayalı prosedür yıkıcıdır ve numunenin bir kısmı dilimleme yoluyla kaybolmaktadır. Bu prosedür ile işaret sıvısının dağılımına

ilişkin yalnızca sınırlı 2 boyutlu bir görünüm elde edilebilmekte ve en önemlisi örneğin en derin sızıntı noktasının kesin olarak belirlenmesi mümkün olmamaktadır (Van Meerbeek, Peumans, Poitevin, Mine, Van Ende, Neves ve De Munck, 2010).

Öte yandan yapılan bazı araştırmalara göre bazik fuksin ve metilen mavisi, bakteri büyüklüklerinin farklı olmasından dolayı mikrosızıntının tespitinde en gerçekçi ajan olarak rapor edilmektedirler (Ferrari ve Garcia-Godoy 2002; Çellik, 2015). Yürütülen çalışmada mevcut olanaklar dahilinde en gerçekçi sonuçları elde edebilmek için mikrosızıntı parametresinde %2'lik metilen mavisi boya solüsyonunun kullanılması tercih edilmiş ve örneklerden elde edilen kesitler stereomikroskop altında değerlendirilmiştir.

Adeziv sistemlerin etkinliğini incelemek amacıyla en sık kullanılan *in vitro* testler arasında bağlanma dayanımı test metotları bulunmaktadır. Geleneksel olarak bağlanma dayanım testleri bir diştten veya bir diş yüzeyinden örnekler hazırlanarak, bu örneklerin makaslama (*shear*), çekme (*tensile*) ya da kırma kuvvetlerine karşı dayanımını incelemektedir (Tekçe, 2013). Makaslama ve çekme testleri, restorasyonların ağız ortamında maruz kalacakları olası kuvvetleri taklit ederek materyalin direncini araştırmaya yönelik testlerdir. Çekme testlerinde bağlantı diş dokusuna 90°'lik bir açı ile seyreden kuvvet yardımı ile, makaslama testlerinde ise diş dokusuna paralel bir kuvvet yardımı ile test edilmektedir (Ayaz, Tagtekin ve Yanıkoglu, 2011). Daha az kullanılan makro-çekme bağlanma dayanımı testleri, sement veya kök dentininin seramik ya da metal alaşımları gibi sert malzemelere bağlanma dayanımını ölçmek için kullanılan *in vitro* bir metottur (Abreu, Loza, Elias, Mukhopadhyay, Looney ve Rueggeberg, 2009; Kern, Barloi ve Yang 2009).

Günümüzde en çok kabul gören laboratuvar test yöntemleri, bir diştten çok sayıda örnek hazırlanarak, sonuçların bu örnekler üzerinden değerlendirildiği mikrotensile (μ TBS) ve mikroshear (μ SBS) test yöntemleridir (Armstrong, Geraldini, Maia, Raposo, Soares ve Yamagawa, 2010). Bu testlerin tercih edilmesinin en önemli sebeplerinden biri daha az defekt varlığı olasılığının öngörüldüğü küçük örneklerle, büyük örneklerden daha sağlıklı sonuçlar elde edilebilmesidir. Bununla birlikte yoğun emek gerektirmesi, mekanik ihtiyacın fazla olması, örneklerin kolaylıkla dehidrate olabilmesi ve zarar görebilmesi, özel bir ekipman yardımı olmadan uygun geometri ve yüzey cilasının oluşturulmasının zor olması ve testin yapılışı ile ilgili bir fikir birliğinin olmaması gibi dezavantajlara sahip bir test yöntemidir (Karasu ve Sertgöz, 2012). Temel olarak bu büyük eksiklikler nedeniyle, mikro

makaslama testi çok fazla benimsenmemiştir. Yapılan bir araştırma sonucunda bağlanma dayanımı çalışmalarının sadece %7'sinin bu protokolü kullandığı bildirilmektedir (Roeder, Pereira, Yamamoto, Ilie, Armstrong ve Ferracane, 2011).

Bağlanma dayanımını test eden metotlar arasında en yaygın olarak kullanılan teknik makro-makaslama testleri olarak bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada makro-makaslama yönteminin, bağlanma dayanımı hakkında rapor veren bilimsel makalelerin %26'sında kullanıldığı tespit edilmiştir (Burke ve diğerleri, 2008). Bu yöntemde bağ dayanımı testinde yer alan faktörlerin meta-analizi, dentin substratının farklılıkları, saklama koşulları (ısı döngü vb.), test tasarımı (örneğin çapraz kafa hızı), kompozit ve bağlanma alanı (örneğin kompozitin sertliği) gibi çeşitli parametrelerin önemli etkisi nedeni ile standardizasyon sağlanamamaktadır (Van Meerbeek ve diğerleri, 2010).

Genellikle, adeziv tamamen açıkta kalan mine/dentin yüzeylerine uygulanmaktadır. Böylece bağlanma yüzey alanı artırılarak, makaslama yükü de adeziv-diş arayüzünden ziyade adeziv-kompozit arayüzüne uygulanır. Yapılan çalışmalarda, test protokolündeki bu tür kusurlar göz önüne alınmış ve makaslama kuvvetinin tek tip olarak dağılmadığı ayrıca gerçek arayüze odaklanmadığı konusunda bir fikir birliğine varılmıştır (Sudsangiam ve van Noort, 1999; Versluis, Tantbirojn ve Douglas, 1997; Van Meerbeek ve diğerleri, 2010). Bununla birlikte, makro-makaslama bağlanma mukavemeti testi, yeni adeziv formülasyonlarının bağlanma etkinliklerinin incelenmesi açısından oldukça popüler bir *in vitro* test metodu olmaya devam etmektedir (Degrange ve Lapostolle, 2007). İdeal bağlanma dayanım testi, düşük teknik hassasiyette sahip, kolay ve nispeten hızlı uygulanabilir olmalıdır. Yürütülen tez çalışmasında bu bilgiler doğrultusunda bağlanma dayanımı ölçümlerinde makro-makaslama test metodu kullanılmıştır.

Adeziv restorasyonlar genellikle tükürük ile çevrili nemli ortamlarda bulunur ve mine-dentin/adeziv arayüzlerinin bozunmasında zaman çok önemlidir (Ortengren, Andersson, Elgh, Terselius ve Karlsson, 2001). Dentin deproteinizasyonun temel felsefesi asitle pürüzlendirilmiş dentinde zaman içinde meydana gelen rezin infiltrasyon derinliği tutarsızlığının, hibrid tabakanın içinde ve altında mikro gözenekli bölgelerin oluşumunun önüne geçilmesidir. Deproteinize dentinin, demineralize dentin'den daha yüksek sertliğe, esneklik modülüne, ıslanabilirliğe ve geçirgenliğe sahip olacağı düşünülmektedir. Bu modifiye edilmiş dentin substratı, adezyon için uygun bir karakteristik olan asit uygulanmış

mineye benzer bir dentin oluşturarak ve rezinin mekanik olarak tutunacağı stabil arayüz oluşturulmasına olanak sağlayacaktır. Bu bağlamda araştırmacıların dikkat çektiği bir diğer önemli faktör de yaşlandırma süresi ve yöntemidir. Çalışmalar yaşlandırma protokolleri sonrasında elde edilecek verilerin başlangıç verilerinden farklı olarak daha gerçekçi olacağını vurgulamaktadır (Abuhaimed ve Abou Neel, 2017; Aguilera ve diğerleri, 2012; Cadenaro ve diğerleri, 2009; De Duarte ve da Silva, 2007). Yürütülen tez çalışmasında araştırmalar başlangıç değerlerinden bağımsız olarak 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında gerçekleştirilmiştir.

Birçok çalışmada, bağlanma dayanıklılığını ve mikrosızıntı miktarını değerlendirmek için numuneleri damıtılmış suda bekletilmiştir (Hashimoto, Ohno, Sano, Kaga ve Oguchi, 2003; Carrilho, Carvalho, Tay ve Pashley, 2004). Su depolaması sırasında, hidrolitik aktivite, kollajen fibrillerin hibrid tabakadan ayrışmasını artırır ve demineralize dentin bölgesindeki ilişkili rezin zamanla kademeli olarak bozunmaktadır (Hashimoto ve diğerleri, 2004). Böylelikle, hibrid tabakanın altındaki demineralize dentin, nanosızıntıyı önemli ölçüde artırmakta ve uzun süreli su depolamadan sonra adeziv-dentin arayüzündeki en zayıf parça haline gelmektedir.

Ağız içi sıcaklık yeme, içme ve nefes alma alışkanlıklarına göre değişir. Hızlı sıcaklık değişiklikleri kaçınılmaz olarak adeziv restorasyonun stabilitesini etkiler (Morresi, D'Amario, Capogreco, Gatto, Marzo, D'Arcangelo, 2014). Termal siklus, ağız içi sıcaklıktaki değişiklikleri simüle ederek dişe göre termal genleşme katsayısı daha fazla olan restoratif materyallerin genleşip büzülmesine yol açmakta veya döngüsel koşulların sayısı arttıkça arayüz boyunca çatlaklar ve boşluklar oluşturarak sıvıların içeri girip çıkmasına izin verme yolu ile kollajenlerin hidrolizi ile dentin-rezin arayüzeyinde boşlukların oluşumuna neden olmaktadır. Bu özelliği ile bağlanma dayanıklılığını değerlendirmek için yaygın olarak kullanıldığı bildirilen “termal siklus” yöntemi pek çok araştırmacı tarafından öncelikli olarak tercih edilmiştir (Frankenberger ve Tay 2005; Price, Derand, Andreou, Murphy, 2003; De Munck, Van Landuyt, Coutinho, Poitevin, Peumans, Lambrechts, 2005). Bu bağlamda 10,000 kez 5 °C ile 55 °C arasında yapılan termal döngü bir yıl doğal klinik fizyolojik yaşlanmaya eşdeğerdir (Gale ve Darvell, 1999; Saboia, Silva, Nato, Mazzoni, Cadenaro, Mazzotti, 2009; Ozel Bektas, Eren, Herguner Siso, Akin, 2012). Aynı zamanda ISO 11405 tavsiyelerine göre 5–55 °C sıcaklık ayarı, ağız içi gerçek sıcaklık değişimlerinin çoğunu simüle edebilir ve bir dişin uzun bir süre boyunca büyük sıcaklık farkları taşıması olası

olmadığı için banyolar arası geçişte 15 saniyeden fazla bekleme süresi önerilmemiştir (Amaral, Colucci, Palma-Dibb, Corona, 2007).

Yapılan çalışmalar sonucunda genellikle örneklerin termal döngü ile yaşlandırılmasından sonra bağlanma dayanımında azalma ve mikrosızıntıda artış gözlemlendiği bildirilmektedir (Deng, Yang, Guo, Chen, Zhang ve Huang, 2014). Ancak dental materyalleri değerlendirmek için yapılan bir grup çalışmada, termal döngü kullanımı sonucu çelişkiler görüldüğü rapor edilmektedir (Kenshima, Grande, Singer ve Ballester, 2004; Hakimeh, Vaidyanathan, Houpt, Vaidyanathan ve Von Hagen, 2000).

Termal döngü, suda bekletme, suni tükürükte bekletme, NaOCl solüsyonunda bekletme ve pH döngüsü gibi farklı *in vitro* yapay yaşlandırma yöntemlerinin, adeziv-dentin arayüzünün bozulması üzerinde farklı etkileri olabilir. Yani her bir yapay yaşlandırma yönteminin kendi mekanizması, özellikleri ve uygulama kapsamı vardır. Ancak bahsedilen *in vitro* yaşlandırma metotları üzerinde karşılaştırmalı çalışmalar eksik kalmıştır (Deng ve diğerleri, 2014).

Termal döngü (10,000 döngü), suda bekletme (6 ay), NaOCl solüsyonunda bekletme (1 saat) ve pH döngüsü (15 tekrar) yaşlandırma yöntemlerini karşılaştırmak amacı ile yapılan bir çalışmada tüm yöntemlerin adeziv sistemin bağlanma gücünü yaklaşık olarak %50 oranında düşürdüğü bildirilmektedir. Yaşlandırma yöntemi olarak NaOCl solüsyonunda bekletme kullanılmasının esas odak noktası adeziv-dentin arayüzünün organik fazını bozmaya odaklanarak, rezinin degradasyon sürecini son derece kısa bir depolama süresi altında hızlandırmaktır (De Munck, Ermis, Koshiro, Inoue, Ikeda ve Sano, 2007).

Termal döngü ve suda / yapay tükürükte bekletme, bağ stabilitesini araştırmak için kullanılan en yaygın yaşlandırma yöntemleridir (De Munck ve diğerleri, 2003; Yamazaki, Bedran-russo ve Pereira 2008; Bortolotto, Onisor, Krejci, Ferrari, Tay ve Bouillaguet, 2008). Termal döngü yaşlandırma yöntemi ile ortaya çıkan farklı termal genleşme katsayılarının bir sonucu olarak biyomateryaller ve/veya arayüzler üzerinde çeşitli bozunmalar gözlenirken, su / yapay tükürük depolaması (37 °C sabit sıcaklıkta) ile bakteri içermeyen bir ortamı simüle eden hidrolitik bozunma süreçleri yoluyla bağlanmayı etkilediği bildirilmektedir (Malacarne, Carvalho, De Goes, Svizerd, Pashley, Tay, Yin ve Carrillho, 2006). Yapay tükürükte bekletme ile yaşlandırmadan sonra azalan bağ gücü bakteriyel kontaminasyona

bağlanmamalıdır. Çünkü yapay tükürükte bulunan sodyum azid ile bakteri oluşmaması sağlanmaktadır (Finer ve Santerre, 2004; Burrow, Satoh ve Tagami, 1996). Bu nedenle rezin-dentin bağ kuvvetinde gözlenen azalma ve arayüzde artan mikrosızıntı, su aracılı faktörlerin sinerjistik bir kombinasyonuna bağlanmaktadır. (Malacarne ve diğerleri, 2006). Fakat yapılan bir diğer çalışmada çeşitli kaynaklardan elde edilen damıtılmış (distile) su ve yapay tükürüğün, akuafilik mikroorganizmaları barındırabileceği bildirilmektedir (Stout, Yu, Vickers, Zuravleff, Best, Brown, Yee ve Wadowsky, 1982).

Suda bekletme, adeziv-dentin arayüzlerinin bozulmasını incelemek için en yaygın yapay yaşlandırma modelidir. Restorasyonun daima tükürük ile çevrili olduğu nemli ağız içi ortamı taklit edebilir (De Munck ve diğerleri, 2005; Inoue, Koshiro, Yoshida, De Munck, Nagakane ve Suzuki, 2005). Suda bekletme sırasındaki hidrolitik bozunma, kollajen fibrillerin hibrid tabakadan ayrışmasını artırır ve demineralize dentin bölgesindeki ilişkili rezin zamanla kademeli olarak çöker (Hashimoto ve diğerleri, 2003). Böylelikle, hibrid tabakanın altındaki demineralize dentin nanosızıntıyı önemli ölçüde arttırmakta ve uzun süreli suda bekletme yöntemi ile yaşlandırmadan sonra adeziv dentin arayüzündeki en zayıf parça haline gelmektedir. Örneklerden elde edilen kırık görüntüsünde kollajen fibrillerin açığa çıkması ve rezinin kaybı bu bulguyu doğrulamaktadır (Deng ve diğerleri, 2014).

Suda bekletme ile yaşlandırma yöntemi, özellikle uzun vadeli, bağ değerlendirilmesi için karmaşık olmayan ve düşük maliyetli bir metottur. Ancak bu süreç en az 6 ay ve günlük su değişimi gerektirdiğinden zaman alıcıdır. Bağlanma dayanıklılığını değerlendirmek için termal döngü yaygın olarak kullanılsa da standardizasyon eksikliği devam etmektedir. Termal döngü için parametreler (döngü süreleri, sıcaklık ve bekleme süreleri) dikkatlice seçilmeli ve bir standart oluşturulmalıdır. Böylece veriler kullanılabilir şekilde karşılaştırılabilir ve analiz edilebilir (Moressi ve diğerleri, 2014).

Birçok çalışma, bağ dayanıklılığını değerlendirmek için kısa ve uzun vadeli dönemler için bir depolama çözümü olarak distile su kullanmaktadır (De Munck ve diğerleri 2003; Manso ve diğerleri, 2008; Pimenta, Amaral, Bedran De Castro ve Ritter, 2004; Toledano, Osorio, Osorio E, Aguilera, Yamauti, Pashley ve Tay, 2007; Yamazaki, Bedran-Russo ve Pereira, 2008). Bununla birlikte bazı araştırmacılar klinik durumu taklit etmeyi tercih ederek ve depolama solüsyonu olarak yapay tükürük kullanmıştır (Breschi, Cammelli, Visintini, Mazzoni, Vita, Carrilho, Cadenaro, Foulger, Mazzoti, Tay, Di Lenarda ve Pashley, 2009;

Marchesi ve diğerleri 2014; Marchesi, Frassetto, Visintini, Diolosa, Turco, Salgarello, Di Lenarda, Cadenaro ve Breschi, 2013).

Yapay tükürük tek başına veya ısı döngü işlemiyle kombinasyon halinde kullanılan bir depolama solüsyonu olarak kullanıldığında adeziv-dentin arayüzündeki etkileşimin distile su depolama solüsyonundan farklı olup olmayacağı henüz doğrulanmamıştır. Bugüne kadar, bu depolama ortamlarının (yapay tükürük ve damıtılmış su) dentin adeziv bağlanma kuvveti üzerindeki etkisine ilişkin yeterli veri bulunmamaktadır.

Yapılan bir araştırmada, adeziv sistem tipi, depolama solüsyonu ve depolama koşulu değişkenlerinin etkileşimleri değerlendirilmiş ve bu üç değişken arasındaki etkileşimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı rapor edilmiştir. Mevcut çalışma bulguları, 24 saat boyunca farklı depolama solüsyonlarının kullanımının ve test edilen adeziv sistemlerin bağlanma dayanımı üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur (El-Deeb, Daifalla, Badran ve Mobarak, 2016).

Su moleküllerinin konsantrasyonu, damıtılmış suda tükürükte olduğundan daha yüksektir. Bu özellik örneklerin distile suda depolanması halinde adeziv-dentin arayüzünde yapay tükürükte olduğundan daha fazla su molekülünün yüksek difüzyonuna yol açmaktadır. Damıtılmış su veya yapay tükürükte saklandığında rezin kompozit bileşenlerin solüsyondan süzdürülebilirliğini karşılaştıran bir çalışmada, iki depolama çözeltisindeki filtrelenen bileşenler arasında önemli bir fark olduğu rapor edilmektedir. Aynı çalışma distile su ve tükürük ile kompozit rezin bileşenleri arasındaki etkileşimlerin farklı olduğunu bildirmektedir (Soderholm, Mukherjee ve Longmate, 1996).

Bauer ve Ilie (2013), yapay tükürükte yaşlanmanın suda yaşlandırmaya göre rezin kompozitlerin mikromekanik özelliklerini daha az etkilediğini bildirmektedir.

Önceki ve güncel bulgulara dayanarak, bir depolama solüsyonu olarak damıtılmış su kullanımının, *in vitro* çalışmaların klinik bulgulara benzerliğini azalttığı görülmektedir. Öte yandan, insan tükürüğünün kesin özelliklerini kopyalamanın tutarsızlığı ve dengesizliği nedeniyle neredeyse imkânsız olduğu iyi bilinmektedir. Bu da doğal tükürüğü standartlaştırılmış uzun süreli *in vitro* çalışmalarda kullanım için uygunsuz hale getirir (El-Deeb ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, restorasyonların bağlanma performansını ve

dayanıklılığını değerlendirmek için karşılaştırılabilir deneysel *in vivo* koşulların gerekliliği devam etmektedir.

Damıtılmış su, yaşlanma ortamı olarak daha agresif olmasına rağmen, adeziv restorasyonun klinik hizmet sırasında gerçek performansını test etmenin uygun yollarından biri olarak bildirilmektedir.

Dental bir restorasyonun doğal yaşlanma sürecini taklit etmede örneklerin termal döngü protokolleri ya da suda bekletilmesi, *in vivo* şartların *in vitro* ortamda taklidini sağlamak için etkin metotlar olarak önerilmektedirler (El Araby ve Talic, 2007). Yürütülen tez çalışmasında yaşlandırma metodu olarak termal döngü ve suda bekletme yöntemleri kullanılmıştır.

Dentinde kollajen yapının uzaklaştırılması için kollajenaz gibi deproteinize edici enzimler ve ajanlar kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan en genel ajan NaOCl'dir. NaOCl organik materyalleri çözebilen non-spesifik bir proteolitik ajandır. Bu ajan ile tedavi edilen dentinin ekspoz olmuş hidroksiapatit kristallerinden ve minerallerden zengin olmakla birlikte, uzun vadede daha stabil arayüzler oluşturabildiği bildirilmektedir. NaOCl deproteinizasyonu ile kollajenin uzaklaştırılması sağlanarak restorasyonların uzun ömürlü olmasında rolü olduğu düşünülen adeziv tabakanın bozunum riskinin azaltılacağı düşünülmektedir (Ghonaim ve diğerleri, 2014).

Spesifik olmayan deproteinizasyon ve dezenfekte edici etkisi nedeniyle birçok araştırmacı tarafından kullanımı önerilen NaOCl'nin organik dokuları çözmesi, klorürün proteinler üzerindeki etkisine ve suda çözünür olan kloraminleri oluşturmasına dayanır. Böylece dentinin konfigürasyonunu değiştirir ve özellikle kollajen fibriller olmak üzere dentinin organik bileşenlerini uzaklaştırır (Paula ve Josimeri, 2005).

Asit ile aşındırma ve ardından deproteinizasyon kombinasyonu, dentinde gözenekli mikro yapının oluşmasını sağlamaktadır. Aşındırma yoluyla mineralin uzaklaştırılması, böylece tübüller içerisindeki kollajen ve/veya diğer proteinlerin ortaya çıkarılması gerekmektedir. Daha sonra deproteinizasyon, protein yapıları uzaklaştırarak dentin kanallarını açığa çıkartır. Tek başına asitle pürüzlendirme işlemi proteinleri uzaklaştıramadığı için dentin tübüllerini tamamen açamadığı gibi, deproteinizasyon işlemi de minerallerin protein yapının çoğunu

örterek koruması nedeni ile tek başına tübülleri ortaya çıkaramamaktadır. Bu nedenle, dentinde, asit ile aşındırma ve NaOCl tedavisinin kombine kullanımı ile bu gözenekli ağın ortaya çıkabildiği bildirilmektedir (Marshall, Yücel, Balooch, Kinney ve Habelitz, 2001).

Birçok çalışma, NaOCl'nin dentinin organik bileşenlerini uzaklaştırma yeteneğinin konsantrasyona ve zamana bağlı olduğunu bildirmiştir (Zhang, Kim, Cadenaro, Bryan, Sidow, Loushine ve Tay, 2010; Abuhaimed ve Abou Neel, 2017; Gu ve diğerleri, 2017;). Sauro ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada, intertübüler ve intratübüler dentin bölgelerinde %12 NaOCl solüsyonunun 2 dakika süre ile uygulanmasının organik yapıların bozularak bağlanma kuvvetinin azalmasından sorumlu olabileceği bildirilmektedir (Sauro, Mannocci, Tay, Pashley, Cook, Carpenter ve Watson, 2009).

Yapılan bir araştırmada fosforik asitle aşındırılmış dentinin %5'lik NaOCl solüsyonu ile ön uygulamasından sonra dentin yüzeyi taramalı elektron mikroskobu ile görüntülenmiş ve değiştirilmiş bir 'güve yeniği' görünümü ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Bu görünümün geniş bir ikincil tübül ve kanal ağının geliştirilmesi ile oluştuğu bildirilmiştir (Marshall ve diğerleri, 2001).

Osorio ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada, asitle aşındırılmış dentin yüzeyinde %5,25 ve %12'lik NaOCl solüsyonunun 2 ve 10 dakika süre ile kullanımının etkinliği konfokal mikroskobu ve çevresel taramalı elektron mikroskobu (ESEM) teknikleri ile değerlendirilmiştir. Çalışmada dentin deproteinizasyonunda NaOCl'nin klinik olarak tolere edilebilen %5,25'lik konsantrasyonu önerilmiş; uygulama süresinin etkinlik açısından hiçbir fark oluşturmadığı bildirilmiştir (Osorio, Ceballos, Tay, Cabrerizo-Vilchez ve Toledano, 2002). NaOCl ile dentin deproteinizasyonu hakkında yapılan güncel çalışmalarda bu süre 15 saniyeden 60 saniyeye değişen süreler ile sınırlandırılmaktadır (Bortoluzzi de Conto Ferreira, Carlini Júnior, Galafassi ve Gobbi, 2015; Chauhan ve diğerleri, 2015; Pucci ve diğerleri, 2016; Nima ve diğerleri, 2020; Baseggio ve diğerleri, 2009; Siqueira, Cardenas, Gomes, Chibinski, Bandeca ve Gomes, J., 2018).

Dentin deproteinizasyonu amacı ile NaOCl solüsyon konsantrasyonlarını araştıran bir diğer çalışmada yüksek konsantrasyonların organik yapıların bozulmasına yol açabileceği ve kollajeni tamamen uzaklaştıramayabileceği ve rezin infiltrasyonunu engelleyebileceği bildirilmektedir (Nima ve diğerleri, 2019). Bu bilgilerin ışığı altında yürütülen tez

çalışmasında dentin deproteinizasyonu amacı ile %5,25 konsantrasyonda NaOCl solüsyonu 30 sn. süre ile uygulanmıştır.

Dentin deproteinizasyonu amacı ile genellikle spesifik olmayan bir deproteinizan ajan olan NaOCl kullanımı ile ilgili çalışmalar çoğunluktadır. Araştırmacılar NaOCl'nin sitotoksik etkisi nedeni ile dentini deproteinize etmek için yeni ve ideal bir ajan arayışına girmişlerdir (Chauhan, Basavanna ve Shivanna, 2015; Salomão, Oliveira, Rodrigues, Al-Ahj, Gasque ve Jeggle, 2017).

Kollajenaz ve bromelain enzimi gibi deproteinize edici enzimler, dentin deproteinizasyonu amacı ile kullanıma girmiş yeni ajanlardır. Bromelain, ticari olarak ananas meyvesinden veya sapından ticari olarak elde edilen bir proteolitik enzimdir. Proteazların fonksiyonu, proteinlerin amino asitlere hidrolizini katalizlemektir (Dayem ve Tameesh, 2013). Bromelain tıbbi takviyelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bromelain, steroidal olmayan anti-enflamatuar ilaçlara benzer şekilde hareket edebilir ve daha az yan etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Sharafeddin ve Haghbin, 2019).

Diş hekimliği alanında bromelain enziminin kullanımı enzimin sahip olduğu proteolitik aktivite özelliğine dayanmaktadır. Araştırmacılar bromelain enziminin asitle pürüzlendirilmiş dentinden kollajen ağını etkili bir şekilde uzaklaştırdığını, monomerin sağlam dentine difüzyon potansiyelinin arttığını ve bu bağlamda mikrosızıntının en aza indirilebildiğini bildirmektedir (Dayem ve Tameesh, 2013; Sharafeddin ve Haghbin, 2019; Chauhan, Basavanna ve Shivanna, 2015; Sharafeddin ve Safari, 2019; Damaraju, Velagala, Popuri, Priyanka, 2019; Zakzouk Alshahlı, Sato, Hosaka, Hatayama, Chiba, Foxton, Tagami, Sumi, Shimada, Nakajima, 2020). Dayem ve Tameesh (2013) bromelain enziminin dentini deproteinize edici etkisini araştırmak amacı ile yaptıkları SEM çalışmasında, bromelain enziminin kollajen ağ yapısını uzaklaştırarak adeziv sistemin mikrosızıntı skorlarını önemli ölçüde azalttığını bulgulamıştır (Dayem ve Tameesh, 2013).

Bromelain enziminin dentin deproteinizasyonu amacı ile kullanımının rezin-dentin bağlanma dayanımı üzerine olan etkisi ilk kez 2015 yılında incelenmiş, asitle pürüzlendirilmiş dentin üzerine 1 dakikalık uygulamanın bağlanma dayanımını önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (Chauhan, Basavanna ve Shivanna, 2015).

Dentin deproteinizasyonu amacı ile %3'lük bromelain enziminin uygulanarak yapılan bir diğer çalışmada, bromelain deproteinizasyonu yapılan grubun kontrol grubuna benzer mikrosızıntı skorları ve makaslama bağlanma dayanımı sonuçları gösterdiği bildirilmiştir (Sharafeddin ve Haghbin, 2019).

Yürütülen tez çalışması kapsamında rezin-dentin bağlanma dayanımını geliştirmek için dentin deproteinizasyonu amacı ile araştırılan yeni ajanlardan biri olarak %3'lük bromelain solüsyonu çalışma gruplarından biri olarak belirlenmiştir.

Restoratif diş hekimliğinde ozonun gaz formunda kullanımının klinik performansı son yıllarda birçok çalışma ile değerlendirilmiştir. Ozon, koronal ve kök çürüklerinin tedavisi, ortodontik hastalarda beyaz nokta gelişimi ve dentin aşırı duyarlılığı, kavite dezenfeksiyonu, beyazlatma gibi birçok alanda uygulanmıştır (Magni, Hickel ve Ilie, 2009). Çoğunlukla kavite ve kök kanal sistemi dezenfeksiyonu için kullanılan ozon gazının dentinin sertliğini ve diğer mekanik özelliklerini etkileyebileceği bildirilmiştir (Sayin ve diğerleri, 2007). Ağartma ajanlarının oksidatif aktivitesinin adeziv materyallerin dentine bağlanımını ve polimerizasyonlarını olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir (Shinohara, Peris, Pimenta ve Ambrosano, 2005; Cadenaro, Breschi, Antoniolli, Mazzoni ve Di Lenarda, 2006).

Çoğunlukla ağartma maddeleri gibi oksidatif potansiyeli olan maddeler diş sert dokularının mekanik özelliklerinde değişikliklere neden olan davranışlar sergilemektedir (Faraoni-Romano ve diğerleri 2008). Ağartma ajanlarının oksidatif aktivitesinin adeziv materyallerin dentine bağlanımını ve polimerizasyonu olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir. Oksidatif bir ajan olarak tanımlanan ozon moleküllerinin yüksek reaktivitesi ve dehidratasyon etkisi diş sert dokularının mekanik ve kimyasal özelliklerinde meydana gelen değişikliklerden sorumlu olabilir. Ağartma ajanlarının adeziv materyallerin diş dokularına bağlanımı üzerinde bildirilen olumsuz etkilerinin aksine gaz formunda kullanılan ozonun, farklı dental adezivlerin mine ve dentine bağlanma gücü üzerinde olumsuz bir etki göstermediği ileri sürülmektedir (Cadenaro, Foulger, Mazzoti, Tay, Di Lenarda ve Pashley, 2009; Schmidlin, Zimmermann ve Bindl, 2005).

Ozon gazı uygulanan dentinde mikromekanik özellikleri araştıran bir çalışmada, 60 sn ozon gazı uygulaması yapılan grup ve kontrol grubu arasında dentin örneklerinde Evrensel Sertlik,

Vicker Sertliği ve elastik modülü açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (Magni, Hickel ve Ilie, 2009).

Ağartma maddeleri gibi oksidatif potansiyeli olan maddelerin dentin üzerine uygulanmasının, kollajen lif ağının kalitesini etkileyebileceği, böylece dentin organik matriksini destabilize veya denatüre edebileceği bildirilmiştir (Perdigão, Baratieri ve Arcari, 2004). Dentin bir oksijen rezervuarı görevi görebileceğinden, dentin tübüllerinde ve kollajen ağında artık oksijen varlığı, adeziv rezin infiltrasyonunu engelleyebilir (Nikaido, Takano, Sasafuchi, Burrow ve Tagami, 1999). Ozonun çözücü içeriğine bakılmaksızın rezin etiketlerin bütünlüğünü, düzgünlüğünü ve sürekliliğini etkilemediği rapor edilmektedir. Her adeziv rezin grubu için ozon ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu araştırmanın sınırları içerisinde ozon gazının adeziv sistemlerin dentine infiltrasyonunu etkilemediği sonucuna varılmıştır (Magni, Ferrari, Polimeni, Hickel ve Ilie, 2011).

Ozon gazı, diğer iki atoma zayıf bir şekilde bağlanmış üçüncü bir oksijen atomunun varlığından kaynaklanan yüksek kararsızlık ve reaktivite ile karakterize edildiğinden, gaz halindeki ozon kimyasal stabilitesini uzun süre koruyamaz. Ansatüre organik moleküllerle karşılaştığında zayıf bağlı oksijen atomunu serbest bırakır (Stübinger, Sader ve Filippi, 2006). Proteinler, karbonhidratlar ve dental plağın fosfolipidik bileşikler, doymamış moleküler yapıları nedeniyle gaz halindeki ozonun oksitleyici etkisi için ideal substratlardır (Baysan, Whiley ve Lynch, 2000; Holmes, 2003).

Gaz halindeki ozonun neden olduğu olası substrat modifikasyonlarının ağartma maddelerinin aksine mine ve dentin yapısında bağlanmayı etkileyecek değişiklikler oluşturmadığını gösteren bir başka çalışmada, 40 saniyelik ozon gazı uygulamasının dentinin mikro sertlik, temas açısı ve aşındırma direnci veya serbest yüzey enerjisi gibi bağlanmayı etkileyebilecek fiziksel özellikleri üzerinde anlamlı bir etki göstermediği bulgulanmıştır. Sonuçlarda ozon gazının dehidratasyon etkisinin dentin üzerinde serbest yüzey enerjisini bozmadığı ve bağlanma gücünü etkilemediği rapor edilmiştir (Celiberti, Pazera ve Lussi, 2006).

Ozonun neden olduğu dentin dehidrasyonunun, kollajen fibrillerin çökmesine neden olabileceği ve adeziv sistemlerle dentin ıslanabilirliğini azaltabileceği düşünülse de yapılan

alışmalar sonucunda ozonun dentin matriksinin organik bileşiklerini oksitleyip bozabileceği, dentin tübüllerini açabileceği ve rezin monomerlerinin dentin yapısına difüzyonunu teşvik edebileceği bildirilmektedir (Knezvi, Tarle, Negoveti Mandi, Prskalo, Panduri ve Jankovi, 2007; Baysan ve Lynch, 2004).

Dentin deproteinizasyonunda kullanılan ve araştırılan ajanların oksidatif olması ilgiekicidir. Oksidatif ajanların genellikle dentin ve mineye adezyonu negatif yönde engellemesine rağmen yapılan çalışmalar sonucunda güçlü bir oksidatif ajan olan ozonun adezyona olumsuz bir etkisi olmadığı bildirilmektedir. Aynı zamanda ozonun, dentin tübüllerini açabileceği, dentin organik matriksini destabilize edebileceği gösterilmiştir. Konuyla ilgili mevcut, güncel, bilimsel literatür taraması yapıldığında güçlü bir oksidatif ajan olan ozonun dentin deproteinizasyonu amacı ile kullanımına yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dentin deproteinizasyonu kavramı doğrultusunda toksik olmayan, uygulanabilir, ekonomik ve etkili ajanların arayışı doğrultusunda ozon gazının özellikleri ve diş sert dokuları üzerinde oluşturduğu etkiler göz önüne alındığında dentin deproteinizasyonu amacı ile kullanılabileceği dşnlmştir. Bu bağlamda yürütülen tez çalışmasında bilgimiz dahilinde ilk defa gaz formundaki ozonun dentinde deproteinizasyon etkisi araştırılmıştır.

Öte yandan mekanik bozunma ve serbest radikallerin varlığı, demineralize kollajen matriksinin bozunma sürecini arttırabilmektedir. Hidroksil radikali (hidrojen peroksitten meydana gelen) gibi oksidanlar (yani reaktif oksijen türleri) eşleşmemiş bir elektron içermektedir. Reaktif serbest radikal türleri, çeşitli doku hasarı formları ve yaşlanma süreci ile ilişkili bulunmuştur. Bu elektronlar ise moleküler düzeyde protein yapılarına oldukça reaktiftir ve zarar vermektedirler. Birçok serbest radikal bir çeşit reaktif oksijen formu yapısına sahip olduğundan, etkili bir temizleyici genellikle ‘antioksidan’ olarak adlandırılmaktadır (Erhardt ve diğerleri, 2011).

Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koyarak yapısal ve doku bütünlüğünü korur. Askorbik asit, potansiyel olarak zararlı serbest radikalleri nötralize edebilen suda çözünür bir antioksidandır. Askorbik asit, aşınmanın dentin kollajeni üzerindeki denatüre edici etkisini baskılayarak kompozit-dentin bağlarının bozunmasına karşı koruma sağlar. Dentin zerine yapılan önceki çalışmalar, askorbik asit veya askorbatın, dentinin oksidanlar ile n-muamelesi ile oluşan zayıf bağ kuvvetlerini tersine

çevirebileceğini göstermektedir. Bunun için çoğu çalışmada dentinin oksidan içerikli kimyasallarla muamelesinden sonra %10'luk askorbat kullanılmaktadır (Yiu, Garcia-Godoy, Tay, Pashley, Imazato ve King, 2002; Weston, Ito, Wadgaongar ve Pashley, 2007).

Ozonun oksidatif etkilerini nötralize etmek amacı ile yapılan bir çalışmada ozon kullanımının ardından 10 dakika süreyle %10 konsantrasyonunda sodyum askorbat uygulanmıştır. Sonuçların analizi, sodyum askorbatın adeziv kompozitlerin insan dentinine bağlanma gücü değerlerini tersine çevirdiğini göstermiş, böylece sodyum askorbatın ozon ile muamele edilmiş substrat üzerinde bir redoks reaksiyonu yoluyla oksitleyici maddeleri değiştirme kapasitesine sahip olmasının mümkün olabileceği bildirilmiştir (Weston, Ito, Wadgaongar, Pashley, 2007). Ozondan sonra *askorbat* kullanımını değerlendirmek için oldukça az sayıda çalışma yapılmış olsa da, aynı prensibin bir parçası olan diş beyazlatma ajanları/NaOCl'nin antioksidanlarla birlikte kullanımının rezin-mine/dentin bağlanma dayanımı üzerindeki etkisini değerlendiren çalışmalarla uyumlu sonuçlar ortaya koyacağı düşünülmektedir (Lai, Tay, Cheung, Mak, Carvalho, Wei, Toledano, Osorio ve Pashley, 2002; Kaya ve Turkun, 2003). Weston ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, %10 sodyum askorbat ile 1 dakikalık uygulamanın 10 dakika uygulama kadar etkili olduğu gösterilmektedir (Weston, Ito, Wadgaongar, Pashley, 2007). Ozon ve sodyum askorbatın dentine bağlanma dayanımına etkisinin test edildiği *in-vitro* çalışma sonucunda; ozon, dentin ile kompozit rezin arasındaki mikro çekme bağ kuvvetini azaltmış, ancak ozon uygulaması ardından bir antioksidan kullanımı azalmış bağ gücü değerlerini tersine çevirmiştir (Rodrigues ve diğerleri, 2011). Öte yandan gaz halindeki ozonun uçuculuğunun dentin substratı içinde oksijen yan ürünlerinin oluşumuna izin vermediği tahmin edilebilir ancak ozon gazının astar ve bağlayıcı rezinlerin tübül duvarlarına yapışmasını, ortaya çıkan rezin etiketlerinin miktarını ve kalitesini bozabileceğini düşünen araştırmacılar mevcuttur (Magni, 2011).

Yürütülen tez çalışmasında dentin deproteinizasyonu yapabileceği düşünülen ozon gazı 40 saniye süre ile uygulanmış ve sonrasında bağlanmayı etkileyebilecek olası reaktif serbest radikallerin uzaklaştırılması amacıyla örneklere 30 sn süre ile %10'luk askorbik asit tatbik edilmiştir.

Adeziv sistem olarak aseton bazlı *etch&rinse* ve *self-etch* 'in kullanıldığı servikal bölgedeki sınıf V kaviterlerde yapılan bir çalışmada, dentin deproteinizasyonu amacı ile 2 ve 5 dakika

süreyle %5 NaOCl kullanımını takiben 1 dakika süreyle antioksidan (%10 sodyum askorbat) uygulanmıştır. Aseton bazlı *etch&rinse* adeziv sistemi (Prime & Bond NT) ile bağlanan numuneler, deproteinizasyon ve antioksidan uygulamasının yapılıp yapılmadığına bakılmaksızın en düşük mikrosızıntı skorları göstermiştir. İstatistiksel açıdan mikrosızıntı skorunda anlamlı bir fark bulgulanmamasına rağmen, NaOCl ile dentin deproteinizasyonu uygulanan grupların mikrosızıntı parametresindeki azalmanın muhtemelen adeziv sisteminin bileşimi nedeniyle olduğu bildirilmiştir (Ravishanker ve Chaitanya, 2012). Numunelerin termal döngü ve mekanik yorulma ile yaşlandırıldığı bir çalışmada, *etch&rinse* adeziv sistemi kullanılan kontrol grubu ile NaOCl dentin deproteinizasyonu grubu karşılaştırıldığında önceki birçok çalışmanın bulguları doğrultusunda mikrosızıntı değerlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (Bortoluzzi de Conto Ferreira ve diğerleri, 2015; Ravishanker ve Chaitanya, 2012; Toledano ve diğerleri, 2012). Aynı zamanda, NaOCl dentin deproteinizasyonu ile kollajenin çıkarıldığı ve bağlanma için aseton bazlı bir adeziv kullanılan çalışmalar sonucunda azalmış mikrosızıntı skorları bildirilmiştir (Torres ve Araujo, 2004; Duarte ve Silva, 2007; Nagpal, Tewari ve Gupta, 2007). Baseggio ve arkadaşları (2009) ile Shinohara ve arkadaşlarının (2004) yaptıkları çalışmalarda ise NaOCl dentin deproteinizasyonunun uygulandığı gruplarda rezin infiltrasyon derecelerinde önemli bir artış bulunmuş fakat bu durumun tartışmalı bir konu olduğu belirtilmiştir (Shinohara, Bedran-de-Castro, Amaral ve Pimenta, 2004; Baseggio ve diğerleri, 2009).

Öte yandan diş oklüzal yüzeyinde 60 saniye boyunca %10 NaOCl ile yapılan dentin deproteinizasyonunun mikrosızıntıyı önemli ölçüde artırdığı bildirilmektedir. Fakat dentin-adeziv arayüz bağlanması üzerindeki bu olumsuz etkinin, çözücü olarak alkol içeren bir adezivin kullanılmasından kaynaklanıyor olabileceği belirtilmektedir. Araştırmacı literatürde bildirilen diğer çalışmalarla (Pimenta ve diğerleri, 2004; Souza, Silva, Dibb, Delfino ve Souza Beatrice, 2005) uyumlu olarak, çözücü olarak aseton içeren adeziv sistemlere kıyasla, deproteinizasyon işlemi ile birlikte etanol içerikli adeziv sistemlerin kullanımının daha yüksek mikrosızıntı değerleri ortaya koyduğunu bildirmektedir (Baseggiove diğerleri, 2009).

Servikal bölgelerde yer alan sınıf V kavitelerde NaOCl dentin deproteinizasyonu yapılan çalışmada, örnekler mikrosızıntı açısından değerlendirilmiş; NaOCl dentin deproteinizasyonu sadece 3 aşamalı *etch&rinse* adeziv sistemi kullanılan grup neredeyse aynı değerleri göstermiştir (Shetty, Mithra ve Sureshchandra, 2008).

Tez çalışmasının mikrosızıntı sonuçları değerlendirildiğinde, NaOCl ile dentin deproteinizasyonu ve geleneksel *etch&rinse* adeziv tekniği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülme de, NaOCl dentin deproteinizasyonunun aseton bazlı adeziv sistemle birlikte kullanımının kompozit materyal ve dentin arayüzeyinde bağlanma sürecini geliştirerek mikrosızıntı oluşumunu azalttığı bulguları. Gerçekleştirilen çalışmanın sonuçları, NaOCl deproteinizasyonunun dentinde kollejen ağ yapısını ve monomer difüzyon derinliğini etkileyerek mikrosızıntı skorlarını iyileştirdiği konusunda yürütülen diğer çalışmaları destekler niteliktedir. Salz ve Bock tarafından yapılan çalışmada açıklandığı gibi dentinin yüzey enerjisi ve geçirgenliğini artırarak dentin yüzeyinin adeziv sistemle doğrudan teması ve adeziv rezinin infiltrasyon derecesinde artış sağladığı düşünülmektedir (Salz ve Bock, 2010). Ayrıca dentin yüzeyinin hava ile kurutulmasına izin veren, dentin deproteinizasyonu ek klinik adımı ile operatörün nemli bağlanma gerektiren adeziv protokolleri üzerinde istemeden oluşturacağı negatif etkinin azaltılabileceği kanısındayız.

Yürütülen tez çalışmasında NaOCl grubunda 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri uygulanan örneklerin mikrosızıntı değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulgulanmıştır ($p=0,033$). Bir yıl yaşlandırma protokolü uygulanan grubun %14,3'ünde mikrosızıntı skorları bildirilirken (skor 1), 2 yıl yaşlandırma protokolü sonrasında bu oranın %50'ye çıktığı ve mikrosızıntı derinliğinin arttığı (skor 1-2-3) gözlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada kontrol grubu (yalnızca 2 aşamalı *etch&rinse* adeziv sistemi) ve NaOCl ile dentin deproteinizasyonu yapılan grup 24 saat, 6 ay ve 12 ay olmak üzere farklı sürelerde yaşlandırılmıştır. Tüm yaşlanma süreleri için NaOCl deproteinizasyon grubunun kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha az mikrosızıntı gösterdiği bildirilmiş ve bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olduğu rapor edilmiştir. Hem kontrol hem de NaOCl grubunda 6 aylık yaşlandırmanın anlamlı bir etki yaratmadığı, ancak 12 aylık yaşlandırma sonucunda başlangıç durumuna göre mikrosızıntı açısından benzer düzeylerde artış görüldüğü rapor edilmektedir (Torres, Araújo ve de Mello Torres, 2004).

Yapılan tez çalışmasında NaOCl grubunda 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri uygulanan örneklerin mikrosızıntı değerleri karşılaştırıldığında anlamlı istatistiksel farklılıklar saptandı ($p=0,033$). Bir yıl yaşlandırma protokolü uygulanan grubun, 2 yıl yaşlandırma protokolünün uygulandığı gruba göre daha az mikrosızıntı skorları gösterdiği rapor edildi.

Bağlanma kuvveti ve mikrosızıntı ilişkisi karmaşıktır ve tam olarak anlaşılamamıştır. Bu fenomenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmamasına rağmen, birbirleriyle ilişkilidirler (Ravishanker ve Chaitanya, 2012). Bu bağlamda yürütülen tez çalışmasında gruplar her iki yaşlandırma protokülü sonrasında mikrosızıntı ve bağlanma dayanımı testleri ile değerlendirilmişlerdir.

Rezin-dentin arayüzünde bağlanma dayanımını arttırmak amacı ile NaOCl deproteinizasyonu kullanımının olumlu etkilerini bildiren birçok çalışma mevcuttur (Pucci ve diğerleri, 2016; Nima ve diğerleri, 2020; Baseggio ve diğerleri, 2009; Sauro ve diğerleri, 2009). Araştırmacılar dentin deproteinizasyonunda NaOCl kullanımının olumlu etkilerini ajanın proteolitik aktivitesi sonucunda artan monomer difüzyon derinliğine ve dentinin fiziksel özelliklerindeki değişimlere bağlamaktadır. Öte yandan, yapılan bir çalışmada % 5 NaOCl uygulamasının, bağlanma dayanımı üzerinde olumsuz etkileri olduğu ve nano dolgulu kompozit rezinlerin makaslama bağ dayanımında önemli bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Sharafeddin, Koohpeima ve Razazan, 2017). Başka bir çalışmada ise, kontrol grubu ile NaOCl ile tedavi edilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur (Chauhan, Basavanna ve Shivanna, 2015). Bu farklılıkların adeziv materyallerin çeşitliliği, kullanılan NaOCl konsantrasyonu ve uygulama süre farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Aseton bazlı bir adeziv sistemin kullanımının deproteinize grupların bağlanma dayanımında bir rol oynayabileceği çünkü bu adezivlerin deproteinize dentine bağlanmayı olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (Faria-e-Silva ve diğerleri, 2013). Araştırmalar dentin deproteinizasyonunda aseton bazlı adezivlerin kullanımını önerse de adeziv içeriğinin de rezin-dentin bağlanma mukavemetini etkileyebileceği vurgulanmaktadır (De Duarte ve Silva, 2007; Pucci ve diğerleri, 2016; Silva, Duarte, Poskus, Barcellos ve Guimaraes, 2007; Silva, G.O., Barcellos, Pucci, Borges ve Torres, 2009). Önceki çalışmalar, fosforik asit ester (PENTA) içeren aseton bazlı sistemlerdeki fosfat terminallerinin deproteinizasyondan sonra dentin yüzeyinde kalan kalsiyum iyonları ile etkileşime girebildiği için adezyonu önemli ölçüde artırmaya eğilimli olduğunu göstermiştir (Nima ve diğerleri, 2020). Öte yandan Aguilera ve arkadaşları, deproteinizasyonun dentin bağlanma dayanımı üzerindeki etkisinin ajana bağlı olduğunu ve deproteinize dentin üzerinde aseton kullanımının bağlanma dayanımını etkilemediğini bildirmektedir (Aguilera ve diğerleri, 2012).

Gerçekleştirilen tez çalışmasının bağlanma dayanımı test sonuçları değerlendirildiğinde, %5,25 NaOCl deproteinizasyon protokolünün, dentine ön bir tedavinin uygulanmadığı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da bağlanma dayanımı üzerinde olumlu etki yarattığını göstermektedir. Tez çalışmasının sonuçları, Sabovia ve arkadaşları (2000) ile Toledano ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmalar ile tartışmalıdır (Sabovia, Rodrigues ve Pimenta, 2000; Toledano, Perdiago, Osorio E. ve Osorio R, 2005). Bu çalışmalar kollektif olarak kollajen çıkarmanın makaslama bağlanma kuvvetini olumsuz etkilediğini bildirmektedir. Ortaya çıkan karşıt bulgular, test parametrelerindeki farka ve daha yüksek bir NaOCl konsantrasyonunun (%10) kullanımına bağlanabilir. NaOCl'nin, rezin- dentin adezyon kuvvetini adeziv sistemin kimyasal yapısına, çözücü tipine ve NaOCl konsantrasyonuna bağlı olarak farklı şekilde etkileyebileceği kanısındayız. Tez çalışmasında elde edilen olumlu sonuçlarının sebebi, referans alınan diğer çalışmalarla uyumlu olarak 30 sn %5,25 NaOCl dentin deproteinizasyonunun PENTA içerikli aseton bazlı adezivle birlikte kullanımının istenilen proteolitik aktiviteyi gösterebilmesi doğrultusunda açıklanabilir.

Araştırmacıların dikkat çektiği bir diğer önemli faktör de yaşlandırma süreleridir. NaOCl ile dentin deproteinizasyonu hakkında yapılan bir çalışmada 6 aylık suda depolamadan sonraki sonuçlar, anlık sonuçlara kıyasla daha küçük bağlanma dayanımı değerleri ortaya koymaktadır (Silva ve diğerleri, 2009). Yapılan bir başka çalışmada ise %10 NaOCl ile dentin deproteinizasyon işleminin, geleneksel tedaviye kıyasla bağlanma dayanımını olumlu yönde etkilediği ve 1 yıl yaşlandırma sonrasında bağlanma gücünde düşük bir azalma gözlemlendiği rapor edilmiştir. (Pucci ve diğerleri, 2016). Nima ve arkadaşlarının 2020 yılında yürüttüğü çalışmada, 1 yıl yaşlandırılan NaOCl dentin deproteinizasyonu grubu 24 saat yaşlandırma süresine göre daha düşük bağlanma dayanımı sonuçları vermiştir.

Yürütülen tez çalışmasında referans alınan çalışmaların sonuçlarına paralel olarak, 2 yıl yaşlandırma protokolü uygulanan NaOCl dentin deproteinizasyonu grubunun 1 yıl yaşlandırma protokolü uygulanan gruba göre daha düşük bağlanma dayanımı gösterdiği bulgulanmıştır. NaOCl ile dentin deproteinizasyonu sonucunda hibrid tabaka oluşmayacağı için yaşlanma boyunca stabil bağlanma dayanımı oluşturulabileceği temeline dayanan bakış açısı elde edilen güncel sonuçlar doğrultusunda desteklenememektedir (Nima ve diğerleri, 2020; Pucci ve diğerleri, 2016; Toledano ve diğerleri, 2005; Sharafeddin, Koohpeima ve Razazan, 2017).

Pucci ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2016), dentinde NaOCl deproteinizasyonu yapılan grupların 24 saat ve 1 yıl yaşlandırılmalarından sonra tespit edilen kırık tipleri benzer olarak bildirilmiştir. Ne dentin ne de rezin içinde koheziv tip kırılma tespit edilmemiştir. Dentine uygulanan NaOCl çözeltisinin kırık tipini etkilemediği bildirilmektedir (Pucci ve diğerleri, 2016). Yürütülen tez çalışmasında bu bilgilere paralel olarak NaOCl ile diğer gruplar arasında ve grup-içi kırık tiplerinin dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulgulanmamıştır ($p>0,050$).

Bromelain enzimin dentin deproteinizasyonu amacı ile kullanımının değerlendirildiği az sayıda çalışma mevcuttur (Dayem ve Tameesh, 2013; Sharafeddin ve Haghbin, 2019; Chauhan, Basavanna ve Shivanna, 2015; Sharafeddin ve Safari, 2019; Damaraju, Velagala, Popuri, Priyanka, 2019; Zakzouk Alshahli, Sato, Hosaka, Hatayama, Chiba, Foxton, Tagami, Sumi, Shimada, Nakajima, 2020; Khatib, Devarasanahalli, Aswathanarayana, Venkateswara ve Nadig, 2020).

Bromelain enzimi, %10 NaOCl ve Nd: YAG lazer ile dentin deproteinizasyonunun mikrosızıntı açısından değerlendirildiği bir çalışmada bromelain enzime kıyasla, Nd: YAG lazer grubu 4 kat ve %10 NaOCl grubu 7 kat oranında fazla mikrosızıntı değerleri göstermiştir (Dayem ve Tameesh, 2013).

Tez çalışmasında bir yıl yaşlandırma protokolü sonrasında elde edilen mikrosızıntı değerleri karşılaştırıldığında, Bromelain deproteinizasyonu yapılan grubun istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak şekilde diğer gruplardan yüksek mikrosızıntı skorları oluşturduğu bulgulanmıştır ($p<0,001$). Bromelain grubunda diğer gruplar ile yüksek derecede farklılık yaratacak şekilde örneklerin %85,7'sinde farklı mikrosızıntı skorlarının (Skor 1: %14,3; Skor 2: %21,4; Skor 3: %50) olduğu saptanmıştır. İki yıl yaşlandırma protokolü sonrasında elde edilen mikrosızıntı değerleri arasında benzer şekilde bromelain deproteinizasyonu yapılan grubun istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratarak diğer gruplardan yüksek mikrosızıntı skorları (skor 2-3) oluşturduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Bromelain enzimi, NaOCl ve kontrol grubunun 3 aşamalı *etch&rinse* adeziv sistemi ile birlikte kullanıldığı bir çalışmada, bağlanma dayanımı açısından kontrol grubu ve NaOCl deproteinizasyonu grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmezken, en

yüksek bağlanma dayanımı bromelain enzim ile elde edilmiştir (Chauhan, Basavanna ve Shivanna, 2015).

Dentin deproteinizasyon ajanları hakkında yapılan bir başka çalışmada, %5,25 NaOCl grubunun bromelain ve kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha düşük bağlanma dayanımı sergilediği bildirilmiştir. Bromelain ise NaOCl grubu ile istatistiksel anlamlı farklılık yaratacak düzeyde yüksek mikro çekme bağlanma dayanımı bulguları vermiştir (Khatib ve diğerleri, 2020). Bu durum, NaOCl uygulamasının organik matriks mutilasyonuna neden olması şeklinde açıklanmıştır (Lai ve diğerleri, 2002). Ayrıca, NaOCl kullanımı ardından açığa çıkan serbest oksijen nedeniyle meydana gelen eksik polimerizasyonun sonuçları etkileyebileceği rapor edilmiştir (Jonathan ve Lakshminarayanan, 2001).

Yürütülen tez çalışmasında deproteinizasyon amacı ile bromelain enziminin, 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında diğer gruplarla istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratacak düzeyde düşük bağlanma dayanımı değerleri sergilediği bulgulanmıştır ($p<0,001$).

Yapılan literatür taramasında bromelain enzimi deproteinizasyonun mikrosızıntı açısından değerlendirildiği iki adet çalışmaya (Dayem ve Tameesh, 2013; Damaraju, Velagala, Popuri, Priyanka, 2019), bağlanma dayanımının araştırıldığı 4 adet çalışmaya (Sharafeddin ve Haghbini, 2019; Chauhan, Basavanna ve Shivanna, 2015; Sharafeddin ve Safari, 2019), her iki konunun araştırıldığı 1 adet çalışmaya ulaşılmıştır (Zakzouk Alshahli, Sato, Hosaka, Hatayama, Chiba, Foxton, Tagami, Sumi, Shimada, Nakajima, 2020). Çalışmalarda %3 çoğunlukta olmakla birlikte %6 ve %8 konsantrasyonlarda bromelain enzimi 30-60 sn sürelerle kullanılmıştır. Bildirilen dikkat çekici düzeydeki olumlu sonuçların hepsi kısa dönem (24 saat) bulgularıdır. Gerçekçi klinik süreci göz önünde bulundurarak planlanan tez çalışmasında, 1 ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında elde edilen düşük bağlanma dayanımı ve yüksek mikrosızıntı skorları öngörülebilir sonuçlardır. Diğer çalışmalarla oluşan farklılığın değerlendirme süreci, kullanılan adeziv sistem ve enzim konsantrasyon farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmekle birlikte her zaman uzun dönem sonuçların kliniğe daha iyi rehber olabileceği kanısındayız.

Diş hekimliği alanında genellikle kavite ve kök kanal dezenfektanı olarak kullanılan ozon, güçlü okside edici özelliği nedeniyle organik yapılarda yer alan protein tabakayı ortadan

kaldırmakta ve biyomoleküllerin oksidasyonu gerçekleşmektedir. Ozonun, dentin matriksinin organik bileşiklerini oksitleyip bozabileceği ve/veya ortadan kaldıracabileceği, dentin tübüllerini açabileceği ve rezin monomerlerinin dentin yapısına difüzyonunu teşvik edebileceği sonucuna varılmıştır (Baysan ve Lynch, 2004; Cadenaro ve diğerleri, 2009).

Yapılan literatür taramasında ozon gazının sahip olduğu oksidatif etkinliğin dentin deproteinizasyonu amacı ile kullanımının araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bilgimiz dahilinde yürütülen tez çalışmasında oksidatif gücü göz önünde bulundurularak ozon gazı dentin deproteinizasyonu amacı ile ilk kez kullanılmıştır. Çalışmada, dentin deproteinizasyonu amacı ile ozon gazı kullanımının mikrosızıntı ve bağlanma dayanımı açısından kontrol grubu ve NaOCl grubuna benzer sonuçlar oluşturduğu saptanmıştır.

İki oksijen atomuna zayıfça bağlanmış 3. bir oksijen atomu sebebi ile yüksek reaktivite ve kararsızlığa sahip olan ozon gazı, kimyasal kararlılığını uzun süre devam ettiremez. Bu nedenle ozon gazının, organik bileşiklerle reaksiyona girdikten kısa bir süre sonra aktivitesini yitirdiği bildirilmektedir (Baysan, Whiley ve Lynch, 2000; Holmes, 2003; Grootveld, Silwooda ve Lynch, 2006). Aynı zamanda kompozit-diş sert dokuları arasında bağlanmayı negatif yönde etkilediği bilinen, uzun süreli ve çoklu uygulamalar gerektiren beyazlatma ajanlarının aksine, yapılan araştırmalar ozon gazı kullanımının bir kez ve en fazla 80 sn uygulandığı takdirde organik bileşiklerle oluşturduğu oksidasyon reaksiyonunun devam etmediğini, rezidüel artık bırakmadığını ve bu bağlamda bağlanmayı etkileyecek olumsuz bir sonuç oluşturmadığını göstermektedir (Dinç, 2012). Ayrıca beyazlatma işlemini hızlandırmak ve daha etkili hale getirmek için ağartma ajanlarında kullanılan ışık, ısı gibi etkenlerin ozon gazı uygulamalarında bulunmaması, mine ve dentinin ozondan daha hafif etkilenmesinin bir diğer sebebi olabilir. Farklı dental adeziv sistemler kullanılarak yapılan araştırmalar sonucunda, adeziv sistemine bakılmaksızın gaz formundaki ozonun mine ve dentine bağlanma gücü üzerinde olumsuz bir etki göstermediği rapor edilmiştir (Cadenaro ve diğerleri 2009; Schmidlin ve diğerleri 2005; Bitter ve diğerleri 2008; Schmidlin ve diğerleri 2005; Magni ve diğerleri 2008; Bitter ve diğerleri, 2008).

Ozon, diyet lazer ve geleneksel kavite dezenfektanlarının Sınıf V restorasyonlarda mikrosızıntıya olan etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada hem oklüzal hem gingival kenarlarda dezenfektanlar arasında sızıntı açısından fark olmadığını belirtilmiştir (Güneş, Bahşi, İnce, Çolak, Dalli, Yavuz, Şahbaz ve Cangül, 2014). .

Diş hekimliğinde gaz halindeki ozonun kullanımı ile ilgili yapılan farklı araştırmalar sonucunda ozon gazının diş sert dokularının fiziksel özelliklerini değiştirmedeği ve rezin-dentin arayüz bağlanma prosedürlerini mikrosızıntı açısından etkilemediği rapor edilmektedir (Celiberti, Pazera ve Lussi, 2006; Rodrigues ve diğerleri, 2011; Magni, Hickel ve Ilie, 2009).

Ozon gazının kök dentin yapısında oluşturduğu değişimlerle ilgili olarak kollajen bozunumunun araştırıldığı çalışmalarda, ozonun gaz formu sayesinde sıvı formundaki ajanlara göre difüzyon yoluyla daha etkili bir şekilde kollajen bozunumu oluşturduğu, bu sonucun doz ve süre değişkenleri doğrultusunda bağlanmayı olumsuz yönde etkileyebileceği bildirilmektedir (Atabek, Bodur, Yalçın, Kalaycı, 2014). Benzer şekilde koronal mine ve dentinde ozon uygulamaları sonrasında düşük rezin-kompozit bağlanma dayanımı bildiren çalışmalar da vardır (Prabhakar, Kumar, Prahlad, 2019). Oksidatif ajanların bağlanma dayanımı üzerinde negatif etkilerini bildiren çalışmalarda bağlanmanın iskeletini hibrid tabaka oluşturmaktadır (Magni, 2010; Holmes, 2003). Dentin deproteinizasyonu sürecinde ise amaç kollajen fibrillerin ve organik yapının ortamdan uzaklaştırılmasıdır. Bu bağlamda en etkili deproteinizasyon ajanı derin difüzyon yeteneği olan, reaksiyon sonrasında deaktif hale gelebilen, organik yapıları hızlı bir şekilde okside edebilecek özelliklere sahip olmalıdır. Gerçekleştirilen çalışmada, dentin deproteinizasyonu amacı ile asitle aşındırma işlemi sonrasında ozon gazı kullanımının dental substratta öngörülen etkileri oluşturabileceği, altın standart olarak kullanılan toksik etkileri bilinen NaOCl ile karşılaştırılabilir sonuçlar ortaya koyabileceği düşünülmüştür.

Yürütülen tez çalışmasında 1 yıl yaşlandırma protokolü sonrasında elde edilen sonuçlara göre kontrol ve NaOCl gruplarında %14,3 oranında mikrosızıntı gözlemlenirken, ozon grubunda bu değer %35,7 oranında bulgulanmıştır. Ozon grubunda 1 yıl sonunda meydana gelen yüksek mikrosızıntı skorlarının çalışmada kullanılan ozon gazı süresi/dozu ile alakalı olabileceğini düşünmekteyiz. Ozonun 40 saniye kullanımının örneklerde kollajen bozunumu sağladığı, ancak dentin tübüllerinden denature kollejeni tam olarak uzaklaştıramadığı kanısındayız. Çalışmalarda bildirilen ozon gazının 40-80 saniye aralığında kullanımı antimikrobiyal amaçlıdır. Yürütülen çalışmada dentin deproteinizasyonu amacı ile ozon gazının kullanımı ilk defa araştırıldığı için önerilen en düşük ozon gazı uygulama süresi tercih edilmiştir. Dentin deproteinizasyonunda ozonun farklı form, süre ve dozlarda kullanımının yer aldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sodyum hipoklorit, kontrol ve bromelain grupları kendi içlerinde 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma açısından değerlendirildiklerinde mikrosızıntının dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu rapor edilmektedir ($p=0,033$). İki yıl yaşlandırma protokolü sonrasında, kontrol grubu ve ozon grubunda %42,9 oranında, NaOCl grubunda ise %50 oranında mikrosızıntı bulgulanmıştır. Bununla birlikte ozon grubunda 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma sonrasında elde edilen mikrosızıntı sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,050$). Dentin deproteinizasyonunun asıl amacı yaşlanma sürecinde meydana gelen hibrid tabakanın bozunumu ve rezin degradasyonunun önüne geçilmesidir. Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde 1 ve 2 yıl mikrosızıntı skorları açısından bir tek ozon grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulgulanmamıştır. Ozon gazı ile dentin deproteinizasyonu sonrasında 1 yılda oluşan mikrosızıntı skorlarının ortalaması kontrol ve NaOCl gruplarından yüksek olmakla birlikte, ozon gazının 1 ve 2 yıl arasında meydana gelen yaşlanma sürecini yani rezin degradasyonunu diğer gruplara kıyasla daha iyi koruduğunu düşünmekteyiz. Bu etkinin rezidüel artık bıraktığı bilinen NaOCl uygulamasının aksine ozon gazının bilinen böyle bir özelliğinin olmaması sebebi ile gerçekleştiği kanısındayız.

Yürütülen tez çalışmasında ozon gazı dentin deproteinizasyonu açısından ilk defa araştırıldığı için sonuçlar bu konu kapsamında başka çalışmalar ile karşılaştırılamamaktadır. Dentinin, bölgesel çeşitliliği de adeziv sistemlerle sağlanan rezin-dentin bağlanma kalitesini etkilemektedir. Kök dentini kuron dentini ile karşılaştırıldığında, kök dentininin daha sklerotik olduğu ve geçirgenliğinin daha düşük olduğu, daha düşük bağlanma dayanımı değerleri gösterdiği bildirilmektedir. (Gürkan, Fırat, Baysan, Gutknecht ve Imazato, 2010). Bu bağlamda ozon gazının dezenfeksiyon ve ağartma amacı ile kullanıldığı çalışmalardan farklı olarak koronal dentinde deproteinizasyon etkilerinin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yürütülen tez çalışmasında 1 yıl yaşlandırma protokolü örneklerinden elde edilen bağlanma dayanımı testi sonuçları değerlendirildiğinde, ozon grubu diğer gruplara göre en yüksek bağlanma dayanımı ($67,5 \pm 9,8\text{MPa}$) değerlerini göstermiştir. Ozon grubunu sırası ile, kontrol grubu ($63,1 \pm 14,6\text{MPa}$) ve NaOCl grubu ($61,9 \pm 15,9\text{MPa}$) ve bromelain grubu ($39,6 \pm 11,1\text{MPa}$) takip etmektedir. Kontrol, NaOCl ve ozon grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmasa da ozon grubunun en yüksek bağlanma değeri sonucunu vermesi ilgi çekicidir.

İki yıl yaşlandırma protokolü sonrasında bağlanma dayanımı testi sonucunda NaOCl grubu en yüksek bağlanma değeri ($55,4 \pm 12,5$ MPa) gösterirken bu grubu sırası ile ozon ($54,8 \pm 12,8$ MPa) ve kontrol grubu ($52,7 \pm 8,7$ MPa) izlemektedir. Sonuçlar değerlendirildiğinde anlamlı istatistiksel farklılık saptanmamasına rağmen ozon grubunun, kendi alanlarında altın standart olarak kabul edilen kontrol grubu ve NaOCl grubu ile benzer sonuçlar oluşturmalarının dikkat çekici olduğu kanısındayız.

Yapılan bir tez çalışmasında, 80 sn uygulanan ozonun mine ve dentinin bağlanma dayanımını olumsuz etkilemediği görülmektedir. Bu çalışmanın SEM bulgularında ozon grubunun kontrol grubuna göre belirgin morfolojik değişim meydana getirdiği, ancak dikkat çekici olarak diğer çalışmaların aksine dentin tübülü açıklıklarının belirginliğini kaybettiği fakat yüzeyde mikro pürüzlülükler olduğu görülmüştür. Araştırmacının bildirdiği sonuçlarla uyumlu olarak, gerçekleştirilen çalışmada ozon gazı deproteinazsonu sonrasında elde edilen yüksek rezin-dentin bağlanma dayanımı sonuçları, ozonun dentin kanallarını açarak rezin monomerlerin kolayca penetre olmasını sağlaması, dentin kanal yüzeylerinde oluşan mikro poröziteler aracılığı ile mineye benzer mikromekanik bağlanmanın gerçekleşmesi görüşü ile açıklanabilir. (Dinç, 2012).

Ozonun sert dokulara uygulanması ve bağlanmasını araştırmak için yapılan başka bir çalışmada ise, 40 saniye süreyle uygulanan ozonla birlikte sodyum askorbat kullanımının mine ve dentinin fiziksel özelliklerini değiştirmediği gibi, restorasyon-dental substrat arasında mikrosızıntı ve bağlanma dayanımı değerlerini ozonun tek başına kullanımına kıyasla olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir. Ozonun olası rezidüel artık bırakmasını engellemek amacı ile askorbik asitle birlikte kullanıldığı yürütülen çalışmanın sonuçları mevcut bilgiyi destekler niteliktedir (Magni, Ferrari, Hickel, Huth ve Ilie, 2008).

Diş hekimliği pratiğinde en çok uygulanan restoratif işlemlerden biri kompozit rezin restorasyonlardır. Kompozit rezin restorasyonların klinik ömür ve başarısını etkileyen en önemli faktör rezin-dentin bağlantısıdır. Klasik olarak asitle pürüzlendirme işlemini takiben hibrid tabaka aracılığı ile gerçekleşen rezin-dentin bağlantısının eksikliklerini gidermek amacıyla dentinin organik matriksini oluşturan kollajen fibrillerin uzaklaştırılmasını ve mineye benzer mekanik rezin-dentin bağlantısını sağlamayı amaçlayan dentin deproteinizasyonu güncel ve umut vaad eden bir yaklaşımdır. Ayrıca nemli bağlanma protokolünün olumsuz etkilerini en aza indirebileceği düşünülen dentin deproteinizasyonu

tekniklerinin rezin-dentin bağlanma kalitesinin geliştirilmesi amacına hizmet edebileceği düşünülmektedir.

Dentin deproteinizasyonunda sıklıkla kullanılan toksik etkilere sahip ajanlara alternatif sağlayabilecek doğal kaynaklı ajanların arayışı gündemdedir. Dentinin organik yapısı nedeni ile rezin-dentin bağlanmasındaki güçlükler ve klinik yaşlanma süreci göz önüne alındığında, yürütülen tez çalışmasında ozon gazı uygulamasının dentin deproteinizasyonu amacı ile NaOCl kullanımına bir alternatif olabileceği, yaşlanma sürecinde meydana gelen arayüz bozunumunu azaltabileceği kanısındayız. Gerçekleştirilen tez çalışmanın limitasyonları değerlendirildiğinde elde edilen mikrosızıntı ve rezin-dentin bağlanma dayanımı sonuçlarının SEM analizi bulguları ile desteklenmesi gerektiği, konuyla ilgili tartışma yürütülebilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Dentin deproteinizasyonu ajanı olarak Sodyum Hipoklorit, Bromelain enzimi, Ozon gazı kullanılan ve kontrol grubu örneklerinde, *etch&rinse* adeziv sistem ile birlikte uygulanan kompozit restorasyonun, yaşlandırma protokolleri (1 ve 2 yıl) sonrasında rezin-dentin arayüz birleşiminin mikrosızıntı ve bağlanma dayanıklılığı açısından değerlendirildiği tez çalışmasının sınırları içerisinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

- Yaşlandırma protokolleri sonrasında elde edilen mikrosızıntı değerleri Sodyum Hipoklorit, Bromelain enzim, Ozon gazı ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında, Bromelain deproteinizasyonu yapılan grubun istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak şekilde diğer gruplardan yüksek mikrosızıntı skorları oluşturduğu bulguları ($p<0,001$).
- Sodyum Hipoklorit, Bromelain enzim ve kontrol grupları kendi içlerinde 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri açısından karşılaştırıldığında, elde edilen mikrosızıntı değerlerinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptandı. (NaOCl, $p=0,033$; Bromelain, $p=0,027$; Kontrol, $p=0,032$).
- Diğer gruplardan farklı olmak üzere sadece Ozon gazı deproteinizasyonu yapılan grupta 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri sonrasında elde edilen mikrosızıntı değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($p>0,050$).
- Yaşlandırma protokolleri sonrasında elde edilen rezin-dentin bağlanma dayanımı değerleri Sodyum Hipoklorit, Bromelain enzim, Ozon gazı ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında, sadece Bromelain deproteinizasyonu yapılan grubun istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak şekilde diğer gruplardan düşük bağlanma dayanımı değerleri sergilediği bulguları ($p<0,001$).
- Sodyum Hipoklorit, Bromelain enzim, Ozon gazı ve kontrol grupları kendi içlerinde 1 yıl ve 2 yıl yaşlandırma protokolleri açısından karşılaştırıldığında, elde edilen rezin-dentin bağlanma dayanımı dağılımları arasında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptandı ($p=0,001$).
- Tüm gruplar her iki yaşlandırma protokolünde de rezin-dentin arayüz birleşiminin mikrosızıntı ve bağlanma dayanıklılığı açısından Bonferroni testi ile karşılaştırıldığında, Bromelain grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p<0,001$) bulguları; NaOCl, Ozon gazı ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p=1,000$).

- Rezin-dentin bağlanma dayanımı testi sonrasında elde edilen kırık tiplerinin dağılımları açısından deproteinizasyon amacı ile kullanılan ajanların arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmediği saptandı (1 yıl için $p=0,799$; 2 yıl için $p=0,182$).
- “Dentin ve kompozit restorasyon arayüzey bağlanma dayanıklılığı ve mikrosızıntı düzeyi açısından dentin deproteinizasyonu amacı ile Ozon gazı kullanımının, NaOCl ve kontrol grupları ile arasında anlamlı bir farklılık yoktur” şeklinde tanımladığımız H_0 hipotezi kabul edilmiştir.



KAYNAKLAR

- Abate, P.F., Rodriguez, V.I. and Macchi, R.L. (2000). Evaporation of solvent in onebottle adhesives. *Journal of Dentistry*, 28(6), 437–440.
- Abdalla, A. I., El Zohairy, A. A., Aboushelib, M. M., & Feilzer, A. J. (2007). Influence of thermal and mechanical load cycling on the microtensile bond strength of self-etching adhesives. *American Journal of Dentistry*, 20(4), 250.
- Abreu, A., Loza, M. A., Elias, A., Mukhopadhyay, S., Looney, S., & Rueggeberg, F. A. (2009). Tensile bond strength of an adhesive resin cement to different alloys having various surface treatments. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 101(2), 107-118.
- Abuabara, A., Santos, A. J. S. D., Aguiar, F. H. B., & Lovadino, J. R. (2004). Evaluation of microleakage in human, bovine and swine enamels. *Brazilian Oral Research*, 18(4), 312-316.
- Abuhaimed, T. S. and Abou Neel, E. A. (2017). Sodium hypochlorite irrigation and its effect on bond strength to dentin. *BioMed Research International*, 930360, doi: 10.1155/2017/1930360.
- Abu-Naba'a, L., Al Shorman, H. and Lynch, E. (2003). Ozone treatment of primary occlusal pit and fissure caries (POPFC): 12 mounths clinical severity changes. *Caries Research*, 37: 272.
- Aguiar, T. R., Vidal, C. M. P., Phansalkar, R. S., Todorova, I., Napolitano, J. G., McAlpine, J. B., ... & Bedran-Russo, A. K. (2014). Dentin biomodification potential depends on polyphenol source. *Journal of dental research*, 93(4), 417-422.
- Aguilera, F. S., Osorio, R., Osorio, E., Moura, P., & Toledano, M. (2012). Bonding efficacy of an acetone/based etch-and-rinse adhesive after dentin deproteinization. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 17(4), e649-54. doi: 10.4317/medoral.17717
- Aguilera, F. S., Osorio, R., Osorio, E., Moura, P., & Toledano, M. (2012). Wetting ability of an acetone/based etch&rinse adhesive after NaOCl-treatment. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 17(4), e644.
- Aktaş, N. (2017). *Kök Kanak Dezenfeksiyonunda Ozonun ve Bitkisel İçerikli Ajanların Antimikrobiyal Etkinliklerinin İn Vitro Değerlendirilmesi*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Al-Ammar, A., Drummond, J. L., and Bedran-Russo, A. K. (2009). The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 91(1), 419-424.
- Alani, A.H. and Toh, C. G. (1997). Detection of microleakage around dental restorations: a review. *Operative Dentistry*, 22, 173-185.
- Albers, H. F. (2002). *Tooth-colored restoratives: principles and techniques*. PMPH-USA, 9, 83-288.

- Al-Salehi, S. K., Wood, D. J., and Hatton, P. V. (2007). The effect of 24 h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. *Journal of Dentistry*, 35(11), 845-850.
- Alshahni, R. Z., Sato, K., Hosaka, K., Hatayama, T., Chiba, A., Foxton, R. M., and Nakajima, M. (2020). Effect of smear layer deproteinization with enzyme solutions on bonding efficacy of one-step self-etch adhesives. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 102, 102672.
- Amaral, F. L., Colucci, V., Palma-Dibb, R. G., and Corona, S.A. (2007). Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 19(6), 340-353.
- Armstrong, S. R., Vargas, M. A., Chung, I., Pashley, D. H., Campbell, J. A., Laffoon, J. E., & Qian, F. (2004). Resin-dentin interfacial ultrastructure and microtensile dentin bond strength after five-year water storage. *Operative dentistry*, 29(6), 705-712.
- Armstrong, S., Geraldeli, S., Maia, R., Raposo, L. H., Soares, C. J. and Yamagawa, J. (2010). Adhesion to tooth structure: A critical review of “micro” bond strength test methods. *Dental Materials*, 26, 50–62.
- Atabek, D., Bodur, H., Yalçın, G., and Kalaycı, G. (2014). Effects of oxidative irrigants on root dentin structure: Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy study. *Oral Health and Dental Management*, 13(3), 753-756.
- Ateyah, M., and Akpata, E. (2000). Factors affecting shear bond strength of composite resin to fluorosed human enamel. *Operative Dentistry*, 25(3), 216-222.
- Ayar, M.K. (2015). *ER, CR: YSGG Lazerin Farklı Parametrelerinin Rezin-Mine/Dentin Bağlanma Dayanımına Etkileri*. Doktora Tezi Türkiye Cumhuriyeti Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Ayaz, F., Tağtekin, D., ve Yanıkoğlu, F., (2011). Dentine Bağlanma ve Değerlendirme Metodları. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*.4: 49-56
- Ayyıldız, S., Uyar, A.H., ve Yüzügüllü, B. (2009). Diş hekimliğinde mikrosızıntı ve inceleme yöntemleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 19, 219-226.
- Balkaya, H., and Arslan, S. (2020). A two-year clinical comparison of three different restorative materials in class II cavities. *Operative Dentistry*, 45(1), E32-E42.
- Baran, G., Boberick, K., and McCool, J. (2001). Fatigue of restorative materials. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 12(4), 350-360.
- Barbosa de Souza, F., Silva, C. H. V., Guenka Palma Dibb, R., Sincler Delfino, C., and Carneiro de Souza Beatrice, L. (2005). Bonding performance of different adhesive systems to deproteinized dentin: Microtensile bond strength and scanning electron microscopy. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 75(1), 158–167.

- Barbosa de Souza, F., Silva, C. H. V., Guenka Palma Dibb, R., Sincler Delfino, C., & Carneiro de Souza Beatrice, L. (2005). Bonding performance of different adhesive systems to deproteinized dentin: Microtensile bond strength and scanning electron microscopy. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 75(1), 158-167.
- Baseggio, W., Consolmagno, E. C., Carvalho, F. L. N., Ueda, J. K., Schmitt, V. L., Formighieri, L. A., and Naufel, F. S. (2009). Effect of deproteinization and tubular occlusion on microtensile bond strength and marginal microleakage of resin composite restorations. *Journal of Applied Oral Science*, 17, 462-466.
- Bauer, H., and Ilie, N. (2013). Effects of aging and irradiation time on the properties of a highly translucent resin-based composite. *Dental Materials Journal*, 32(4), 592-599.
- Baysan, A., & Lynch, E. (2004). Effect of ozone on the oral microbiota and clinical severity of primary root caries. *American Journal of Dentistry*, 17(1), 56-60.
- Baysan, A., and Beighton, D. (2007). Assessment of the ozone-mediated killing of bacteria in infected dentine associated with non-cavitated occlusal carious lesions. *Caries Research*, 41(5), 337-341.
- Baysan, A., Whiley, R. A., and Lynch, E. (2000). Antimicrobial effect of a novel ozone-generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro. *Caries Research*, 34(6), 498-501.
- Bedran-Russo, A. K. B., Pashley, D. H., Agee, K., Drummond, J. L., and Miescke, K. J. (2008). Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 86(2), 330-334.
- Bedran-Russo, A. K. B., Pereira, P. N., Duarte, W. R., Drummond, J. L., and Yamauchi, M. (2007). Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 80(1), 268-272.
- Bedran-Russo, A. K. B., Vidal, C. M., Dos Santos, P. H., and Castellan, C. S. (2010). Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 94(1), 250-255.
- Bedran-Russo, A. K. B., Vidal, C. M., Dos Santos, P. H., and Castellan, C. S. (2010). Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 94(1), 250-255.

- Bedran-Russo, A. K. B., Yoo, K. J., Ema, K. C., and Pashley, D. H. (2009). Mechanical properties of tannic-acid-treated dentin matrix. *Journal of Dental Research*, 88(9), 807-811.
- Bedran-Russo, A. K., Pauli, G. F., Chen, S. N., McAlpine, J., Castellan, C. S., Phansalkar, R. S., and Leme, A. A. (2014). Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. *Dental Materials*, 30(1), 62-76.
- Bektas, Ö. Ö., Eren, D., Siso, S. H., and Akin, G. E. (2012). Effect of thermocycling on the bond strength of composite resin to bur and laser treated composite resin. *Lasers in medical science*, 27(4), 723-728.
- Bertassoni, L. E., Habelitz, S., Kinney, J. H., Marshall, S. J., and Marshall Jr, G. W. (2009). Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. *Caries research*, 43(1), 70-77.
- Bitter, K., Noetzel, J., Volk, C., Neumann, K., and Kielbassa, A. M. (2008). Bond strength of fiber posts after the application of erbium: yttrium-aluminum-garnet laser treatment and gaseous ozone to the root canal. *Journal of Endodontics*, 34(3), 306-309.
- Bocci, V. (1992). Ozonization of blood for the therapy of viral diseases and immunodeficiencies. A hypothesis. *Medical Hypotheses*, 39(1), 30-34.
- Bocci, V. (2004). Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators of Inflammation*, 13(1), 3-11.
- Bocci, V. A. (2007). Tropospheric ozone toxicity vs. usefulness of ozone therapy. *Archives of medical Research*, 38(2), 265-267.
- Bortolotto, T., Onisor, I., Krejci, I., Ferrari, M., Tay, F. R., & Bouillaguet, S. (2008). Effect of cyclic loading under enzymatic activity on resin–dentin interfaces of two self-etching adhesives. *Dental Materials*, 24(2), 178-184.
- Bortoluzzi de Conto Ferreira, M., Carlini Junior, B., Galafassi, D., and Gobbi, D. L. (2015). Calcium hypochlorite as a dentin deproteinization agent: Microleakage, scanning electron microscopy and elemental analysis. *Microscopy Research and Technique*, 78(8), 676-681.
- Bortoluzzi de Conto Ferreira, M., Carlini Júnior, B., Galafassi, D., and Gobbi, D. L. (2015). Calcium hypochlorite as a dentin deproteinization agent: Microleakage, scanning electron microscopy and elemental analysis. *Microscopy Research and Technique*, 78(8), 676–681. doi:10.1002/jemt.22524
- Brackett, W. W., Ito, S., Tay, F. R., Haisch, L. D., and Pashley, D. H. (2005). Microtensile dentin bond strength of self-etching resins: Effect of a hydrophobic layer. *Operative Dentistry*, 30(6), 733-738.
- Braem, M. (2007). Microshear fatigue testing of tooth/adhesive interfaces. *Journal of Adhesive Dentistry*, 9, 249-253.
- Braga, R. R., Meira, J. B., Boaro, L. C. and Xavier, T. A. (2010). Adhesion to tooth structure: A critical review of "macro" test methods. *Dental Materials*, 26(2), 38-49.

- Breschi, L., Cammelli, F., Visintini, E., Mazzoni, A., Vita, F., Carrilho, M., and Di Lenarda, R. (2009). Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 11(3), 191.
- Breschi, L., Cammelli, F., Visintini, E., Mazzoni, A., Vita, F., Carrilho, M., and Di Lenarda, R. (2009). Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 11(3), 191.
- Breschi, L., Gobbi, P., Lopes, M., Prati, C., Falconi, M., Teti, G., and Mazzotti, G. (2003). Immunocytochemical analysis of dentin: A double-labeling technique. *Journal of Biomedical Materials Research*, 67A(1), 11-17.
- Breschi, L., Gobbi, P., Mazzotti, G., Ellis, T. H., Sacher, E., and Stangel, I. (1999). Field emission in-lens SEM study of enamel and dentin. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 46(3), 315-323.
- Breschi, L., Lopes, M., Gobbi, P., Mazzotti, G., and Perdigao, J. (2001). Immunocytochemical identification of type I collagen on etched human dentin. *Journal of Dental Research*, 80, 249-251.
- Breschi, L., Mazzoni, A., Nato, F., Carrilho, M., Visintini, E., Tjäderhane, L., and Pashley, D. H. (2010). Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. *Dental Materials*, 26(4), 320-325.
- Breschi, L., Mazzoni, A., Ruggeri, A., Cadenaro, M., Di Lenarda, R., and Dorigo, E. D. S. (2008). Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dental Materials*, 24(1), 90-101.
- Breschi, L., Prati, C., Gobbi, P., Pashley, D., Mazzotti, G., Teti, G., and Perdigao, J. (2004). Immunohistochemical analysis of collagen fibrils within the hybrid layer: a FEISEM study. *Operative Dentistry-University Of Washington*, 29, 538-546.
- Bulut, A. C., ve Atsü, S. S. (2015). Diş hekimliğinde restoratif materyallerin yaşlandırma işlemleri ve çığneme simülatörleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 26(1), 180-186.
- Burgess, J. O., Walker, R., and Davidson, J. M. (2002). Posterior resin-based composite: review of the literature. *Pediatric Dentistry*, 24(5), 465-479.
- Burke, F. J., Hussain, A., Nolan, L. and Fleming, G. J. (2008). Methods used in dentine bonding tests: An analysis of 102 investigations on bond strength. *European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry*, 16, 158-165.
- Burrow, M. F., Satoh, M., and Tagami, J. (1996). Dentin bond durability after three years using a dentin bonding agent with and without priming. *Dental Materials*, 12(5-6), 302-307.

- Cadenaro, M., Antonioli, F., Sauro, S., Tay, F. R., Di Lenarda, R., Prati, C., and Breschi, L. (2005). Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *European Journal of Oral Sciences*, 113(6), 525-530.
- Cadenaro, M., Breschi, L., Antonioli, F., Mazzoni, A., and Di Lenarda, R. (2006). Influence of whitening on the degree of conversion of dental adhesives on dentin. *European Journal of Oral Sciences*, 114(3), 257-262.
- Cadenaro, M., Delise, C., Antoniolo, F., Navarra, O. C., Di Lenarda, R., and Breschi, L. (2009). Enamel and dentin bond strength following gaseous ozone application. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 11(4), 287-292.
- Cadenaro, M., Fontanive, L., Navarra, C. O., Gobbi, P., Mazzoni, A., Di Lenarda, R., and Breschi, L. (2016). Effect of carbodiimide on thermal denaturation temperature of dentin collagen. *Dental Materials*, 32(4), 492-498.
- Cai, J., Palamara, J., and Burrow, M. F. (2018). Effects of collagen crosslinkers on dentine: A literature review. *Calcified Tissue International*, 102(3), 265-279.
- Cardoso, G. C. D., Nakanishi, L., Isolan, C. P., Jardim, P. D. S., and Moraes, R. R. D. (2019). Bond stability of universal adhesives applied to dentin using etch-and-rinse or self-etch strategies. *Brazilian Dental Journal*, 30(5), 467-475.
- Carrilho, M. R., Carvalho, R. M., Tay, F. R., and Pashley, D. H. (2004). Effects of storage media on mechanical properties of adhesive systems. *American Journal of Dentistry*, 17(2), 104-108.
- Carvalho, C., Fernandes, F. P., Freitas, V. D. P., França, F. M. G., Basting, R. T., Turssi, C. P., and Amaral, F. L. B. (2016). Effect of green tea extract on bonding durability of an etch-and-rinse adhesive system to caries-affected dentin. *Journal of Applied Oral Science*, 24(3), 211-217.
- Cassinelli, C., & Morra, M. (1994). Atomic force microscopy studies of the interaction of a dentin adhesive with tooth hard tissue. *Journal of biomedical materials research*, 28(12), 1427-1431.
- Castellan, C. S., Pereira, P. N., Grande, R. H. M., and Bedran-Russo, A. K. (2010). Mechanical characterization of proanthocyanidin–dentin matrix interaction. *Dental Materials*, 26(10), 968-973.
- Cebe, A. M. (2011). *Farklı Kavite Preparasyonları ve Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Adeziv Sistemlerin Dentine Bağlanma Dayanımına ve Mikrosızıntısına Etkisinin Değerlendirilmesi*. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Cecchin, D., Pin, L. C., Farina, A. P., Souza, M., Vidal, C. D. M. P., Dal Bello, Y., and Bedran-Russo, A. (2015). Bond strength between fiber posts and root dentin treated with natural cross-linkers. *Journal of Endodontics*, 41(10), 1667-1671.
- Celiberti, P., Pazera, P., and Lussi, A. (2006). The impact of ozone treatment on enamel physical properties. *American Journal of Dentistry*, 19(1), 67.

- Chauhan, K., Basavanna, R. S., and Shivanna, V. (2015). Effect of bromelain enzyme for dentin deproteinization on bond strength of adhesive system. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*, 18(5), 360.
- Chaussain, C., Boukpepsi, T., Khaddam, M., George, A., and Menashi, S. (2013). Dentin matrix degradation by host matrix metalloproteinases: inhibition and clinical perspectives toward regeneration. *Frontiers in Physiology*, 4, 308-309.
- Chaussain-Miller, C., Fioretti, F., Goldberg, M., and Menashi, S. (2006). The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *Journal of Dental Research*, 85(1), 22-32.
- Chen, C., Mao, C., Sun, J., Chen, Y., Wang, W., Pan, H., and Gu, X. (2016). Glutaraldehyde-induced remineralization improves the mechanical properties and biostability of dentin collagen. *Materials Science and Engineering: C*, 67, 657-665.
- Chersoni, S., Suppa, P., Breschi, L., Ferrari, M., Tay, F. R., Pashley, D. H., and Prati, C. (2004). Water movement in the hybrid layer after different dentin treatments. *Dental Materials*, 20(9), 796-803.
- Cova, A., Breschi, L., Nato, F., Ruggeri Jr, A., Carrilho, M., Tjäderhane, L., and Mazzoni, A. (2011). Effect of UVA-activated riboflavin on dentin bonding. *Journal of dental research*, 90(12), 1439-1445.
- Cox, S. W., Eley, B. M., Kiili, M., Asikainen, A., Tervahartiala, T., and Sorsa, T. (2006). Collagen degradation by interleukin-1 β -stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases. *Oral Diseases*, 12(1), 34-40.
- Çam, M., ve Bağış, Y.H. (2018). Matriks metalloproteinaz inhinitörleri ve adezyondaki önemi *Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 45(3) 191-199.
- Çellik, Ö. (2015). *Farklı Restoratif Materyallerin Ozon Gazı ve Geleneksel Kavite Dezenfektanı Uygulanmış Dişlerde Mikrosızıntıya Olan Etkisinin İncelenmesi*. Uzmanlık Tezi, Dicle Ünivetsitesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Diyarbakır
- Dähnhardt, J. E., Jaeggi, T., and Lussi, A. (2006). Treating open carious lesions in anxious children with ozone. A prospective controlled clinical study. *American Journal of Dentistry*, 19(5), 267-270.
- Damaraju, B., Velagala, D., Popuri, K.C., and Priyanka B. (2019). Effect of dentin deproteinization using bromelain enzyme and sodium salt of vitamin c on microleakage in class v composite restorations: an in vitro study. *Research Paper Dental Science India*, 8(8), 1-4.
- Dayan, D., Binderman, I., and Mechanic, G. L. (1983). A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix. *Archives of Oral Biology*, 28(2), 185-187.
- Dayangac, G B. (2011). *Kompozit restorasyonlar*. Ankara: Güneş Kitabevi, 25-57.

- Dayem, R. N. (2009). A novel method for removing the collagen network from acid-etched dentin by neodymium: yttrium-aluminum-garnet laser. *Lasers in Medical Science*, 24(1), 93-99.
- Dayem, R. N. (2010). Assessment of the penetration depth of dental adhesives through deproteinized acid-etched dentin using neodymium: Yttrium-aluminum-garnet laser and sodium hypochlorite. *Lasers in Medical Science*, 25(1), 17-24. <https://doi.org/10.1007/s10103-008-0589-4>
- Dayem, R. N., and Tameesh, M. A. (2013). A new concept in hybridization: Bromelain enzyme for deproteinizing dentin before application of adhesive system. *Contemporary Clinical Dentistry*, 4(4), 421.
- De Almeida, J. B., Platt, J. A., Oshida, Y., Moore, B. K., Cochran, M. A., and Eckert, G. J. (2003). Three different methods to evaluate microleakage of packable composites in Class II restorations. *Operative Dentistry*, 28(4), 453-460.
- De Camargo, D. A. A., Sinhoreti, M. A. C., Correr-Sobrinho, L., de Sousa Neto, M. D., and Consani, S. (2006). Influence of the methodology and evaluation criteria on determining microleakage in dentin–restorative interfaces. *Clinical Oral Investigations*, 10(4), 317-323.
- De Munck, J. D., Van Landuyt, K., Peumans, M., Poitevin, A., Lambrechts, P., Braem, M., and Van Meerbeek, B. (2005). A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *Journal of Dental Research*, 84(2), 118-132.
- De Munck, J., Ermis, R. B., Koshiro, K., Inoue, S., Ikeda, T., Sano, H., and Van Meerbeek, B. (2007). NaOCl degradation of a HEMA-free all-in-one adhesive bonded to enamel and dentin following two air-blowing techniques. *Journal of Dentistry*, 35(1), 74-83.
- De Munck, J., Van Landuyt, K., Coutinho, E., Poitevin, A., Peumans, M., Lambrechts, P., and Van Meerbeek, B. (2005). Micro-tensile bond strength of adhesives bonded to Class-I cavity-bottom dentin after thermo-cycling. *Dental Materials*, 21(11), 999-1007.
- De Munck, J., Van Meerbeek, B., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M., Suzuki, K., and Vanherle, G. (2003). Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *Journal of Dental Research*, 82(2), 136-140.
- Degrange, M., and Lapostolle, B. (2007). L'expérience des batailles des adhésifs. *L'Information Dentaire*, 89, 112-118
- Deng, D., Yang, H., Guo, J., Chen, X., Zhang, W., and Huang, C. (2014). Effects of different artificial ageing methods on the degradation of adhesive–dentine interfaces. *Journal of Dentistry*, 42(12), 1577-1585.
- Deng, M., Dong, X., Zhou, X., Wang, L., Li, H., and Xu, X. (2013). Characterization of dentin matrix biomodified by *Galla chinensis* extract. *Journal of Endodontics*, 39(4), 542-547.

- Dinç, G. (2012). *Ozonun Farklı Restoratif Materyallerin Mine ve Dentine Bağlanma Dayanımı Üzerine Etkisi*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Dos Santos, P. H., Karol, S., and Bedran-Russo, A. K. (2011). Long-term nano-mechanical properties of biomodified dentin–resin interface components. *Journal of Biomechanics*, 44(9), 1691-1694.
- Dönmez, N., ve Özer, F. 2007. Hibrit tabakası, özellikleri ve hibrit tabakasında gözlenen mikroskobik oluşumlar. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 24, 57-62.
- Duarte, P., and Silva, E. M. D. (2007). Nanoleakage phenomenon on deproteinized human dentin. *Journal of Applied Oral Science*, 15(4), 285-291.
- Dutta, A., and Saunders, W. P. (2012). Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. *Journal of Endodontics*, 38(10), 1395-1398.
- El-Araby, A. M., and Talic, Y. F. (2007). The effect of thermocycling on the adhesion of self-etching adhesives on dental enamel and dentin. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 8(2), 17-24.
- El-Deeb, H. A., Daifalla, L. E., Badran, O. I., and Mobarak, E. H. (2016). Bond strength durability of different adhesives to dentin after aging in two different solutions. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 18(4), 303-309.
- Embery, G., Hall, R., Waddington, R., Septier, D., and Goldberg, M. (2001). Proteoglycans in dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 12(4), 331-349.
- Epasinghe, D. J., Yiu, C. K. Y., Burrow, M. F., Hiraishi, N., and Tay, F. R. (2013). The inhibitory effect of proanthocyanidin on soluble and collagen-bound proteases. *Journal of Dentistry*, 41(9), 832-839.
- Epasinghe, D. J., Yiu, C. K. Y., Burrow, M. F., Tay, F. R., and King, N. M. (2012). Effect of proanthocyanidin incorporation into dental adhesive resin on resin–dentine bond strength. *Journal of Dentistry*, 40(3), 173-180.
- Erdilek, D., Dörter, C., Koray, F., Kunzelmann, K. H., Efes, B. G., and Gomec, Y. (2009). Effect of thermo-mechanical load cycling on microleakage in class II Ormocer restorations. *European Journal of Dentistry*, 3(3), 200.
- Erhardt, M. C. G., Osorio, R., Viseras, C., and Toledano, M. (2011). Adjunctive use of an anti-oxidant agent to improve resistance of hybrid layers to degradation. *Journal of Dentistry*, 39(1), 80-87.
- Erkli, H., and Ersöz, E. (2011). Matriks metalloproteinazlar: diş dokuları ve çürük üzerine etkileri. *Cumhuriyet Dental Journal*, 14(3), 246-257.
- Esener, Z.E. (2011). *Farklı Cila Yöntemlerinin Nanofil VE Mikrohibrit Kompozitlerin Renkleşmesi Üzerine Olan Etkisinin İn Vitro Olarak İncelenmesi*. Doktora Tezi, Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- Esteves, S.R., Huhtala, M.F., Gomes, A.P., Ye, Q., Spencer, P., and De Paiva Gonçalves, S.E. (2016). Longitudinal effect of surface treatments modified by NaOCl-Induced Deproteinization and Nd:YAG laser on dentin permeability. *Photomed Laser Surgery*, 34(2), 68-75.
- Estrela, C., Estrela, C.R., Barbin, E.L., Spano, J.C., Marchesan, M.A., and Pecora, J.D. (2002). Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian Dental Journal*, 13 (2), 113-117.
- Evancusky, J. W., and Meiers, J. C. (2000). Microleakage of Compoglass-F and Dyract-AP compomers in Class V preparations after salivary contamination. *Pediatric dentistry*, 22(1), 39-42.
- Faraoni-Romano, J.J., Da Silveira, A. G., Turssi, C. P., and Serra, M. C. (2008). Bleaching agents with varying concentrations of carbamide and/or hydrogen peroxides: effect on dental microhardness and roughness. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 20(6), 395-402.
- Faria-e-Silva, A. L., Araújo, J. E., Rocha, G. P., Oliveira, A. D. S. D., and de Moraes, R. R. (2013). Solvent content and dentin bond strengths using water-wet, ethanol-wet and deproteinization bonding techniques. *Acta Odontologica Scandinavica*, 71(3-4), 710-715.
- Fawzy, A. S., Nitisusanta, L. I., Iqbal, K., Daood, U., and Neo, J. (2012). Riboflavin as a dentin crosslinking agent: ultraviolet A versus blue light. *Dental Materials*, 28(12), 1284-1291.
- Fawzy, A.S., Nitisusanta, L.I., Iqbal, K., Daood, U., Beng, L.T., and Neo, J. (2013). Chitosan/Riboflavin-modified demineralized dentin as a potential substrate for bonding. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 17, 278-289.
- Ferrari, M., and Garcia-Godoy, F. R. A. N. K. L. I. N. (2002). Sealing ability of new generation adhesive-restorative materials placed on vital teeth. *American Journal of Dentistry*, 15(2), 117-136.
- Ferrari, M., and Tay, F. R. (2003). Technique sensitivity in bonding to vital, acid-etched dentin. *Operative Dentistry*, 28(1), 3-8.
- Ferreira, D., Slade, D. (2002). Oligomeric proanthocyanidins: naturally occurring O-heterocycles. *Natural Product Reports Impact Factor*, 19(5), 517-541.
- Finer, Y., and Santerre, J. P. (2004). Salivary esterase activity and its association with the biodegradation of dental composites. *Journal of Dental Research*, 83(1), 22-26.
- Foreman, P. C., and Soames, J. V. (1989). Comparative study of the composition of primary and secondary dentine. *Caries Research*, 23(1), 1-4.
- Frankenberger, R., and Tay, F. R. (2005). Self-etch vs etch-and-rinse adhesives: effect of thermo-mechanical fatigue loading on marginal quality of bonded resin composite restorations. *Dental Materials*, 21(5), 397-412.

- Fung, D. T., Wang, V. M., Laudier, D. M., Shine, J. H., Basta-Pljakic, J., Jepsen, K. J., ... & Flatow, E. L. (2009). Subrupture tendon fatigue damage. *Journal of Orthopaedic Research*, 27(2), 264-273.
- Gale, M. S., and Darvell, B. W. (1999). Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *Journal of Dentistry*, 27(2), 89-99.
- Georgescu, A., Iovan, G., Stoleriu, S., Topoliceanu, C., and Andrian, S. (2010). Atomic force microscopy study regarding the influence of etching on affected and sclerotic dentine. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 51(2), 299-302.
- Ghonaim, A., Abdelmohsen, M. M., Elkassas, D. W., and Abo-Al-Azz, A. F. (2014). The effect of deproteinization of dentin surface on the micro-shear bond strength to dentin. *Medical Journal Cairo University*, 82, 31-35.
- Gisele M.C., Roberta C.B.A., Maria F.G., Ana F.S.B. and Regina M.P.R.: 2006 Effect of sodium hypochlorite on primary dentin-A scanning electron microscopy (SEM) evaluation. *Journal of Dentistry*, 34, 454-459.
- Goldberg, M., and Takagi, M. (1993). Dentine proteoglycans: composition, ultrastructure and functions. *The Histochemical Journal*, 25(11), 781-806.
- Goracci, C., Tavares, A. U., Fabianelli, A., Monticelli, F., Raffaelli, O., Cardoso, P. C., Tay, F. and Ferrari, M. (2004). The adhesion between fiber posts and root canal walls: Comparison between microtensile and push-out bond strength measurements. *European Journal of Oral Sciences*, 112, 353-361.
- Gökçe, K., ve Özel, E. (2005). Kompozit restorasyonlarda son gelişmeler. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi*, 15, 52-60.
- Gönlüm, M.Ö. (2012). *Doğal ve Suni olarak Oluşmuş Farklı Dentin Yüzeylerine Adezivlerin Bağlanma Dayanımı ve Morfolojik Yapıları Üzerine ER:YAG Lazerin Etkileri*. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya
- Green, B., Yao, X., Ganguly, A., Xu, C., Dusevich, V., Walker, M.P., and Wang, Y. (2010). Grape seed proanthocyanidins increase collagen biodegradation resistance in the dentin/adhesive interface when included in an adhesive. *Journal of Dentistry*, 38(11), 908-915.
- Grootveld, M., Silwooda, C.J.L., and Lynch, E. (2006). High resolution 1h nmr investigations of the oxidative consumption of salivary biomolecules by ozone: relevance to the therapeutic applications of this agent in clinical dentistry. *Biofactors*, 27, 5-18.
- Gross, J. D., Retief, D. H., and Bradley, E. L. (1984). An optimal concentration of phosphoric acid as an etching agent. Part II: Microleakage studies. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 52(6), 786-789.
- Gu, L.-S., Huang, X.-Q., Griffin, B., Bergeron, B. R., Pashley, D. H., Niu, L.N., and Tay, F. R. (2017). Primum non nocere - the effects of sodium hypochlorite on dentin as used in endodontics. *Acta Biomaterialia*, 61, 144-156.

- Gurgan, S., Firat, E., Baysan, A., Gutknecht, N., and Imazato, S. (2010). Effects of ozone and ND: YAG laser pretreatment on bond strength of self-etch adhesives to coronal and root dentin. *Photomedicine and Laser Surgery*, 28(S2), S-3.
- Güneş, Ş., Bahsi, E., İnce, B., Çolak, H., Dalli, M., Yavuz, İ., and Cangül, S. (2014). Comparative evaluation of the effects of ozone, diode laser, and traditional cavity disinfectants on microleakage. *Ozone: Science & Engineering*, 36(2), 206-211.
- Gwinnett, J. A., Tay, F. R., Pang, K. M. and Wei, S. H. (1995). Comparison of three methods of critical evaluation of microleakage along restorative interfaces. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 74, 575-585.
- Hakimeh, S., Vaidyanathan, J., Houpt, M. L., Vaidyanathan, T. K., Von Hagen, S., & School, N. J. D. (2000). Microleakage of compomer class V restorations: effect of load cycling, thermal cycling, and cavity shape differences. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 83(2), 194-203.
- Hale, L. P., Greer, P. K., Trinh, C. T., and James, C. L. (2005). Proteinase activity and stability of natural bromelain preparations. *International Immunopharmacology*, 5(4), 783-793.
- Hammesfahr, P. D., O'Connor, M. T., & Wang, X. (2002). Light-curing technology: past, present, and future. *Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ: 1995)*, 23(9 Suppl 1), 18-24.
- Hashimoto, M. (2010). A Review—Micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 92(1), 268-280.
- Hashimoto, M., Ohno, H., Kaga, M., Endo, K., Sano, H., and Oguchi, H. (2000). In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *Journal of Dental Research*, 79(6), 1385-1391.
- Hashimoto, M., Ohno, H., Sano, H., Kaga, M., and Oguchi, H. (2003). In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*, 24(21), 3795-3803.
- Hashimoto, M., Ohno, H., Sano, H., Kaga, M., and Oguchi, H. (2003). In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*, 24(21), 3795-3803.
- Hashimoto, M., Ohno, H., Sano, H., Tay, F. R., Kaga, M., Kudou, Y., and Kubota, M. (2002). Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 year of water storage. *Journal of Biomedical Materials Research*, 63(3), 306-311.
- Hass, V., Luque-Martinez, I. V., Gutierrez, M. F., Moreira, C. G., Gotti, V. B., Feitosa, V. P., and Reis, A. (2016). Collagen cross-linkers on dentin bonding: stability of the adhesive interfaces, degree of conversion of the adhesive, cytotoxicity and in situ MMP inhibition. *Dental Materials*, 32(6), 732-741.

- Heck, K., Manhart, J., Hickel, R., and Diegritz, C. (2018). Clinical evaluation of the bulk fill composite QuiXfil in molar class I and II cavities: 10-year results of a RCT. *Dental Materials*, 34(6), e138-e147.
- Heintze, S. D. (2007). Systematic reviews: I. The correlation between laboratory tests on marginal quality and bond strength. II. The correlation between marginal quality and clinical outcome. *Journal of Adhesive Dentistry*, 9(1), 77-106.
- Heintze, S. D., Zellweger, G., Cavalleri, A., & Ferracane, J. (2006). Influence of the antagonist material on the wear of different composites using two different wear simulation methods. *Dental Materials*, 22(2), 166-175.
- Henn, S., de Carvalho, R.V., Ogliari, F.A., de Souza, A.P., Line, S.R., da Silva, A.F., Demarco, F.F., Etges, A., and Piva, E. (2012). Addition of zinc methacrylate in dental polymers: MMP-2 inhibition and ultimate tensile strength evaluation. *Clinical Oral Investigations*, 16(2), 531-536.
- Heymann, H. O., Swift, E. J. and Ritter, A. V. (2013). *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry*. (Sixth Edition), Canada: Elsevier Mosby, 41,42.
- Hiraishi, N., Sono, R., Sofiqul, I., Yiu, C., Nakamura, H., Otsuki, M., and Tagami, J. (2013). In vitro evalua
- Holmes, J. (2003). Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomised, controlled 18-month trial. *Gerodontology*, 20(2), 106-114.
- Huo, B. (2005). An inhomogeneous and anisotropic constitutive model of human dentin. *Journal of Biomechanics*, 38(3), 587-594.
- Inaba, D., Duschner, H., Jongebloed, W., Odelius, H., Takagi, O., and Arends, J. (1995). The effects of a sodium hypochlorite treatment on demineralized root dentin. *European Journal of Oral Sciences*, 103(6), 368-374.
- Inai, N., Kanemura, N., Tagami, J., Watanabe, L. G., Marshall, S. J., and Marshall, G. W. (1998). Adhesion between collagen depleted dentin and dentin adhesives. *American Journal of Dentistry*, 11(3), 123-127.
- Inoue, S., Koshiro, K., Yoshida, Y., De Munck, J., Nagakane, K., Suzuki, K., and Van Meerbeek, B. (2005). Hydrolytic stability of self-etch adhesives bonded to dentin. *Journal of Dental Research*, 84(12), 1160-1164.
- Islam, S., Hiraishi, N., Nassar, M., Yiu, C., Otsuki, M., and Tagami, J. (2012). Effect of natural cross-linkers incorporation in a self-etching primer on dentine bond strength. *Journal of Dentistry*, 40(12), 1052-1059.
- Ito, S., Hashimoto, M., Wadgaonkar, B., Svizero, N., Carvalho, R. M., Yiu, C., and Pashley, D. H. (2005). Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*, 26(33), 6449-6459.
- Jaffer, F., Finer, Y., and Santerre, J. P. (2002). Interactions between resin monomers and commercial composite resins with human saliva derived esterases. *Biomaterials*, 23(7), 1707-1719.

- Jonathan, R., and Lakshminarayanan, L. (2001). Comparison Of Shear Bond Strength Of 5th Generation Dentin Bonding Agents: Invitro Study. *Journal of Conservative Dentistry*, 4(3), 122.
- Kanca, J. (1992). Resin adhesive to wet substrate I: Adhesive to dentin. *Quint Inter*, 23(1), 39-41.
- Karaaslan, Ş.E., Altıntaş, S., Cebe, A.M., ve Üşümez, A. (2010). Işıkla aktive edilen dezenfeksiyon işlemi uygulanmış kompozit restorasyonlarda mikrosızıntının değerlendirilmesi. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 34, 2-9
- Karasu, P., ve Sertgöz, E. (2012). Adezivlerin diş dokusuna olan bağlantı dayanıklılığının değerlendirilmesinde kullanılan in vitro test metotları. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 1, 142-146
- Kaya, A.D., and Turkun, M. (2003). Reversal of dentin bondingn to bleached teeth. *Operative Dentistry*, 28(6) 825-829.
- Kaya, T. (2014). *Diş Hekimliğinde Kullanılan Multimod, Etch And Rinse ve Self Etch Adezivlerin Süt ve Daimi Dişlerin Sınıf I Restorasyonlarında Mikrosızıntı Açısından Karşılaştırılması*. Doktora Tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kenshima, S., Grande, R. H. M., Singer, J. D. M., and Ballester, R. Y. (2004). Effect of thermal cycling and filling technique on leakage of composite resin restorations. *Journal of Applied Oral Science*, 12(4), 307-311.
- Kern, M., Barloi, A., and Yang, B. (2009). Surface conditioning influences zirconia ceramic bonding. *Journal of Dental Research*, 88(9), 817-822.
- Khatib, M. S., Devarasanahalli, S. V., Aswathanarayana, R. M., Venkateswara, A. H., and Nadig, R. R. (2020). Microtensile Bond Strength of Composite Resin Following the Use of Bromelain and Papain as Deproteinizing Agents on Etched Dentin: An In Vitro Study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 13(1), 43-47
- Kılınç, H. İ., Aslan, T., Kılıç, K., Er, Ö., and Kurt, G. (2016). Effect of delayed bonding and antioxidant application on the bond strength to enamel after internal bleaching. *Journal of Prosthodontics*, 25(5), 386-391.
- Kim, G. E., Leme-Kraus, A. A., Phansalkar, R., Viana, G., Wu, C., Chen, S. N., and Bedran-Russo, A. K. B. (2017). Effect of bioactive primers on bacterial-induced secondary caries at the tooth-resin interface. *Operative dentistry*, 42(2), 196.
- Kinney, J. H., Balooch, M., Marshall, S. J., Marshall Jr, G. W., and Weihs, T. P. (1996). Atomic force microscope measurements of the hardness and elasticity of peritubular and intertubular human dentin. *Biomech Eng*, 118, 133-135.
- Kiremitçi, A., ve Altıncı, P. (2008). Self etch adeziv sistemlerde güncel gelişmeler Bölüm1: Farklı özelliklerde diş sert dokularına bağlanma etkinliği. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 32(4), 33-48.

- Kitasako, Y., Burrow, M. F., Nikaido, T., and Tagami, J. (2000). The influence of storage solution on dentin bond durability of resin cement. *Dental Materials*, 16(1), 1-6.
- Knežević, A., Tarle, Z., Negovetić Mandić, V., Prskalo, K., Pandurić, V., and Janković, B. (2007). Primary fissure carious lesion reversal using ozone. *Acta stomatologica Croatica*, 41(1), 31-38.
- Knight, G. M., McIntyre, J. M., Craig, G. G., and Zilm, P. S. (2008). The inability of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* to form a biofilm in vitro on dentine pretreated with ozone. *Australian Dental Journal*, 53(4), 349-353.
- Krämer, N., Rudolph, H., Garcia-Godoy, F., and Frankenberger, R. (2012). Effect of thermo-mechanical loading on marginal quality and wear of primary molar crowns. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 13(4), 185-190.
- Kramer, P. F., Zelante, F., and Lorenzetti Simionato, M. R. (1993). The immediate and long-term effects of invasive and noninvasive pit and fissure sealing techniques on the microflora in occlusal fissures of human teeth. *Pediatric Dentistry*, 15, 108-108.
- Kwong, S. M., Cheung, G. S. P., Kei, L. H., Itthagarun, A., Smales, R. J., Tay, F. R., and Pashley, D. H. (2002). Micro-tensile bond strengths to sclerotic dentin using a self-etching and a total-etching technique. *Dental Materials*, 18(5), 359-369.
- La, V.D., Howell, A.B., and Grenier, D. (2009). Cranberry proanthocyanidins inhibit MMP production and activity. *Journal of Dental Research*, 88(7), 627-632
- Lai, S. C. N., Mak, Y. F., Cheung, G. S. P., Osorio, R., Toledano, M., Carvalho, R. M., and Pashley, D. H. (2001). Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. *Journal of Dental Research*, 80(10), 1919-1924.
- Lai, S. C. N., Tay, F. R., Cheung, G. S. P., Mak, Y. F., Carvalho, R. M., Wei, S. H. Y., and Pashley, D. H. (2002). Reversal of compromised bonding in bleached enamel. *Journal of Dental Research*, 81(7), 477-481.
- Leloup, G., D'Hoore, W., Bouter, D., Degrange, M., and Vreven, J. (1998). Meta-analytic review of factors involved in dentin adherence. *Journal of Dental Research*, 77, 944.
- Leonard, D. L., Charlton, D. G., Roberts, H. W., & Cohen, M. E. (2002). Polymerization efficiency of LED curing lights. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 14(5), 286-295.
- Leung, V. H., & Darvell, B. W. (1997). Artificial salivas for in vitro studies of dental materials. *Journal of dentistry*, 25(6), 475-484.
- Li, H., Burrow, M. F., and Tyas, M. J. (2002). The effect of load cycling on the nanoleakage of dentin bonding systems. *Dental Materials*, 18(2), 111-119.
- Lin, A., McIntyre, N. S., and Davidson, R. D. (1992). Studies on the adhesion of glass-ionomer cements to dentin. *Journal of Dental Research*, 71(11), 1836-1841
- Linde A. 1984. Noncollagenous proteins and proteoglycans in dentinogenesis. In: Anders L, editor. Dentin and dentinogenesis. Vol. 2. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 56

- Listl, S., Galloway, J., Mossey, P. A. and Marcenes, W. (2015). Global economic impact of dental diseases. *Journal of Dental Research*, 94(10), 1355-1361.
- Liu, R. R., Fang, M., Zhang, L., Tang, C. F., Dou, Q., and Chen, J. H. (2014). Anti-proteolytic capacity and bonding durability of proanthocyanidin-biomodified demineralized dentin matrix. *International journal of oral science*, 6(3), 168-174.
- Liu, X., Zhou, J., Chen, L., Yang, Y., and Tan, J. (2015). UVA-activated riboflavin improves the strength of human dentin. *Journal of Oral Science*, 57(3), 229-234.
- Liu, Y., Bai, X., Li, S., Liu, Y., Keightley, A., and Wang, Y. (2015). Molecular weight and galloylation affect grape seed extract constituents' ability to cross-link dentin collagen in clinically relevant time. *Dental Materials*, 31(7), 814-821.
- Liu, Y., Chen, M., Yao, X., Xu, C., Zhang, Y., and Wang, Y. (2013). Enhancement in dentin collagen's biological stability after proanthocyanidins treatment in clinically relevant time periods. *Dental Materials*, 29(4), 485-492.
- Liu, Y., Dusevich, V., and Wang, Y. (2013). Proanthocyanidins rapidly stabilize the demineralized dentin layer. *Journal of Dental Research*, 92(8), 746-752.
- Liu, Y., Tjäderhane, L., Breschi, L., Mazzoni, A., Li, N., Mao, J., Pashley, D. H., and Tay, F. R. (2011). Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *Journal of Dental Research* 90(8), 953-968.
- Loguercio, A.D., and Reis, A. (2008) Application of a dental adhesive using the self-etch and etch-and-rinse approaches: an 18-month clinical evaluation. *Journal of the American Dental Association*, 139(1) 53-61.
- Longhi, M., Cerroni, L., Condo, S.G., Ariano, V., and Pasquantonio, G. (2015). University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy. *Department of Clinical Science and Translational Medicine*, 7(3), 71-9.
- Lopes, G. C., Thys, D. G., Klaus, P., Oliveira, G. M., and Widmer, N. (2007). Enamel acid etching: a review. *Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ: 1995)*, 28(1), 18-24.
- Lopes, M. B., Sinhoreti, M. A. C., Correr Sobrinho, L., and Consani, S. (2003). Comparative study of the dental substrate used in shear bond strength tests. *Pesquisa Odontológica Brasileira*, 17(2), 171-175.
- Lynch, E. (2004). *The revolution in dentistry*. 1st Ed. London: Quintessence Publishing Co. Ltd. Chapter 1.1, 1.2, 2.2, 2.3, 2.4, 3.3, 4.1, 4.3.
- Macedo, G. V., Yamauchi, M., & Bedran-Russo, A. K. (2009). Effects of chemical cross-linkers on caries-affected dentin bonding. *Journal of dental research*, 88(12), 1096-1100.
- Maciel, K. T., Carvalho, R. M., Ringle, R. D., Preston, C. D., Russell, C. M., and Pashley, D. H. (1996). The effects of acetone, ethanol, HEMA, and air on the stiffness of human decalcified dentin matrix. *Journal of Dental Research*, 75(11), 1851-1858.

- Magni, E. (2011) A study into the application of gaseous ozone combined with different adhesive procedures. Doktora Tezi, zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München
- Magni, E., Ferrari, M., Hickel, R., Huth, K. C., and Ilie, N. (2008). Effect of ozone gas application on the mechanical properties of dental adhesives bonded to dentin. *Dental Materials*, 24(10), 1428-1434.
- Magni, E., Ferrari, M., Polimeni, A., Hickel, R., and Ilie, N. (2011) Bonding to ozone-treated dentin: a CLSM investigation *Journal of Adhesive Dentistry*, 1, 44-45.
- Malacarne, J., Carvalho, R. M., Mario, F., Svizero, N., Pashley, D. H., Tay, F. R., and de Oliveira Carrilho, M. R. (2006). Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dental Materials*, 22(10), 973-980.
- Manso, A. P., Marquezini Jr, L., Silva, S. M., Pashley, D. H., Tay, F. R., and Carvalho, R. M. (2008). Stability of wet versus dry bonding with different solvent-based adhesives. *Dental Materials*, 24(4), 476-482.
- Manuja, N., Nagpal, R., and Pandit, I. K. (2012). Dental adhesion: mechanism, techniques and durability. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 36(3), 223-234.
- Marchesi, G., Frassetto, A., Mazzoni, A., Apolonio, F., Diolosa, M., Cadenaro, M., and Breschi, L. (2014). Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. *Journal of Dentistry*, 42(5), 603-612.
- Marchesi, G., Frassetto, A., Visintini, E., Diolosa, M., Turco, G., Salgarello, S., and Breschi, L. (2013). Influence of ageing on self-etch adhesives: one-step vs. two-step systems. *European Journal of Oral Sciences*, 121(1), 43-49.
- Marchetti, C., Piacentini, C., and Menghini, P. (1992). Morphometric computerized analysis on the dentinal tubules and the collagen fibers in the dentine of human permanent teeth. *Bulletin du Groupement International pour la Recherche Scientifique en Stomatologie et Odontologie*, 35(3-4), 125-129.
- Marshall Jr, G. W., Chang, Y. J., Saeki, K., Gansky, S. A., and Marshall, S. J. (2000). Citric acid etching of cervical sclerotic dentin lesions: an AFM study. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 49(3), 338-344.
- Marshall, G. W., Yücel, N., Balooch, M., Kinney, J. H., Habelitz, S., and Marshall, S. J. (2001). Sodium hypochlorite alterations of dentin and dentin collagen. *Surface Science*, 491(3), 444-455.
- Masarwa, N., Mohamed, A., Abou-Rabii, I., Zaghlal, R. A., and Steier, L. (2016). Longevity of self-etch dentin bonding adhesives compared to etch-and-rinse dentin bonding adhesives: a systematic review. *Journal of Evidence Based Dental Practice*, 16(2), 96-106.
- Mazzoni, A., Angeloni, V., Apolonio, F. M., Scotti, N., Tjäderhane, L., Tezvergil-Mutluay, A., and Breschi, L. (2013). Effect of carbodiimide (EDC) on the bond stability of etch-and-rinse adhesive systems. *Dental Materials*, 29(10), 1040-1047.

- Mazzoni, A., Apolonio, F. M., Saboia, V. P. A., Santi, S., Angeloni, V., Checchi, V., ... & Breschi, L. (2014). Carbodiimide inactivation of MMPs and effect on dentin bonding. *Journal of Dental Research*, 93(3), 263-268.
- Mazzoni, A., Nascimento, F. D., Carrilho, M., Tersariol, I., Papa, V., Tjäderhane, L., ... & Breschi, L. (2012). MMP activity in the hybrid layer detected with in situ zymography. *Journal of Dental Research*, 91(5), 467-472.
- Mazzoni, A., Papa, V., Nato, F., Carrilho, M., Tjäderhane, L., Ruggeri Jr, A., and Breschi, L. (2011). Immunohistochemical and biochemical assay of MMP-3 in human dentine. *Journal of Dentistry*, 39(3), 231-237.
- Mazzoni, A., Pashley, D. H., Nishitani, Y., Breschi, L., Mannello, F., Tjäderhane, L., and Tay, F. R. (2006). Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials*, 27(25), 4470-4476.
- Mazzoni, A., Scaffa, P., Carrilho, M., Tjäderhane, L., Di Lenarda, R., Polimeni, A., and Breschi, L. (2013). Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin MMP-2 and MMP-9. *Journal of dental research*, 92(1), 82-86.
- Mazzoni, A., Tjäderhane, L., Checchi, V., Di Lenarda, R., Salo, T., Tay, F. R., and Breschi, L. (2015). Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *Journal of Dental Research*, 94(2), 241-251.
- Mjör, I.A. (2001). Pulp-dentin Biology in Restorative Dentistry. Mjör IA. Part 2 Initial reactions to preparation of teeth for restorative procedures. *Quintessence International*, 32(7), 537-551
- Morresi, A. L., D'Amario, M., Capogreco, M., Gatto, R., Marzo, G., D'Arcangelo, C., and Monaco, A. (2014). Thermal cycling for restorative materials: does a standardized protocol exist in laboratory testing? A literature review. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 29, 295-308.
- Moszner, N., Salz, U., & Zimmermann, J. (2005). Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. *Dental Materials*, 21(10), 895-910.
- Mountouris, G., Silikas, N., and Eliades, G. (2004). Effect of sodium hypochlorite treatment on the molecular composition and morphology of human coronal dentin. *Journal of Adhesive Dentistry*, 6(3), 175-182.
- Muniz, M., Quioca, J., Dolci, G. S., Reis, A., & Loguercio, A. D. (2005). Bonded amalgam restorations: microleakage and tensile bond strength evaluation. *Operative Dentistry*, 30(2), 228-233.
- Müller, P., Guggenheim, B., & Schmidlin, P. R. (2007). Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *European journal of oral sciences*, 115(1), 77-80.
- Nagaoka, H., Nagaoka, H., Walter, R., Boushell, L. W., Miguez, P. A., Burton, A., and Yamauchi, M. (2014). Characterization of genipin-modified dentin collagen. *BioMed research international*, 2014.

- Nagpal, R., Tewari, S., and Gupta, R. (2007). Effect of various surface treatments on the microleakage and ultrastructure of resin-tooth interface. *Operative dentistry*, 32(1), 16-23.
- Nakabayashi, N. (1992). The hybrid layer: a resin-dentin composite. *Proceedings of the Finnish Dental Society*, 88(1), 321-329.
- Nakabayashi, N., and Takarada, K. (1992). Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dental Materials*, 8(2), 125-130.
- Nascimento, F. D., Minciotti, C. L., Geraldini, S., Carrilho, M. R., Pashley, D. H., Tay, F. R., and Tersariol, I. L. S. (2011). Cysteine cathepsins in human carious dentin. *Journal of Dental Research*, 90(4), 506-511.
- Nikaido, T., Takano, Y., Sasafuchi Y., Burrow M.F., and Tagami, J. (1999). Bond strengths to endodontically-treated teeth. *Welcome to the American Journal of Dentistry*, 12, 177-180.
- Nima, G., Cavalli, V., Bacelar-Sá, R., Ambrosano, G. M., and Giannini, M. (2020). Effects of sodium hypochlorite as dentin deproteinizing agent and aging media on bond strength of two conventional adhesives. *Microscopy research and technique*, 83(2), 186-195.
- Nishitani, Y., Yoshiyama, M., Donnelly, A. M., Agee, K. A., Sword, J., Tay, F. R., and Pashley, D. H. (2006). Effects of resin hydrophilicity on dentin bond strength. *Journal of Dental Research*, 85(11), 1016-1021.
- Nunes, M. F., Swift, E. J., and Perdigao, J. (2001). Effects of adhesive composition on microtensile bond strength to human dentin. *American Journal of Dentistry*, 14(6), 340-343.
- Ortiz-Ruiz, A. J., de Dios Teruel-Fernández, J., Alcolea-Rubio, L. A., Hernández-Fernández, A., Martínez-Beneyto, Y., and Gispert-Guirado, F. (2018). Structural differences in enamel and dentin in human, bovine, porcine, and ovine teeth. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 218, 7-17.
- Osorio, R., Ceballos, L., Tay, F., Cabrerizo-Vilchez, M.A. and Toledano, M. (2002). Effect of sodium hypochlorite on dentin bonding with a polyalkenoic acid-containing adhesive system. *The Journal of Biomedical Materials Research*, 60(2) 316-324.
- Oyarzún, A., Rathkamp, H., and Dreyer, E. (2000). Immunohistochemical and ultrastructural evaluation of the effects of phosphoric acid etching on dentin proteoglycans. *European Journal of Oral Sciences*, 108(6), 546-554.
- Örtengren, U., Andersson, F., Elgh, U., Terselius, B., and Karlsson, S. (2001). Influence of pH and storage time on the sorption and solubility behaviour of three composite resin materials. *Journal of Dentistry*, 29(1), 35-41.
- Özcan, M., and Mese, A. (2012). Adhesion of conventional and simplified resin-based luting cements to superficial and deep dentin. *Clinical Oral Investigations*, 16(4), 1081-1088.

- Özkul, S., Küçükeşmen, Ç. 2012. Adezivler: Genel ilkeler ve tekniğin son durumu. General principles and the state of art. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(3), 164-168.
- Öztürk, F., Ersöz, M., Öztürk, S.A., Hatunoğlu, E. ve Malkoç, S. (2016). Micro-CT evaluation of microleakage under orthodontic ceramic brackets bonded with different bonding techniques and adhesives. *European Journal of Orthodontics*, 38, 163-169.
- Özyöney, G. (2008). Aşırı madde kayıplı dişlerde IPS empress II onley restorasyonların klinik ve in vitro şartlarda incelenmesi. Doktora Tezi, Muğla Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı, İstanbul.
- Park, J. S., Kim, K. H., Kwon, G. J., Lukanin, A., Khasanov, O., Kim, Y. S., and Lee, J. S. (2001, June). Development of small and efficient ozone generators using corona discharge. In *5th Korea-Russia International Symposium on Science and Technology. Proceedings. KORUS 2001 (Cat. No. 01EX478)* (Vol. 1, pp. 282-284)..
- Pashley, D. H., Agee, K. A., Wataha, J. C., Rueggeberg, F., Ceballos, L., Itou, K., and Tay, F. R. (2003). Viscoelastic properties of demineralized dentin matrix. *Dental Materials*, 19(8), 700-706.
- Pashley, D. H., Carvalho, R. M., Sano, H., Nakajima, M., Yoshiyama, M., Shono, Y., and Tay, F. (1999). The microtensile bond test: A review. *Journal of Adhesive Dentistry*, 1(4), 299-309.
- Pashley, D. H., Sano, H., Ciucchi, B., Yoshiyama, M., and Carvalho, R. M. (1995). Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dental Materials*, 11(2), 117-125.
- Pashley, D. H., Tay, F. R., Yiu, C. K. Y., Hashimoto, M., Breschi, L., Carvalho, R., & Ito, S. (2004). Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of dental research*, 83(3), 216-221.
- Pashley, D., H., Tay, F., R., Breschi, L., Tjäderhane, L., Carvalho, R., M., Carrilho, M., Tezvergil-Mutluay, A. (2011). State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dental Materials*, 27(1), 1-16.
- Paula J. and Josimeri H. (2005). Effect of dentin conditioners on the microtensile bond strength of a conventional and a self-etching primer adhesive system. *Journal of Dental Materials*, 21, 103-109.
- Pavan, R., Jain, S., & Kumar, A. (2012). Properties and therapeutic application of bromelain: a review. *Biotechnology research international*, 2012. 976203. doi: 10.1155/2012/976203.
- Pegado, R. E. F., do Amaral, F. L. B., Flório, F. M., and Basting, R. T. (2010). Effect of different bonding strategies on adhesion to deep and superficial permanent dentin. *European Journal of Dentistry*, 4(2), 110.
- Perdigao J. Dentin bonding – variables related to the clinical situation and the substrate treatment – analyzing bond strength test methods, variables and outcomes. Relationship between bond strength tests and clinical outcomes. Academy of Dental Materials Annual Meeting- Portland, Oregon, USA; October 29-31, 2009

- Perdigão, J. 2007. New developments in dental adhesion. *Dental Clinics of North America*, 51(2), 333-357.
- Perdigao, J., Lambrechts, P., and Vanherle, G. (2000). Microscopy investigations: techniques, results, limitations. *Am. J. Dent*, 13, 3D18D.
- Perdigão, J., Baratieri, L. N., and Arcari, G. M. (2004). Contemporary trends and techniques in tooth whitening: a review. *Practical Procedures and Aesthetic Dentistry*, 16(3), 185-210.
- Perdigão, J., Lopes, L., Lambrechts, P., Leitão, J., Van Meerbeek, B., and Vanherle, G. (1997). Effects of a self-etching primer on enamel shear bond strengths and SEM morphology. *American Journal of Dentistry*, 10(3), 141-146.
- Perdigao, J., May, K., N., Wilder, A., D., and Lopes, M. (2000). The effect of depth of dentin demineralization on bond strengths and morphology of the hybrid layer. *Operative Dentistry*, 25(3), 186-194.
- Peumans, M., De Munck, J., Van Landuyt, K., Lambrechts, P., & Van Meerbeek, B. (2007). Five-year clinical effectiveness of a two-step self-etching adhesive. *Journal of Adhesive Dentistry*, 9(1).
- Phansalkar, R. S., Nam, J. W., Chen, S. N., McAlpine, J. B., Napolitano, J. G., Leme, A., Pauli, G. F. (2015). A galloylated dimeric proanthocyanidin from grape seed exhibits dentin biomodification potential. *Fitoterapia*, 101, 169-178.
- Phrukkanon, S., Burrow, M. F. and Tyas, M. J. (1998). Effect of cross sectional surface area on bond strengths between resin and dentin. *Dental Materials*, 14, 120–128.
- Pick, R. M. (1993). Using lasers In clinical denial practice. *The Journal of the American Dental Association*, 124(2), 37-47.
- Pimenta, L. A., Amaral, C. M., Bedran de Castro, A. K., and Ritter, A. V. (2004). Stability of dentin bond strengths using different bonding techniques after 12 months: total-etch, deproteinization and self-etching. *Operative dentistry*, 29(5), 592-598.
- Pinto, C. F., Berger, S. B., Cavalli, V., Bedran-Russo, A. K., and Giannini, M. (2015). Influence of chemical and natural cross-linkers on dentin bond strength of self-etching adhesives. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 60, 117-122.
- Pioch, T., Staehle, H.J., Duschner, H., and García-Godoy, F. (2001). Nanoleakage at the composite dentin interface: A review. *American Journal of Dentistry*, 14(4), 252-258.
- Prabhakar, A.R., Kumar, R.S., and Prahlad, D. (2019). Effect of ozonated water on dentin bond strength 2019 *International Journal of Oral Health Sciences*, 9(1), 9-14.
- Price, R. B., and Hall, G. C. (1999). In vitro comparison of 10-minute versus 24-hour shear bond strengths of six dentin bonding systems. *Quintessence International*, 30(2), 122-134.

- Price, R. B., Dérand, T., Andreou, P., and Murphy, D. (2003). The effect of two configuration factors, time, and thermal cycling on resin to dentin bond strengths. *Biomaterials*, 24(6), 1013-1021.
- Proença, J. P., Polido, M., Osorio, E., Erhardt, M. C. G., Aguilera, F. S., García-Godoy, F., and Toledano, M. (2007). Dentin regional bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems. *dental materials*, 23(12), 1542-1548.
- Pucci, C. R., Barbosa, N. R., Bresciani, E., Yui, K. C., Huhtala, M. F. R., Barcellos, D. C., and Torres, C. R. (2016). Influence of dentin Deproteinization on bonding degradation: 1-year results. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 17(12), 985–989.
- Raskin, A., D'Hoore, W., Gonthier, S., Degrange, M., and Déjou, J. (2001). Reliability of in vitro microleakage tests: A literature review. *Journal of Adhesive Dentistry*, 3(4), 295-308
- Rathnavelu, V., Alitheen, N. B., Sohila, S., Kanagesan, S., and Ramesh, R. (2016). Potential role of bromelain in clinical and therapeutic applications. *Biomedical Reports*, 5(3), 283-288.
- Ravishanker, P., and Chaitanya, K. (2012). In vitro evaluation of the effect of deproteinization on the marginal leakage of resin restorations using three bonding agents. *Dental Research Journal*, 9(4), 452-459.
- Reddy, S., Reddy, N., Dinapadu, S., Reddy, M., and Pasari, S. (2013). Role of ozone therapy in minimal intervention dentistry and endodontics-a review. *Journal of international oral health: JIOH*, 5(3), 102.
- Reis, A. F., Oliveira, M. T., Giannini, M., De Goes, M. F., and Rueggeberg, F. A. (2003). The effect of organic solvents on one-bottle adhesives' bond strength to enamel and dentin. *Operative Dentistry*, 28(6), 700-706.
- Retief, D. H., Mandras, R. S., Russell, C. M., and Denys, F. R. (1990). Extracted human versus bovine teeth in laboratory studies. *American Journal of Dentistry*, 3(6), 253-258.
- Ribeiro, J. C. R., Gomes, P. N., Moysés, M. R., Dias, S. C., Pereira, L. J., and Ribeiro, J. G. R. (2008). Shear strength evaluation of composite–composite resin associations. *Journal of Dentistry*, 36(5), 326-330.
- Ribeiro, J. C. R., Gomes, P. N., Moysés, M. R., Dias, S. C., Pereira, L. J., and Ribeiro, J. G. R. (2008). Shear strength evaluation of composite–composite resin associations. *Journal of Dentistry*, 36(5), 326-330.
- Ritter, A. V., Bertoli, C., and Swift Jr, E. J. (2001). Dentin bond strengths as a function of solvent and glutaraldehyde content. *American Journal of Dentistry*, 14(4), 221-226.
- Roberson TM, Heymann HO, Swift EJ Jr. (2006). Sturdevant's Art and science of operative dentistry. Fifth Edition. St. Louis, Missouri, Elsevier Mosby, Chapter 3,4,5,11

- Rodrigues, P. C. F., Souza, J. B. D., Soares, C. J., Lopes, L. G., and Estrela, C. (2011). Effect of ozone application on the resin-dentin microtensile bond strength. *Operative Dentistry*, 36(5):537-44.
- Rodrigues, P. C. F., Souza, J. B. D., Soares, C. J., Lopes, L. G., and Estrela, C. (2011). Effect of ozone application on the resin-dentin microtensile bond strength. *Operative Dentistry*, 36(5), 537-44.
- Roeder, L., Pereira, P. N. R., Yamamoto, T., Ilie, N., Armstrong, S., and Ferracane, J. (2011). Spotlight on bond strength testing—Unraveling the complexities. *Dental Materials*, 27(12), 1197-1203.
- Rueggeberg, F.A., and Margeson, D.H. (1990) The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. *Journal of Dentistry Research*, 69(10), 1652-1658.
- Sabatini, C., Scheffel, D. L., Scheffel, R. H., Agee, K. A., Rouch, K., Takahashi, M., and Pashley, D. H. (2014). Inhibition of endogenous human dentin MMPs by Gluma. *Dental Materials*, 30(7), 752-758.
- Saboia, V. P. A., Nato, F., Mazzoni, A., Orsini, G., Putignano, A., Giannini, M., and Breschi, L. (2008). Adhesion of a two-step etch-and rinse adhesive on collagen-depleted dentin. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 10(6), 419-422.
- Saboia, V. P., Silva, F. C., Nato, F., Mazzoni, A., Cadenaro, M., Mazzotti, G., and Breschi, L. (2009). Analysis of differential artificial ageing of the adhesive interface produced by a two-step etch-and-rinse adhesive. *European Journal of Oral Sciences*, 117(5), 618-624.
- Saboiva, V.P., RodriguesA.L. and Pimenta L.A. (2000). Effect of collagen removal on shear bond strength of two single-bottle adhesive systems. *Journal of Operative Dentistry*, 25(5), 395-400.
- Salomão, P. M. A., Oliveira, F. A. D., Rodrigues, P. D., Al-Ahj, L. P., Gasque, K., Jeggle, P., and Magalhães, A. C. (2017). The cytotoxic effect of TiF4 and NaF on fibroblasts is influenced by the experimental model, fluoride concentration and exposure time. *PLoS One*, 12(6), 179-196.
- Salz, U., and Bock, T. (2010). Testing adhesion of direct restoratives to dental hard tissue-a review. *Journal of Adhesive Dentistry*, 12(5), 343-371.
- Sano, H. (2006). Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. *Journal of Dental Research*, 85(1),11–14.
- Sano, H., Shono, T., Sonoda, H., Takatsu, T., Ciucchi, B., Carvalho, R., & Pashley, D. H. (1994). Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength—evaluation of a micro-tensile bond test. *Dental Materials*, 10(4), 236-240.
- Sano, H., Yoshiyama, M., Ebisu, S., Burrow, M. F., Takatsu, T., Ciucchi, B., ... & Pashley, D. H. (1995). Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Operative Dentistry*, 20(4), 160-167.

- Santos, M. C. L. G., De Souza, A. P., Gerlach, R. F., Trevilatto, P. C., Scarel-Caminaga, R. M., and Line, S. R. P. (2004). Inhibition of human pulpal gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by zinc oxide cements. *Journal of Oral Rehabilitation*, 31(7), 660-664.
- Sauro, S., Mannocci, F., Tay, F. R., Pashley, D. H., Cook, R., Carpenter, G. H., and Watson, T. F. (2009). Deproteinization effects of NaOCl on acid-etched dentin in clinically-relevant vs prolonged periods of application. A confocal and environmental scanning Electron microscopy study. *Operative Dentistry*, 34(2), 166-173. <https://doi.org/10.2341/08-56>
- Sauro, S., Mannocci, F., Toledano, M., Osorio, R., Pashley, D. H., and Watson, T. F. (2009). EDTA or H3PO4/NaOCl dentine treatments may increase hybrid layers' resistance to degradation: a microtensile bond strength and confocal-micropermeability study. *Journal of Dentistry*, 37(4), 279-288.
- Sauro, S., Mannocci, F., Toledano, M., Osorio, R., Pashley, D. H., & Watson, T. F. (2009). EDTA or H3PO4/NaOCl dentine treatments may increase hybrid layers' resistance to degradation: a microtensile bond strength and confocal-micropermeability study. *Journal of Dentistry*, 37(4), 279-288.
- Sayin, T. C., Serper, A., Cehreli, Z. C., & Otlu, H. G. (2007). The effect of EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl with and without subsequent NaOCl treatment on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 104(3), 418-424.
- Scaffa, P. M. C., Vidal, C. M. P., Barros, N., Gesteira, T. F., Carmona, A. K., Breschi, L., and Carrilho, M. R. (2012). Chlorhexidine inhibits the activity of dental cysteine cathepsins. *Journal of Dental Research*, 91(4), 420-425.
- Scheffel, D. L., Hebling, J., Scheffel, R. H., Agee, K. A., Cadenaro, M., Turco, G., and Pashley, D. H. (2014). Stabilization of dentin matrix after cross-linking treatments, in vitro. *Dental Materials*, 30(2), 227-233.
- Schmidlin, P. R., Zimmermann, J., & Bindl, A. (2005). Effect of ozone on enamel and dentin bond strength. *Journal of Adhesive Dentistry*, 7(1), 29-32.
- Seballos, V. G., Barreto, M. S., Rosa, R. A. D., Machado, E., Valandro, L. F., & Kaizer, O. B. (2018). Effect of post-space irrigation with NaOCl and CaOCl at different concentrations on the bond strength of posts cemented with a self-adhesive resin cement. *Brazilian Dental Journal*, 29(5), 446-451.
- Sharafeddin, F. (2019). Comparison of Bromelain Enzyme, Sodium Hypochlorite, and Titanium Tetrafluoride on Shear Bond Strength of Restorative Composite to Dentin: An in vitro Study. *Journal of Dentistry*, 20(4), 264.
- Sharafeddin, F., Koohpeima, F., and Razazan, N. (2017). The effect of titanium tetrafluoride and sodium hypochlorite on the shear bond strength of methacrylate and silorane based composite resins: an in-vitro study. *Journal of Dentistry*, 1, 82-87
- Shimada, Y., Ichinose, S., Sadr, A., Burrow, M. F., and Tagami, J. (2009). Localization of matrix metalloproteinases (MMPs-2, 8, 9 and 20) in normal and carious dentine. *Australian Dental Journal*, 54(4), 347-354.

- Shinohara, M. S., Bedran-de-Castro, A. K. B., Amaral, C. M., and Pimenta, L. A. F. (2004). The effect of sodium hypochlorite on microleakage of composite resin restorations using three adhesive systems. *Journal of Adhesive Dentistry*, 6, 123-127.
- Shinohara, M. S., Peris, A. R., Pimenta, L. A. F., and Ambrosano, G. M. B. (2005). Shear bond strength evaluation of composite resin on enamel and dentin after nonvital bleaching. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 17(1), 22-29.
- Silva, A., Goncalves, R. S., Borges, A. F. S., Bedran-Russo, A. K., and Shinohara, M. S. (2015). Effectiveness of plant-derived proanthocyanidins on demineralization on enamel and dentin under artificial cariogenic challenge. *Journal of Applied Oral Science*, 23(3), 302-309.
- Silva, E. M., Duarte, P. B. P. G., Poskus, L. T., Barcellos, A. A. L., & Guimar~aes, J. G. A. (2007). Nanoleakage and microshear bond strength in deproteinized human dentin. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 81B(2), 336-342.
- Silva, G. O., Barcellos, D. C., Pucci, C. R., Borges, A. B., and Torres, C. R. G. (2009). Longitudinal bond strength evaluation using the deproteinized dentin technique. *General Dentistry*, 57(4), 328–333.
- Silva, G. O., Barcellos, D. C., Pucci, C. R., Borges, A. B., and Torres, C. R. (2009). Longitudinal bond strength evaluation using the deproteinized dentin technique. *General Dentistry*, 57(4), 328-33.
- Silverstone, L. M. (1974). Fissure sealants. *Caries Research*, 8(1), 2-26.
- Silverstone, L. M., Saxton, C. A., Dogon, I. L., and Fejerskov, O. (1975). Variation in the pattern of acid etching of human dental enamel examined by scanning electron microscopy. *Caries Research*, 9(5), 373-387.
- Simmer, F. S., da Silva, E. M., Bezerra, R. D. S. G., Gomes, M. E. D. S. N., Noronha Filho, J. D., & Amaral, C. M. (2019). Bond stability of conventional adhesive system with MMP inhibitors to superficial and deep dentin. *Journal of the Mechanical Behavior Of Biomedical Materials*, 100, 103402.
- Siqueira, F. S. F., Cardenas, A. F. M., Gomes, G. M., Chibinski, A. C., Gomes, O. M. M., Bandeca, M. C., and Gomes, J. C. (2018). Three-year effects of deproteinization on the in vitro durability of resin/dentin-eroded interfaces. *Operative Dentistry*, 43(1), 60-70.
- Sirisha, K., Rambabu, T., Ravishankar, Y. and Ravikumar, P. (2014). Validity of bond strength tests: A critical review-Part II. *Journal of Conservative Dentistry*, 17(5), 420-426.
- Soares, C.J., Santana, F.R., Castro, C.G., Santos-Filho, P.C., Soares, P.V., Qian, F. and Armstrong, S.R. (2008). Finite element analysis and bond strength of a glass post to intraradicular dentin: Comparison between microtensile and pushout tests. *Dental Materials*, 24, 1405–1411

- Soderholm, K. J., Mukherjee, R., & Longmate, J. (1996). Filler leachability of composites stored in distilled water or artificial saliva. *Journal of Dental Research*, 75(9), 1692-1699.
- Songür, E. (2013). *Enfekte Süt Kök Kanallarında Yer Alan Seçilmiş Odontopatojenik Mikroorganizmalara Karşı Ozonun Etkinliğinin İn Vitro ve İn Vivo Koşullarda Değerlendirilmesi*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Sousa, A. B. S., Vidal, C. M., Leme-Kraus, A. A., Pires-de-Souza, F. C., & Bedran-Russo, A. K. (2016). Experimental primers containing synthetic and natural compounds reduce enzymatic activity at the dentin–adhesive interface under cyclic loading. *Dental Materials*, 32(10), 1248-1255.
- Sowmya Shetty, M. B., and Sureshchandra, B. (2008). Dentine deproteinization and microleakage around gingival third resin restorations. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*, 11(1), 11.
- Spierings, T. A., Peters, M. C. R. B., Bosman, F., & Plasschaert, A. J. M. (1987). Verification of theoretical modeling of heat transmission in teeth by in vivo experiments. *Journal of dental research*, 66(8), 1336-1339.
- Stanislawczuk, R., Costa, J.A., Polli, L.G., Reis, A., and Loguercio, A.D. (2011). Effect of tetracycline on the bond performance of etch-and-rinse adhesives to dentin. *Brazilian Oral Research*. 25(5),459-465.
- Steiner, M., Mitsias, M. E., Ludwig, K., and Kern, M. (2009). In vitro evaluation of a mechanical testing chewing simulator. *Dental Materials*, 25(4), 494-499.
- Stout, J., Yu, V. L., Vickers, R. M., Zuravleff, J., Best, M., Brown, A., and Wadowsky, R. (1982). Ubiquitousness of *Legionella pneumophila* in the water supply of a hospital with endemic Legionnaires' disease. *New England Journal of Medicine*, 306(8), 466-468.
- Strobel, S., and Hellwig, E. (2015). The effects of matrix-metalloproteinases and chlorhexidine on the adhesive bond ; A literature review. *Swiss Dental Journal* ,125(2), 134–140.
- Stübinger, S., Sader, R., and Filippi, A. (2006). The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. *Quintessence International*, 37(5), 353-359
- Sudsangiam, S. and van Noort, R. (1999). Do dentin bond strength tests serve a useful purpose? *The Journal of Adhesive Dentistry*, 1, 57–67.
- Sudsangiam, S., and van Noort, R. (1999). Do dentin bond strength tests serve a useful purpose. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 1(1), 57-67.
- Suh, B.I. (2004). Oxygen-inhibited layer in adhesion dentistry. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 16(5) 316-323.

- Sulkala, M., Wahlgren, J., Larmas, M., Sorsa, T., Teronen, O., Salo, T., and Tjäderhane, L. (2001). The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *Journal of Dental Research*, 80(6), 1545-1549.
- Suppa, P., Breschi, L., Ruggeri, A., Mazzotti, G., Prati, C., Chersoni, S., and Tay, F. R. (2005). Nanoleakage within the hybrid layer: a correlative FEISEM/TEM investigation. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 73(1), 7-14.
- Swift, E. J. (2002). Dentin/enamel adhesives: review of the literature. *Pediatric Dentistry*, 24(5), 456-461.
- Swift, E.J Jr., Perdigão, J., Heymann, H., O. (1995). Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art. *Quintessence International*, 26(2), 95-110.
- Şengün, A., Öztürk, B., Ülker, M., Dişçioğlu, F., and Özer, F. (2005). Farklı sayıda termal siklus uygulamasının bir kompozit rezinin marjinal sızıntısı üzerine etkisi. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 22(3), 163-168.
- Takatsu, T., and Hosoda, H. (1994). Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Operative Dentistry*, 19, 59-64.
- Tantbirojn, D., Cheng, Y. S., Versluis, A., Hodges, J. S., and Douglas, W. H. (2000). Nominal shear or fracture mechanics in the assessment of composite-dentin adhesion?. *Journal of Dental Research*, 79(1), 41-48.
- Tao, L., Tagami, J., and Pashley, D. H. (1991). Pulpal pressure and bond strengths of SuperBond and Gluma. *American Journal of Dentistry*, 4(2), 73-76.
- Taştan, E. (2016). *Farklı Remineralizasyon Ajanlarının Lazer ve Ozon Tedavisi ile Kombine Kullanımının Başlangıç Çürüklerine Etkisinin İn-Vitro Olarak İncelenmesi*. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Tavarez, R. R. D. J., Almeida Júnior, L. J. dos S., Guará, T. C. G., Ribeiro, I. S., Maia Filho, E. M., and Firoozmand, L. M. (2017). Shear bond strength of different surface treatments in bulk fill, microhybrid, and nanoparticle repair resins. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, 9, 61-66.
- Tay, F. R., and Pashley, D. H. (2003). Have dentin adhesives become too hydrophilic?. *Journal-Canadian Dental Association*, 69(11), 726-732.
- Tay, F. R., and Pashley, D. H. (2003). Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *American Journal of Dentistry*, 16(1), 6-12.
- Tay, F. R., Hashimoto, M., Pashley, D. H., Peters, M. C., Lai, S. C. N., Yiu, C. K. Y., and Cheong, C. (2003). Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. *Journal of Dental Research*, 82(7), 537-541.

- Tay, F. R., King, N. M., Chan, K. M., and Pashley, D. H. (2002). How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously?. *Journal of Adhesive Dentistry*, 4(4), 255-269.
- Tay, F. R., Pashley, D. H., and Yoshiyama, M. (2002). Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *Journal of Dental Research*, 81(7), 472-476.
- Tay, F. R., Pashley, D. H., Suh, B. I., Carvalho, R. M., and Itthagarun, A. (2002). Single-step adhesives are permeable membranes. *Journal of Dentistry*, 30(7-8), 371-382.
- Taylor, M. J. and Lynch, E. (1992). Microleakage. *Journal of Dentistry*, 20, 3-10.
- Tekçe, N. (2013). İn vitro bağlanma dayanım testleri ile klinik çalışmalar arasındaki ilişki. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 34(2), 57-65.
- TEKÇE, N., DEMİRCİ, M., Tuncer, S., & TUNCER, S. (2013). Dentin bağlayıcı sistemlerin bağlanma dayanıklılığını değerlendirme yöntemleri. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 47(1), 73-91.
- Tezvergil-Mutluay, A., Agee, K. A., Hoshika, T., Uchiyama, T., Tjäderhane, L., Breschi, L., and Pashley, D. H. (2011). Inhibition of MMPs by alcohols. *Dental Materials*, 27(9), 926-933.
- Titely, K. C., Childers, S., and Kulkarni, G. (2006). An in vitro comparison of short and long term shear bond strengths of polyacid modified composite resins to primary human and bovine enamel and dentine. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 7(4), 246-252.
- Titely, K. C., Torneck, C. D., Ruse, N. D., & Krmec, D. (1993). Adhesion of a resin composite to bleached and unbleached human enamel. *Journal of Endodontics*, 19(3), 112-115.
- Tjäderhane, L., Nascimento, F. D., Breschi, L., Mazzoni, A., Tersariol, I. L., Geraldeli, S., and Pashley, D. H. (2013a). Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dental Materials*, 29(1), 116-135.
- Tjäderhane, L., Nascimento, F. D., Breschi, L., Mazzoni, A., Tersariol, I. L., Geraldeli, S., and Pashley, D. H. (2013b). Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer—a review. *Dental Materials*, 29(10), 999-1011.
- Toledano, M., Osorio, R., Osorio, E., Aguilera, F. S., Yamauti, M., Pashley, D. H., and Tay, F. (2007). Effect of bacterial collagenase on resin–dentin bonds degradation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(12), 2355-2361.
- Toledano, M., Perdiago, J., Osorio, E. and Osorio, R. (2005). Influence of NaOCl deproteinization on shear bond strength in function of dentin depth. *American Journal of Dentistry*, 15(4), 252-255.
- Toledano, M., Yamauti, M., Ruiz-Requena, M.E., and Osorio, R.A. (2012). ZnO-doped adhesive reduced collagen degradation favouring dentine remineralization. *Journal of Dentistry*. 40(9), 756-765.

- Torres, C. R. G., de Araújo, M. A. M., and de Mello Torres, A. C. (2004). Effects of dentin collagen removal on microleakage of bonded restorations. *Journal of Adhesive Dentistry*, 6(1), 33-42.
- Turco, G., Frassetto, A., Fontanive, L., Mazzoni, A., Cadenaro, M., Di Lenarda, R., and Breschi, L. (2016). Occlusal loading and cross-linking effects on dentin collagen degradation in physiological conditions. *Dental Materials*, 32(2), 192-199.
- Turkun, M., and Kaya, A.D. (2004). Effect of 10% sodium ascorbate on the shear bond strength of composite resin to bleached bovine enamel. *Journal of Oral Rehabilitation*, 31(12), 1184-1191.
- Van Landuyt, K. L., Snauwaert, J., De Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Poitevin, A., and Van Meerbeek, B. (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28(26), 3757-3785.
- Van Landuyt, K., De Munck, J., Coutinho, E., Peumans, M., Lambrechts, P., Van Meerbeek, B. (2005). Bonding to dentin: Smear layer and the process of hybridization. Dental hard tissues and bonding interfacial phenomena and related properties (Eliades G, Watts DC, Eliades T, ed). *Berlin: Springer*, 89-122.
- Van Meerbeek, B., De Munck, J., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M., Vijay, P., Van Landuyt, K., Lambrechts, P. and Vanherle, G. (2003). Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Operative Dentistry*, 28, 215–235.
- Van Meerbeek, B., Inoue, S., Perdiago, J., Lambrechts, P., and Vanherle, G. (2001). *Enamel and dentin adhesion. Fundamentals of operative dentistry* (Summitt JB, Robbins JW, Schwartz, RS , ed). Second edition . Carol Stream, *Quintessence International* 178-235.
- Van Meerbeek, B., Peumans, M., Poitevin, A., Mine, A., Van Ende, A., Neves, A., & De Munck, J. (2010). Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dental Materials*, 26(2), e100-e121.
- Van Meerbeek, B., Peumans, M., Poitevin, A., Mine, A., Van Ende, A., Neves, A., & De Munck, J. (2010). Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dental Materials*, 26(2), e100–e121.
- Van Strijp, A. J. P., Jansen, D. C., DeGroot, J., Ten Cate, J. M., and Everts, V. (2003). Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. *Caries Research*, 37(1), 58-65.
- Van Strijp, A. J. P., Van Steenberghe, T. J. M., and Ten Cate, J. M. (1997). Bacterial colonization of mineralized and completely demineralized dentine in situ. *Caries research*, 31(4), 349-355.
- Versluis, A., Douglas, W. H., and Sakaguchi, R. L. (1996). Thermal expansion coefficient of dental composites measured with strain gauges. *Dental materials*, 12(5-6), 290-294.
- Versluis, A., Tantbirojn, D., and Douglas, W. H. (1997). Why do shear bond tests pull out dentin?. *Journal of dental research*, 76(6), 1298-1307.

- Vidal, C. M. P., Tjäderhane, L., Scaffa, P. M., Tersariol, I. L., Pashley, D., Nader, H. B., and Carrilho, M. R. (2014). Abundance of MMPs and cysteine cathepsins in caries-affected dentin. *Journal of Dental Research*, 93(3), 269-274.
- Vidal, C. M., Aguiar, T. R., Phansalkar, R., McAlpine, J. B., Napolitano, J. G., Chen, S. N., and Bedran-Russo, A. (2014). Galloyl moieties enhance the dentin biomodification potential of plant-derived catechins. *Acta Biomaterialia*, 10(7), 3288-3294.
- Villela-Rosa, A. C. M., Gonçalves, M., Orsi, I. A., and Miani, P. K. (2011). Shear bond strength of self-etch and total-etch bonding systems at different dentin depths. *Brazilian Oral Research*, 25(2), 143-149.
- Visse, R., and Nagase, H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation Research*, 92(8), 827-839.
- Walter, R., Miguez, P. A., Arnold, R. R., Pereira, P. N. R., Duarte, W. R., and Yamauchi, M. (2008). Effects of natural cross-linkers on the stability of dentin collagen and the inhibition of root caries in vitro. *Caries Research*, 42(4), 263-268.
- Wang, T., Feng, X., Gao, Y., Wang, M., Wang, Y., Sa, Y., and Jiang, T. (2017). Effects of different concentrations and exposure time of sodium hypochlorite on the structural, compositional and mechanical properties of human dentin. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 37(4), 568-576.
- Wang, Y., Spencer, P., and Walker, M. P. (2007). Chemical profile of adhesive/caries-affected dentin interfaces using Raman microspectroscopy. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 81(2), 279-286.
- Watson, T. F., Azzopardi, A., Etman, M., Cheng, P. C., and Sidhu, S. K. (2000). Confocal and multi-photon microscopy of dental hard tissues and biomaterials. *American Journal of Dentistry*, 13(Spec No), 19D-24D.
- Watt, I. M. (1997). *The principles and practice of electron microscopy*. Cambridge University Press.
- Weston, C. H., Ito, S., Wadgaonkar, B., and Pashley, D. H. (2007). Effects of time and concentration of sodium ascorbate on reversal of NaOCl-induced reduction in bond strengths. *Journal of Endodontics*, 33(7), 879-881.
- Xie, B., Dickens, S. H., and Giuseppetti, A. A. (2002). Microtensile bond strength of thermally stressed composite-dentin bonds mediated by one-bottle adhesives. *American journal of dentistry*, 15(3), 177-184.
- Xiong, Y., Chen, J., Wang, H., and Zhang, L. (2006). Evaluation of shear bond strength and microleakage of deproteinized dentin bonded with three total-etch adhesive systems. *International Chinese Journal of Dentistry*, 6, 82-88.

- Xu, C., and Wang, Y. (2011). Cross-linked demineralized dentin maintains its mechanical stability when challenged by bacterial collagenase. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 96(2), 242-248.
- Yamazaki, P. C., Bedran-Russo, A. K. B., and Pereira, P. N. (2008). Importance of the hybrid layer on the bond strength of restorations subjected to cyclic loading. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 84(1), 291-297.
- Yassen, G.H, Platt, J.A., and Hara, A.T. (2011). Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *Journal of Oral Science*, 53(3), 273-282.
- Yiu, C. K. Y., Garcia-Godoy, F., Tay, F. R., Pashley, D. H., Imazato, S., King, N. M., and Lai, S. C. N. (2002). A nanoleakage perspective on bonding to oxidized dentin. *Journal of Dental Research*, 81(9), 628-632.
- Yoon, K. (2019). *Işıkla Sertleşen, Rezin- Modifiye Kalsiyum Silikat Dolduruculu Materyal Olan Therecal LC®' nin Kompozit Restorasyonlarda Mikrosızıntı ve Bağlanma Dayanıklılığına Etkisi*. Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı.
- Yoon, T. H., Lee, Y. K., Lim, B. S., and Kim, C. W. (2002). Degree of polymerization of resin composites by different light sources. *Journal of oral rehabilitation*, 29(12), 1165-1173.
- Yoshiyama, M., Carvalho, R., Sano, H., Horner, J., Brewer, P. D., and Pashley, D. H. (1995). Interfacial morphology and strength of bonds made to superficial versus deep dentin. *American Journal of Dentistry*, 8(6), 297-302.
- Zhang, K., Kim, Y. K., Cadenaro, M., Bryan, T. E., Sidow, S. J., Loushine, R. J., and Tay, F. R. (2010). Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. *Journal of Endodontics*, 36(1), 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.10.020>
- Zhang, L., Wang, D. Y., Fan, J., Li, F., Chen, Y. J., and Chen, J. H. (2014). Stability of bonds made to superficial vs. deep dentin, before and after thermocycling. *Dental Materials*, 30(11), 1245-1251.
- Zhang, Z., Beitzel, D., Majd, H., Mutluay, M., Tezvergil-Mutluay, A., Tay, F. R., and Arola, D. (2016). Effect of carbodiimide on the fatigue crack growth resistance of resin–dentin bonds. *Dental Materials*, 32(2), 211-222.
- Zhou, J.F., Chiba, A., Scheffel, D.L.S., Hebling, J., Agee, K., Tagami, J., Tan, J.Q., Abuelenain, D., Abu Nawareg, M., Hassan, A.H., Breschi, L., Tay, F.R., and Pashley, D.H. (2016). Cross-linked dry bonding: A new etch-and-rinse technique. *Dental Materials*, 32(9), 1124-1132.



EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 06/12/2018-E.45574



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



Sayı : 21071282-050.99-
Konu : Etik Kurulu Hk.

Sayın Doç. Dr. Didem ATABEK
Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna, etik açıdan değerlendirmek üzere göndermiş olduğunuz "Dentin Deproteinizasyonunda Ozon Gazı Kullanımının Rezin Dentin Bağlanma Dayanımı Üzerine Etkinliğinin Değerlendirilmesi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU
Kurul Başkanı

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

06/12/2018 Birim Evrak Sorumlusu

N. Cihan ÜNAY



Evrak Doğrulamak İçin: <https://belgedogrulama.gazi.edu.tr>
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Biskek Cad. No:4 kat 1 Emek/Ankara
Tel:0 (312) 203 40 00 Faks:0 (312) 223 92 26

Pin: 74481
Bilgi için :N. Cihan Ünay
Birim Evrak Sorumlusu
Telefon No:0312)203 40 07

Bu belge 5070 Sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Ek-1. (devam) Etik Kurul Onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Doç. Dr. Didem ATABEK tarafından gönderilen Dentin Deproteinizasyonunda Ozon Gazı Kullanımının Rezin Dentin Bağlarına Dayanımı Üzerine Etkinliğinin Değerlendirilmesi'' konulu çalışmanın kabulüne
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Bişkek Caddesi 82.Sokak No:4 E Blok Zemin Kat Çankaya ANKARA
	TELEFON	0312 203 41 38
	FAKS	0312 203 41 39
	E-POSTA	disetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Didem ATABEK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Gazi Üniv. Diş Hek. Fak. Çocuk Diş Hek. Ana. Bil. Dalı Bşk.			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ				
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☐		
	Diğer ise belirtiniz				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Nur MOLLAOĞLU
İmza:

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

Ek-1. (devam) Etik Kurul Onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Doç. Dr. Didem ATABEK tarafından gönderilen Dentin Deproteinizasyonunda Ozon Gazı Kullanımının Rezin Dentin Bağlanma Dayanımı Üzerine Etkinliğinin Değerlendirilmesi** konulu çalışmanın kabulüne
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
	DİĞER:	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: CÜDHKAEK.18.10/7	Tarih: 06.12.2018		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişki	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Tayfun ALAÇAM	Endodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU (Etik Kurul Başkanı)	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Hülya ERTEN	Restoratif Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Kahraman GÜNGÖR	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Burcu BALOŞ TUNCER	Ortodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Şebnem GÜLEN	Fizyoloji	Ufuk Ü. Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ	Pedodonti	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Orhan Mecit ULUDAĞ	Farmakoloji	Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☐	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Ferhan EĞİLMEZ (Bildirimlerden sorumlu)	Protetik Diş Tedavisi	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı: Nur MOLLAOĞLU

İmza:

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

Ek-1. (devam) Etik Kurul Onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Doç. Dr. Didem ATABEK tarafından gönderilen Dentin Deproteinizasyonunda Ozon Gazı Kullanımının Rezin Dentin Bağlanma Dayanımı Üzerine Etkinliğinin Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne							
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU									
Alan Üye)									
Doç. Dr. Burcu ÖZDEMİR (Etik kurul başkan yardımcısı)	Periodontoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Benay YILDIRIM	Oral Patoloji	Gazi Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☐	E ☐	H ☒	
Uzm. Dr. Hakan TÜZÜN	Halk Sağlığı	Sağlık Bakanlığı	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☒	H ☐	
Av. Efe AYAZ	Avukat	Serbest Avukat	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☒	
İlker YAVUZ	Fotoğraf Eğitmeni	-	E ☒	K ☐	E ☐	H ☐	E ☒	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Nur MOLLAOĞLU
İmza:

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

Ek-2. Hasta Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Çekilmiş olan dişinizin Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı'nda yürütülmekte olan ‘ Dentin Deproteinizasyonunda Ozon Gazı Kullanımının Rezin Dentin Bağlanma Dayanımı Üzerine Etkinliğinin Değerlendirilmesi’ konulu tez çalışmasında kullanılması amaçlanmaktadır. Bu çalışmada, çekim işleminizden sonra dişiniz *in vitro* olarak tasarlanan çalışmanın laboratuvar basamaklarında kullanılacaktır.

Çekilmiş dişimin bu çalışmada kullanılmasını kabul ediyorum. Çalışmanın amacı Dt. Nihan CEVLEK tarafından bana açıklanmıştır.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Telefon:

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı, soyadı: Dt. Nihan CEVLEK

Adres: Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı,
Emek, Çankaya / Ankara

Tel:

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : CEVLEK, Nihan
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi/Dış Hekimliği Fakültesi Çocuk Dış Hekimliği Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi/Dış Hekimliği Fakültesi	2013
Lise	Akşehir Anadolu Öğretmen Lisesi	2006

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Cevlek, N , Atabek, D . (2020). *Adeziv Sistemlerde Güncel Yaklaşımlar*. Turkish Journal of Clinics and Laboratory, 11 (3) , 193-202.

Cevlek N, Atabek, D. (2020). *Dental Sensitivity in Adult and Pediatric Patients*. Journal of Gazi University Health Sciences Institute; s.1-10.

Bilimsel Etkinlikler

23 th Uluslararası Türk Pedodonti Derneği Kongresi, 24- 28 Eylül, 2016, Kuşadası, Türkiye. TDB 24 th Uluslararası Dış hekimliği Kongresi, 27-30 Eylül, 2018, Ankara, Türkiye

Posterler

Cevlek, N., Yoon, K., Atabek, D., Çınar, Ç. (2018-27-30 Eylül). *Regenerative Endodontic Treatment for Immature Teeth: A Report of Two Cases*. 24th TDB Congress, Ankara, Türkiye.

Aktaş, N., Cevlek, N., Atabek, D. (2016-24-28 Eylül) *Mikroabrazyon ve Beyazlatma ile Hipoplazi Tedavisi: Bir Olgu Sunumu* 2 th TPD Congress, Kuşadası, Türkiye.





GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..