

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI**

**CARBODİİMİDE'İN UNİVERSAL ADEZİV SİSTEMLERİN
DENTİN BAĞLANMA DAYANIMI ÜZERİNE ETKİSİNİN
MİKROGERİLİM TEST YÖNTEMİYLE İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Ayşe Nur DOĞAN**

**Danışman
Doç. Dr. Soley ARSLAN**

Uzmanlık Tezi

**NİSAN 2019
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Ayşe Nur DOĞAN

İmza: 

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Carbodiimide’in Üniwersal Adeziv Sistemlerin Dentin Bağlanma Dayanımı Üzerine Etkisinin Mikrogerilim Test Yöntemiyle İncelenmesi” adlı **Uzmanlık Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan**Ayşe Nur DOĞAN****Danışman****Doç. Dr. Soley ARSLAN****Anabilim Dalı Başkanı****Doç. Dr. Soley ARSLAN**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Doç. Dr. Soley ARSLAN danışmanlığında Ayşe Nur DOĞAN tarafından hazırlanan “Carbodiimide’in Ünlversal Adeziv Sistemlerin Dentin Bağlanma Dayanımı Üzerine Etkisinin Mikrogerilim Test Yöntemiyle İncelenmesi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi **Restoratif Diş Tedavisi** Anabilim Dalı’nda **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

05/04 /2019

JÜRİ:

İmza

Danışman: Doç. Dr. Soley ARSLAN (Restoratif Diş Ted. A.D.)

Üye: Doç. Dr. Sezer DEMİRBUĞA (Restoratif Diş Ted. A.D.)

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Adem GÖK (Fırat Üni. Restoratif Diş Ted. A.D.)

ONAY:

Bu tezin kabulü Fakülte Anabilim Dalının 05.04.2019 tarih ve ...2..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...05... / 04... / 2019

Doç. Dr. Soley ARSLAN

Anabilim Dalı Başkanı

TEŞEKKÜR

Öğrenciliğim ve uzmanlık eğitimim boyunca ilgi, tecrübe ve bilgileri ile beni destekleyen, anlayış, hoşgörü ve şefkatini esirgemeyen, kişiliğine ve azmine hayran olup sonsuz saygı duyduğum değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Soley ARSLAN'a,

Öğrenciliğim ve uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, yardımını ve desteğini hep hissettiğim, tez çalışmamda büyük emekleri olan değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Kaşad PALA'ya,

Öğrenciliğim ve uzmanlık eğitimim boyunca bilgi, tecrübe ve deneyimlerini benimle paylaşan, varlığı ve desteğiyle bilimsel araştırmalar konusunda beni her zaman teşvik eden değerli hocam Sayın Doç. Dr. Sezer DEMİRBUĞA'ya,

Uzmanlık eğitimim süresince arkadaşlıkları ve destekleri ile her zaman yanımda olan asistan arkadaşlarıma, tüm Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı personeline,

Projemizi desteklediği için Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinatörlüğü'ne ve tez çalışmamdaki kimyasal karışımların hazırlanmasına katkılarından dolayı Fen Fakültesi Kimya Bölümü'ndeki Arş. Gör. Serkan DAYAN'a,

Her anımda yanımda olan, desteğini esirgemeyen, yoğun çalışmalarım süresince bana karşı gösterdiği sabır, anlayış ve sonsuz sevgisinden dolayı eşim Yunus Emre DOĞAN'a,

Hayatımın her anında desteklerini hissettiğim, sevgileriyle ve fedakârlıklarıyla bugüne gelmemi sağlayan canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

CARBODİİMİDE'İN ÜNİVERSAL ADEZİV SİSTEMLERİN DENTİN BAĞLANMA DAYANIMI ÜZERİNE ETKİSİNİN MİKROGERİLİM TEST YÖNTEMİYLE İNCELENMESİ

Ayşe Nur DOĞAN

Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi, Nisan 2019

Danışman: Doç. Dr. Soley ARSLAN

KISA ÖZET

Piyasadaki dentin adeziv sistemlerin sürekli gelişmesine kıyasla, hibrit tabakanın zayıf stabilitesi hala endişe vericidir ve endojen proteaz aktivitesiyle ilişkili olarak rezin/dentin ara yüzündeki kollajen matrisinin degradasyonu onların ömrünü olumsuz yönde etkileyen ana faktörlerden biridir. Bu in-vitro çalışmanın amacı, MMP inhibitörü olan Carbodiimide (1-etil-3-[3-dimetilaminopropil] carbodiimide) (EDC) adeziv uygulama öncesi dentin yüzey tedavisinde kullanıldığında universal adeziv sistemlerin dentine bağlanma dayanımı üzerine etkisinin mikrogerilim test yöntemiyle değerlendirilmesidir.

Çalışmada; 80 adet çürüksüz insan molar dişi kullanılmıştır. Standart dentin yüzeyleri elde edildikten sonra dişler rastgele 8 (n=10) gruba ayrılmıştır. Grupların yarısına 1M EDC ile adeziv uygulaması öncesi yüzey tedavisi yapılarak, Single Bond Universal ve Clearfil Universal Bond hem etch-and-rinse hem self-etch modunda kullanılarak uygulanmıştır. Örneklerin yarısı 24 saat distile suda, kalan yarısı 6 ay yapay tükürükte depolanmıştır. Örneklerden 1mm²'lik kesitler alındıktan sonra mikrogerilim bağlanma dayanımı testi yapılmıştır. Kopma yüzeyleri SEM (taramalı elektron mikroskobu) ile incelenerek kopma tipleri belirlenmiştir. Veriler, Shaperio-Wilk W, üç-yönlü ANOVA ve post hoc Tukey's testiyle analiz edilmiştir.

EDC solüsyonuyla yüzey tedavisi sonrası grupların erken ve geç dönem bağlanma dayanımları ve universal adezivlerin etch-and-rinse ve self-etch modunda kullanılmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmamıştır (p>0,05). Single Bond Universal'in kullanıldığı grupların hepsi Clearfil Universal Bond'un kullanıldığı gruplardan istatistiksel olarak daha fazla bağlanma dayanımı göstermiştir (p<0,05). EDC ile yüzey tedavisi yapılmış olan grupların 6 ay tükürükte depolama sonrası bağlanma dayanım değerlerinde daha az düşüş gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Carbodiimide (1-etil-3-[3-dimetilaminopropil] carbodiimide) (EDC), Matriksmetalloproteinaz (MMP), Üниверsal adeziv

**INVESTIGATION OF EFFECT OF CARBODIIMIDE ON BOND STRENGTH
OF ÜNİVERSAL ADHESIVE SYSTEMS TO DENTINE BY MICROTENSILE
TEST METHOD**

Ayşe Nur DOĞAN

**Erciyes University, Faculty of Dentistry
Department of Restorative Dentistry,
Dental Speciality Education Thesis, April 2019
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Soley ARSLAN**

ABSTRACT

Beside the gradual improvements in marketed dentin adhesive systems, the poor stability of the HT is still a matter of concern and the degradation of the collagen matrix at the resin/dentin interface related to the endogenous proteases activity is one of the key factors negatively affecting its longevity. The aim of this in-vitro study is to evaluate the effect of universal adhesive systems on dentin bond strength when used in the surface treatment of carbodiimide (1-ethyl-3- [3-dimethylaminopropyl] carbodiimide) (EDC), which is an MMP inhibitor.

In this study; 80 non-cariou human molar teeth were used. After obtaining the standard dentin surfaces the teeth were randomly divided into 8 (n = 10) groups. Half of the groups were treated with 1M EDC prior to adhesive application. Single Bond Universal and Clearfil Universal Bond were applied in both etch-and-rinse and self-etch mode. Half of the samples were stored in 24 hours in distilled water and the remaining half in artificial saliva for 6 months. Microtensile bond strength test was performed after 1 mm² sections were taken from the samples. Fracture surfaces were examined by SEM (scanning electron microscopy) and fracture types were determined. Data were analyzed by Shaperio Wilk W, three-way ANOVA and post hoc Tukey's test.

There was no statistically significant difference between the immediate and delayed bond strengths of the groups after surface treatment with EDC solution and the use of universal adhesives in etch-and-rinse and self-etch mode (p> 0.05). All of the groups using Single Bond Universal showed significantly higher bonding strength values than Clearfil Universal Bond (p <0.05). Bond strength values of groups that were treated with EDC were observed to be decreased less after 6 months in artificial saliva storage.

Keywords: Carbodiimide (1-ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl] carbodiimide) (EDC), Matrixmetalloproteinaz (MMP), Universal adhesive

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iiiv
KISA ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Dentin Organik Matriks Yapısı	3
2.1.1 Tip I Kollajen	4
2.1.2 Proteoglikanlar	5
2.1.3 Endojen Protezlar	8
2.1.3.1 MMP'ler	8
2.1.3.1.1 Ağız Ortamında MMp'ler.....	11
2.1.3.2 Sistein Katepsinleri.....	11
2.2 Dentin Biyomodifikasyonu	14
2.2.1 Carbodiimide (1-ethyl-3- [3-dimethylaminopropyl] carbodiimide) (EDC)	16
2.2.1.1 Çapraz Bağlama Mekanizması.....	16
2.2.1.2 MMPs İnhibisyon Mekanizması.....	17
2.2.1.3 EDC Sitotoksitesi.....	18
2.3 Adeziv Sistemler ve Dentine Adezyon Stratejileri.....	18

2.4 Rezin Degradasyonu	21
2.5 Adeziv Sistemlerde Enzim Aktivasyonu.....	23
2.6 Bağlanma Dayanıklılık Testleri	25
2.6.1 Mikrogerilim Bağlanma Dayanımı (μ GBD) Testi	26
2.7 Yüzey Görüntüleme Yöntemleri	26
2.7.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope- SEM)	26
3.GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1 Kullanılan Materyaller	28
3.2 Örnek Hazırlığı.....	29
3.3 Mikrogerilim Bağlanma Dayanımı (μ GBD) Testi.....	32
3.4 Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope-SEM) Analizi.....	34
3.5 İstatistiksel Analiz	34
4. BULGULAR.....	36
4.1 Sem Görüntüleri	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	555
6. KAYNAKLAR	65
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

E & R: etch-and-rinse tekniği

SE: self etch

UA: Üniversal adezivler

HT: Hibrit tabaka

EDC: Carbodimide (1-ethyl-3- [3-dimethylaminopropyl] carbodiimide) (EDC)

CHX: klorheksidin

EGCG: epigallocatechin-gallate

PA: proantosiyanidin

KT: Katepsin

MMP: matriks metalloproteinazlar

MMPI: MMP inhibitörü

10- MDP: 10-metakriloiloksidil dihidrojen fosfat

GAG: glikozaminoglikan

PG: proteoglikan

TIMP: Metallopeptidaz inhibitörü

TPO: etil 4-dimetilaminobenzoate ve difenil (2,4,6-trimetilbenzoil) -fosfin oksit

μ GBD: mikrogerilim bağlanma dayanım

HCl: hidroklorik asit

μ m: Mikrometre

sn: Saniye

%: Yüzde

ark: Arkadaşları

BIS-GMA: Bisfenol-A-Glisidil Dimetakrilat

HEMA: Hidrofilik hidroksietil metakrilat

PAC: polialkenoik asit kopolimeri

cm: Santimetre

ISO: International Standards Organisation (Uluslararası standartlar organizasyonu)

LED: Light emitting diode

mm: Milimetre

mm/dk: Milimetre/dakika

MPa: Megapaskal

N: Newton

p: Anlamlılık değeri

SEM: Scanning Electron Microscopy

°C: Santigrat derece

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Kullanılan materyaller ve içerikleri.....	28
Tablo 2. Yapay tükürük formülasyonu	32
Tablo 3. Yaşlandırma öncesi ve sonrası test gruplarının ortalama bağlanma dayanımı (MPa) \pm standart sapma değerleri, istatistiksel farkları ve yaşlandırma sonrası bağlanma dayanımındaki yüzdellik düşüş	36
Tablo 4. Adezivlerin ortalama bağlanma dayanımı (MPa) \pm standart sapma değerleri	37
Tablo 5. Grupların kopma tipleri	38



ŞEKİLLER LİSTESİ

Resim 1. Tip I Kollajen	4
Resim 2. Dentin organik matriks yapısı	6
Resim 3. % 35'lik fosforik asitle asitlenmiş dentinin FEISEM görüntüleri	7
Resim 4. FEISEM (alan emisyon lens taramalı elektron mikroskobu), T tübüller, ITD intertübüler dentin.....	10
Resim 5. İmmüno etiketleme prosedüründen sonra kısmen demineralize dentin FEISEM mikrografları. Etiketleme elektron ışınının altında elektron dens beyaz noktalar olarak tanımlanabilir (b ve d'deki oklar).	12
Resim 6. Dentin içinde sistein katepsinleri ve MMP'lerin olası aktivasyon mekanizmalarının ve işlevlerinin şematik sunumu. MMP'ler (kırmızı üçgenler) veya katepsinler (sarı ok uçları) yeşil bloklarla, enzimin ya bir proform olarak ya da spesifik (TIMP'ler, sistatinler) ya da spesifik olmayan (makroglobulin) inhibitörleri ile kompleks halinde inaktivasyonunu temsil eder. Proteinin aktivasyonunu (inhibitörün eliminasyonunu, latentten aktif forma dönüşümünü veya her ikisini birden) yeşil blokların uzaklaştırılması temsil eder. Dentin içerisindeki glikozaminoglikanlar (GAG'lar) enzim aktivitesini etkiler.....	13
Resim 7. a) E & R, b) self-etch adeziv sistem (HT'nın FEISEM mikrograf görüntüsü).....	19
Resim 8. Modern adeziv stratejiler	21
Resim 9. Kollejenin üç boyutlu şematik sunumu	24
Şekil 10. EDC	30
Şekil 11. Single Bond Universal.....	31
Şekil 12. Clearfil Universal Bond.....	31
Şekil 13. LED ışık cihazı	31
Şekil 14. Filtek Bulk Fill Posterior kompozit	32
Resim 15. Hazırlanan örnek	33
Resim 16. Örneklerden kesit alınması	33
Resim 17. Örnek yerleştirilmiş Üniversal Test Cihazı	34
Resim 18. Örneklerde oluşan kopma tiplerinin yüzdelik dağılımı	39

- Resim 19.** Clearfil Universal Bond E & R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....39
- Resim 20.** Clearfil Universal Bond E & R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....39
- Resim 21.** Clearfil Universal Bond E & R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....40
- Resim 22.** Clearfil Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....40
- Resim 23.** Clearfil Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....40
- Resim 24.** Clearfil Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....41
- Resim 25.** Clearfil Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....41
- Resim 26.** Clearfil Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....41
- Resim 27.** Clearfil Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....42
- Resim 28.** Clearfil Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....42
- Resim 29.** Clearfil Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....42
- Resim 30.** Clearfil Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....43

- Resim 31.** Single Bond Universal E&R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....43
- Resim 32.** Single Bond Universal Bond E&R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....43
- Resim 33.** Single Bond Universal Bond E&R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....44
- Resim 34.** Single Bond Universal SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....44
- Resim 35.** Single Bond Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....44
- Resim 36.** Single Bond Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....45
- Resim 37.** Single Bond Universal E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....45
- Resim 38.** Single Bond Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....45
- Resim 39.** Single Bond Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü46
- Resim 40.** Single Bond Universal SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....46
- Resim 41.** Single Bond Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....46
- Resim 42.** Single Bond Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....47

- Resim 43.** Clearfil Universal Bond E & R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....47
- Resim 44.** Clearfil Universal Bond E & R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....47
- Resim 45.** Clearfil Universal Bond E & R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....48
- Resim 46.** Clearfil Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....48
- Resim 47.** Clearfil Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....48
- Resim 48.** Clearfil Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....49
- Resim 49.** Clearfil Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....49
- Resim 50.** Clearfil Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....49
- Resim 51.** Clearfil Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü50
- Resim 52.** Clearfil Universal Bond SE EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....50
- Resim 53.** Clearfil Universal Bond SE EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....50
- Resim 54.** Clearfil Universal Bond SE EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....51

- Resim 55.** Single Bond Universal Bond E&R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....51
- Resim 56.** Single Bond Universal Bond E&R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....51
- Resim 57.** Single Bond Universal SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....52
- Resim 58.** Single Bond Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....52
- Resim 59.** Single Bond Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....52
- Resim 60.** Single Bond Universal E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....53
- Resim 61.** Single Bond Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....53
- Resim 62.** Single Bond Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü53
- Resim 63.** Single Bond Universal SE EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘adeziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....54
- Resim 64.** Single Bond Universal Bond SE EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘miks’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....54
- Resim 65.** Single Bond Universal Bond SE EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen ‘koheziv’ tip ayrılmanın x70 ve x1000’lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü54

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Adeziv sistemler konservatif diş hekimliğinde pek çok yönüyle devrim gerçekleştirici sistemler olarak düşünülebilir ve bu da önceden düşünülemez klinik manevraları mümkün kılar. Güncel adeziv sistemler, klinisyenlere immediat bağlanma kuvveti sağladıkları için retantif bir kaviteye ihtiyaç duymadan diş yapısına adezyonu sağlar. Rezin adeziv işlemlerinde iki farklı strateji şu anda kullanılmaktadır: “etch-and-rinse tekniği (E&R)” ve “self etch (SE)” tekniği. Şu anda, adeziv diş hekimliğinde, uygulama prosedürlerini ve klinik uygulama süresini kısaltarak bağlanma prosedürlerini basitleştirme eğiliminde devam eden bir trend mevcuttur. Bu yüzden, yeni bir adeziv sistem olan Üniwersal Adezivler (UA) oluşturulmuştur. Bu adezivler, E&R veya SE modunda ilave bir kimyasal bağlayıcı ajanla kullanılabilir.

Kullanılan adeziv stratejiden bağımsız olarak, dentin bağı, rezin matrisi ile takviye edilmiş demineralize kollajen fibrillerinden oluşan bir yapı olan "hibrit tabakanın" (HT) oluşumuna dayanır [1-3]. Adeziv prosedürlerin amacı, yıllar boyunca stabil kalacak, marjinal sızdırmazlık, retantif dayanım sağlayacak ve klinik olarak stabil olacak sıkı dentin adeziv arayüzü oluşturmaktır. Bununla birlikte, dental materyallerdeki ilerlemelere bakılmaksızın, değişken ve dinamik organik dentin fazında yaratılan hibrit tabaka mükemmel değildir ve zamanla bozulabilir [4-9]. Self-etch adezivlerdeki su konsantrasyonu [10], hibrit tabaka içindeki rezin monomerlerin yetersiz infiltrasyonu, aktive edilmiş endojen kollejenolitik enzimler tarafından ekspoz olmuş kollajenin preteolitik bozulması [11], hibrit tabaka ve suboptimal polimerizasyon içindeki faz ayrımı, bondlanmış ara yüzeyin yüksek geçirgenliği gibi rezin-dentin arayüzünün degradasyonuna sebep olan çeşitli faktörler tanımlanmıştır [12]. Hibrit tabaka oluşumu sırasında, demineralize kollajen tabakasının derinliği ve rezin infiltrasyonu arasındaki tutarsızlık, fonksiyon sonrası yorgunluk bozulmasına (fatigue breakdown) ve denatürasyona karşı daha az direnç gösteren hibrit tabakanın altındaki kollajen fibrillerin açığa çıkmasına ve erozyonuna yol açabilir. Bu açık kollajen fibrilleri arasındaki

boşluklarda bulunan su, aktive olmuş endojen ve ekzojen kollajenolitik ve jelatinolitik enzimler (matriks metalloproteinazlar (MMP) ve sistein katepsinleri) tarafından kollajenin hidrolizine sebep olabilir [13]. Hem E&R, hem de SE adezivler hafif asit içerirler, bu yüzden açığa çıkan kollajen fibrillerin hidrolitik bozunmasına yol açabilen dentine bağlanma sırasında endojen MMP'leri serbest bırakabilir ve aktive edebilirler [14]. Bu, yaşlı, bağlanmış dentinde eksik olarak infiltre olmuş hibrit tabakalardan kollajen fibrillerinin incilmesi ve ortadan kalkması şeklinde ortaya çıkarak uzun vadede bağlanma dayanımını azaltır [15]. Bağlanma dayanımı ve sağlamlık, hibrit tabaka / rezin tagların kalınlığı veya morfolojisinden ziyade, hibrit tabakanın kalitesine bağlıdır. EDC, proantosiyanidin (PA), klorheksidin (CHX), galardin ve epigallokatekin-gallat (EGCG) gibi çeşitli biyomateryaller (doğal, sentetik ve fiziksel yöntemler) modern dental adezivlerin uzun dönem bağlanma etkinliğini geliştirmek için MMP inhibitörü (MMPI) ve kollajen çapraz bağlayıcı olarak işlev görmek üzere tanıtılmıştır [4].

Bu çalışmanın amacı, EDC adeziv uygulama öncesi dentin yüzey tedavisinde kullanıldığında MMP inhibisyonu ile üniversal adeziv sistemlerin dentine bağlanma dayanımı üzerine etkisinin mikrogerilim test yöntemiyle in-vitro olarak değerlendirilmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

Restoratif diş hekimliği alanında yapılan pek çok çalışma ve yeni geliştirilen materyallere rağmen, dentin-adeziv ara yüzeyi diş restorasyon kompleksindeki en zayıf nokta olma özelliğini korumaktadır. Rezin-dentin bağlanmasının elde edilmesi için dentin yüzeyinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirecek birkaç uygulama yapılması gerekir. Kavite preparasyonu sırasında dentin yüzeyinde oluşan 1-2 µm kalınlığında smear tabakası self-etching primer ile modifiye edilir veya %37'lik fosforik asit ile tamamen ortadan kaldırılır. Dentinin asitlendiği durumlarda, dentin yüzeyindeki tüm mineral komponent ve smear tabakasının altında bulunan 5µm kalınlıkta mineralize dentin çözünür ve böylece altta bulunan tip I kollajen fibril ağı açığa çıkar [16]. Kollajen fibriller arasında oluşan boşluğa interfibriler alan adı verilir ve bu boşluk adeziv komonomerleri için difüzyon kanalları oluşturur [17]. Adeziv komonomerleri demineralizasyon derinliği boyunca ilerleyerek hibrit tabakasını oluşturur [18]. İdealde hibrit tabakasının uzun yıllar boyunca sağlam kalması beklenir, ancak zamanla hidrolitik çözünmeden dolayı adeziv ara yüzeyde bozulmalar meydana gelebilir. Adeziv ara yüzeyinin bozulması sonucunda oluşan mikro boşluklara patojenler penetre olabilir. Mikroorganizma, esteraz ve dental biyofilm varlığında adeziv ara yüzeyinde yıkım meydana gelebilir ve bütün bu olaylar kompozit restorasyonun başarısızlığı ile sonuçlanır [19, 20]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kompozit restorasyonların en önemli başarısızlık nedenleri sekonder çürük ve diş, restorasyon veya her ikisinde meydana gelen kırık olarak gösterilmektedir. Sekonder çürük oluşumunda adeziv ara yüzünde zamanla meydana gelen bozulma özellikle önemlidir ve bu nedenle adeziv diş hekimliğinde son dönemlerde yapılan çalışmalarda mine/dentin ve rezin arasındaki bağlanmanın nano seviyede anlaşılması amaçlanmaktadır [21].

2.1 Dentin Organik Matriks Yapısı

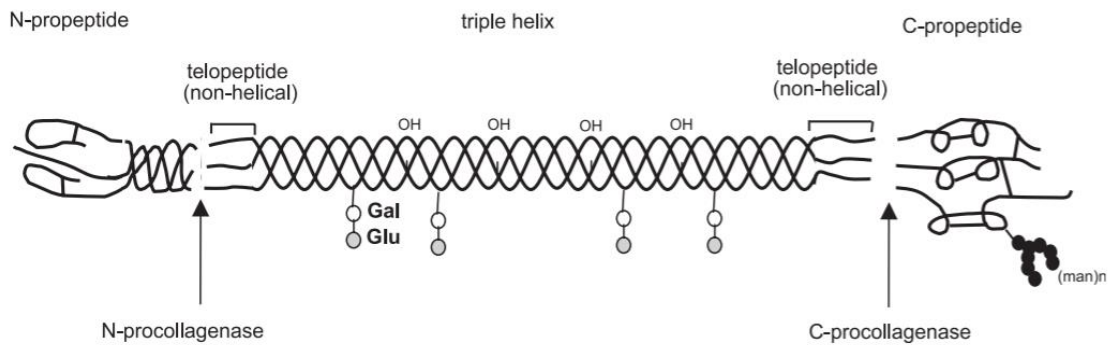
Dentin hacimsel olarak yaklaşık % 50 inorganik madde, yaklaşık % 30 organik madde ve yaklaşık % 20 sudan oluşur [22]. Dentin bileşimi, pulpa dokusuna olan yakınlığına ve

matrisin demineralize veya etkilenmiş/enfekte olmasına bağlı olarak dişin farklı bölgelerinde değişebilir. Bu farklılıklar dentinin mekanik özelliklerinin yanı sıra dentin ile bağlanma başarısını da büyük ölçüde etkileyebilir [23].

Ekstrasellüler organik dentinal matriks (EODM), kollajen yapısının (% 90'ı) çoğunluğunu kollajen V ve III'ün izlerini de içeren tip I kollajen oluşturur [22]. EODM'nin kalan bileşenleri, proteoglikanların en belirgin olduğu kollajen olmayan proteinlerdir. Bunların diğerleri dentin sialoproteinleri, fosfoproteinler, kemik morfojenik proteinleri, enzimler ve büyüme faktörleridir [24, 25].

2.1.1 Tip I Kollajen

Fibriler kollajen, yüksek düzeyde organize olmuş hiyerarşik yapılara yerleştirilmiş güçlü ve elastik bir biyomateryaldir [26, 27]. Tip I kollajen tüm kollajen tiplerinin en çok bulunanıdır ve her biri X ve Y'nin sırasıyla prolin ve hidroksiprolin olduğu Gly-X-Y aminoasitlerinin tekrarlanan sekansından oluşan üçlü sarmal moleküldür. Tip I kollajen molekülleri, hem C hem de N terminal uçlarında ayrılma yoluyla daha büyük bir prekürsör olan prokollajenden biyosentezlenir. Kollajen fibriller, kovalent moleküller arası çapraz bağlanmanın geliştirilmesi için çok önemli olan komşu moleküller arasında 67-69 nm tekrar periyodu örtüşmesi ile periyodik bir yapı içerisine moleküllerin spontan olarak birleşmesiyle oluşur [28]. Kollajen monomerlerinin kısa sarmal olmayan telopeptidleri (Resim 1), kollajen moleküllerinin kovalent çapraz bağlanmasında ve aynı zamanda çevreleyen matrisin diğer moleküller yapılarına bağlanmasında rol oynarlar [26].



Resim 1. [26] Tip I Kollajen

Kollajenin son translasyon sonrası modifikasyonu olan moleküller arası çapraz bağ, kollajen fibrillerinin stabilitesi, gerilme mukavemeti ve elastikliği için esastır. Kollajen lifleri için elastik gerilme-deformasyon eğrisinin eğimi, artan çapraz bağlanma derecesi ile artar [28] ve çapraz bağlanmadaki küçük sapmalar, sert dokunun kuvvetiyle ilişkilidir

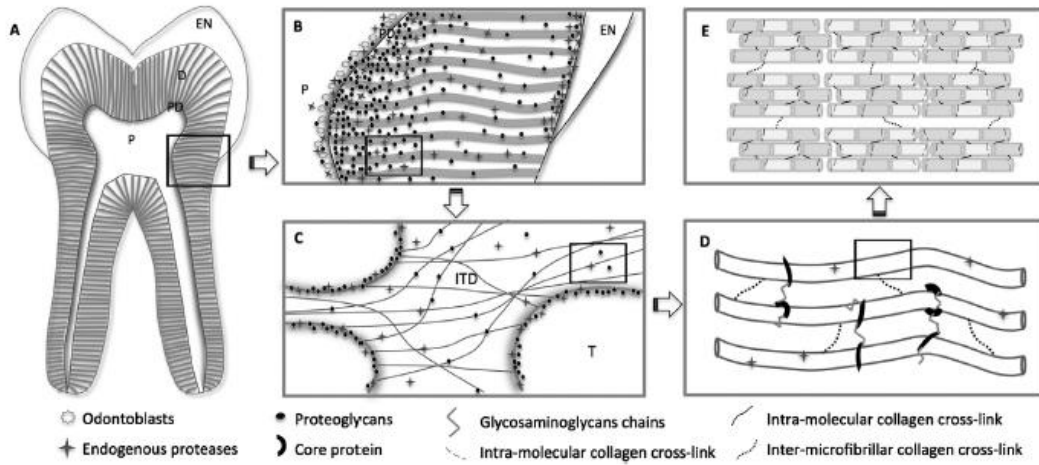
[29]. Ek olarak, dokunun biyo-bozunabilirliği ve termal stabilitesi de kollajen çapraz bağının miktarı ve tipi tarafından kontrol edilir.

Endojen kollajen çapraz bağları enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlardan sorumludur. Lizin-lizin kovalent bağlanmasıyla telopeptitler ve komşu üçlü sarmal zincirler arasında oluşan enzimatik intraandinter-moleküler çapraz bağlar [29-31], lizin hidroksilasyonu, glikozilasyon, turnover oranı, moleküler paketleme, eksternal kuvvetler gibi bir dizi faktörle kontrol edilir [32]. Enzimatik olmayan kollajen çapraz bağları oksidasyon ve glikasyon süreçlerinden sorumludur [33]. Eksojen kollajen çapraz bağları, her ikisi de tip I kollajen ile ayrı ayrı etkileşim mekanizmalarına sahip olan kimyasal ajanlar ve fiziksel metotlar gibi bir başka enzimatik reaksiyon kaynağı tarafından indüklenebilir.

Tip I kollajen, rezin bazlı materyallerin mikromekaniksel olarak retansiyonunu sağlayan diş komponenti olarak kayıp diş dokusunun yer değiştirilmesinde ve aynı zamanda doku remineralizasyonu için yapı iskelesi olarak da önemli bir rol oynar.

2.1.2 Proteoglikanlar

Kollajen olmayan dentinal proteinlerden en önemlileri bir çekirdek proteininden oluşan glikozaminoglikanlar (GAG) ve bağlantı proteinlerinden oluşan proteoglikanlardır (PG) [34]. PG'lar dentin mineralizasyonunda [35, 36] ve kollajen fibrillerin yapısal bütünlüğünde önemli rol oynarlar [37]. Mineralizasyondaki rollerine ek olarak, PG'ler doku hidrasyon ve molekül difüzivitesini kontrol ederler [38]. Bu nedenle, sklerotik dentin gibi dokunun değiştirilmiş formları, PG'ların dağılımını etkileyebilir [39]. Dahası, bu proteinler su moleküllerini bağlayabilir, kollajenin afinitesini düzenleyebilir ve hibrid tabakası oluşumu sırasında suyun yer değiştirmesini etkileyebilir [40-43]. Hassas seçici immün etiketleme protokolleri, ekstra selüler matriksin farklı yapısal elemanları arasındaki üç boyutlu ilişkileri büyük bir hassasiyetle ortaya çıkarmaktadır [43-46].



Resim 2. [47] Dentin organik matriks yapısı

(A) Diş yapısı. EN, enamel; D, dentin; PD, predentin; P, pulpa.

(B) Koronal dentinde PG'lar ve endojen proteazların dağılımı. Endojen proteazlar arasında, derin dentin alanları ve predentin-dentin mine birleşiminde her iki enzimin daha fazla bulunduğu MMP'ler ve sistein-katepsinler bulunur. PG'lar ayrıca derin dentinde, özellikle predentin bölgesinde tanımlanır.

(C) Yüksek magnifikasyonda kollajen fibrilleri, proteoglikanları ve endojen proteazları gösteren dentinal tübül enine kesit görünümü. TD, intertübüler dentin; T, dentin tübülü. Proteoglikanlar, kollajene, immüno lokalize dentin boyunca bağlıdır ve peritübüler dentinde yoğunlaşır. Katepsin B, özellikle peritübüler dentinde odontoblastlarda ve dentin tübüllerinde lokalize edilmiştir. MMP-2, -9 ve -3, çoğunlukla intertübüler dentinde kollajen fibrilleri boyunca lokalizedir, fakat tübüllerin içinde MMP'ler tanımlanmamıştır.

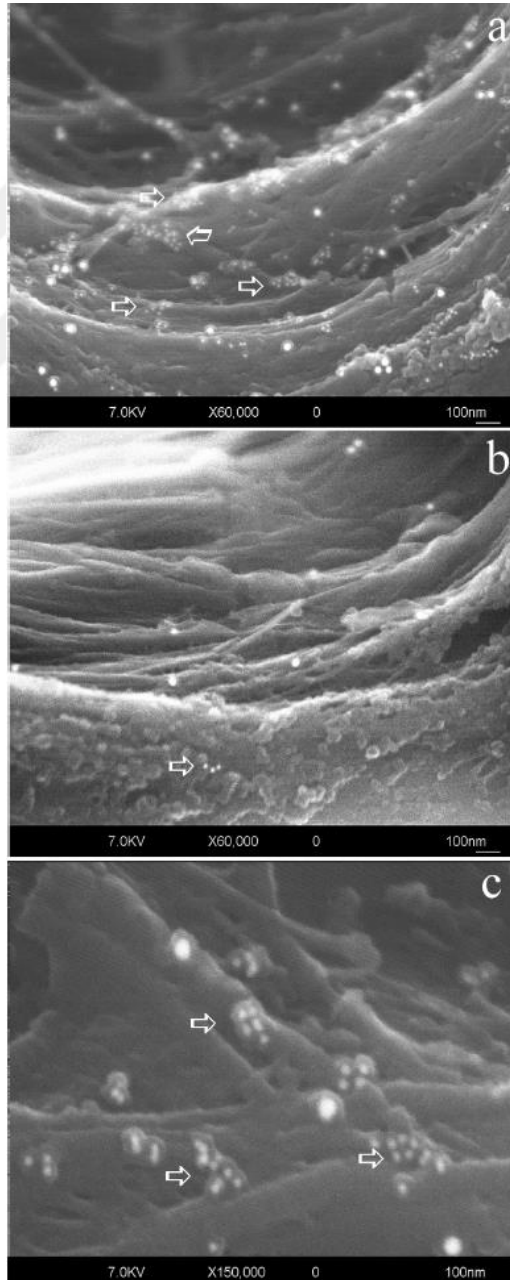
(D) Dentin organik matriksinde non-kollajen proteinlerle kollajen fibril etkileşimleri. PG'larda bulunan protein çekirdeği kollajene bağlanır ve kollajen ağını bir arada tutarak mikrofibril kümelerini oluşturur.

(E) Enzimatik kollajen çapraz bağları, kollajen fibrillere gerilme özellikleri ve stabilite sağlar.

Proteoglikanların kollajen yıkımı üzerindeki etkisi konusunda çelişkili raporlar vardır. Bedran-Russo ve diğ. (51), dentinin demineralize yüzeyinden GAG'ların çıkarılmasından sonra bağlanma mukavemetinde bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Mazzoni ve diğ. (52) ise, PG'ların çıkarılmasından sonra rezin-dentin bağ kuvvetinde bir artış olduğunu göstermiştir. Belki de bu tutarsızlık, kollajen yapısını destekleyen hidrofilik interfibriller

nano-ağ oluşturma yetenekleriyle suyun penetrasyonunu kolaylaştırırken, aynı zamanda buna bağlı olarak kollajen matrisinin hidrolizine sebep olmalarına atfedilebilir.

Dentinal kollajen adeziv prosedürler sırasında ayakta kalabilirken bu dermal kolejen yapısında bozulmalara sebep olabilir [48]. Eğer asitle aşındırma aşaması önerilen 15 sn ile sınırlanmışsa, EODM'nin yapısal bütünlüğü korunur [43-46]. Bununla birlikte, aşırı aşındırma işlemi, kollajen moleküllerinde [46] ve PG'larda yapısal değişikliklere neden olabilir [40-42]. Bu durum, hasar görmüş bir organik parçanın hibrid tabaka içine sokulmasına sebep olabilir, dolayısıyla bundan kaçınılması gerekmektedir.



Resim 3. [49] % 35'lik fosforik asitle asitlenmiş dentinin FEISEM görüntüleri

(a) Dentin 15 s için fosforik asitle asitlendi. KF etiketleme (30-nm beyaz noktalar) çoğunlukla ana fibrillerde lokalize olurken, KS etiketleme (15-nm beyaz noktalar) peritübüler dentin matrisi üzerinde gözlemlenebilir. KS çoğunlukla globüler görünümdeydi (geniş oklar).

(b) 30 s için fosforik asit kullanımı etiketlenen hem KF (daha büyük parlak beyaz noktalar) hem de KS (oklarla işaretlenmiş daha küçük beyaz noktalar) azalmıştır.

(c) Yüksek büyütme görüntüleri, fosforik asitle 15 s asitleme sonrası intertübüler dentin üzerindeki ana KF ve globüler KS (oklar) kompleks ağını ortaya çıkarır.

FEISEM alan emisyon taramalı elektron mikroskopisi, KF kollajen fibril, KS kondroitin sülfat.

2.1.3 Endojen Protezlar

Dentinde kollajenolitik aktivite ilk olarak Dayan ve ark. [50] tarafından rapor edilmiştir, Tjäderhane ve diğ. [51] tarafından açık bir şekilde aydınlatılmıştır ve bu aktivite matriksmetalloproteinazlara (MMP'ler) bağlanmıştır. Pashley ve diğ. [13] kollajenin aseptik koşullarda zamanla bozulabildiğini göstererek, buna intrinsik matrix proteazlarının neden olabileceğini göstermiştir. Dentindeki en belirgin endojen enzimler grubu MMP ve sistein katepsinleridir.

2.1.3.1 MMP'ler

MMP enzimleri, çinko ve kalsiyuma bağlı olarak, kollajen dokusu ve bütün bağ dokusu yapısında bulunan enzimlerdir. Bu enzimler prepro-MMP'ler olarak sentez edilir, inaktif pro-MMP'ler (nötral pH'da) olarak salgılanırlar [52]. Bu enzimler, ağız ortamının birçok normal biyolojik gelişim ve yıkım sürecinde yer alırlar. Ağız ortamında çoğu MMP enzimi odontoblastlar tarafından sentez edilir ve serbest bırakılır [53].

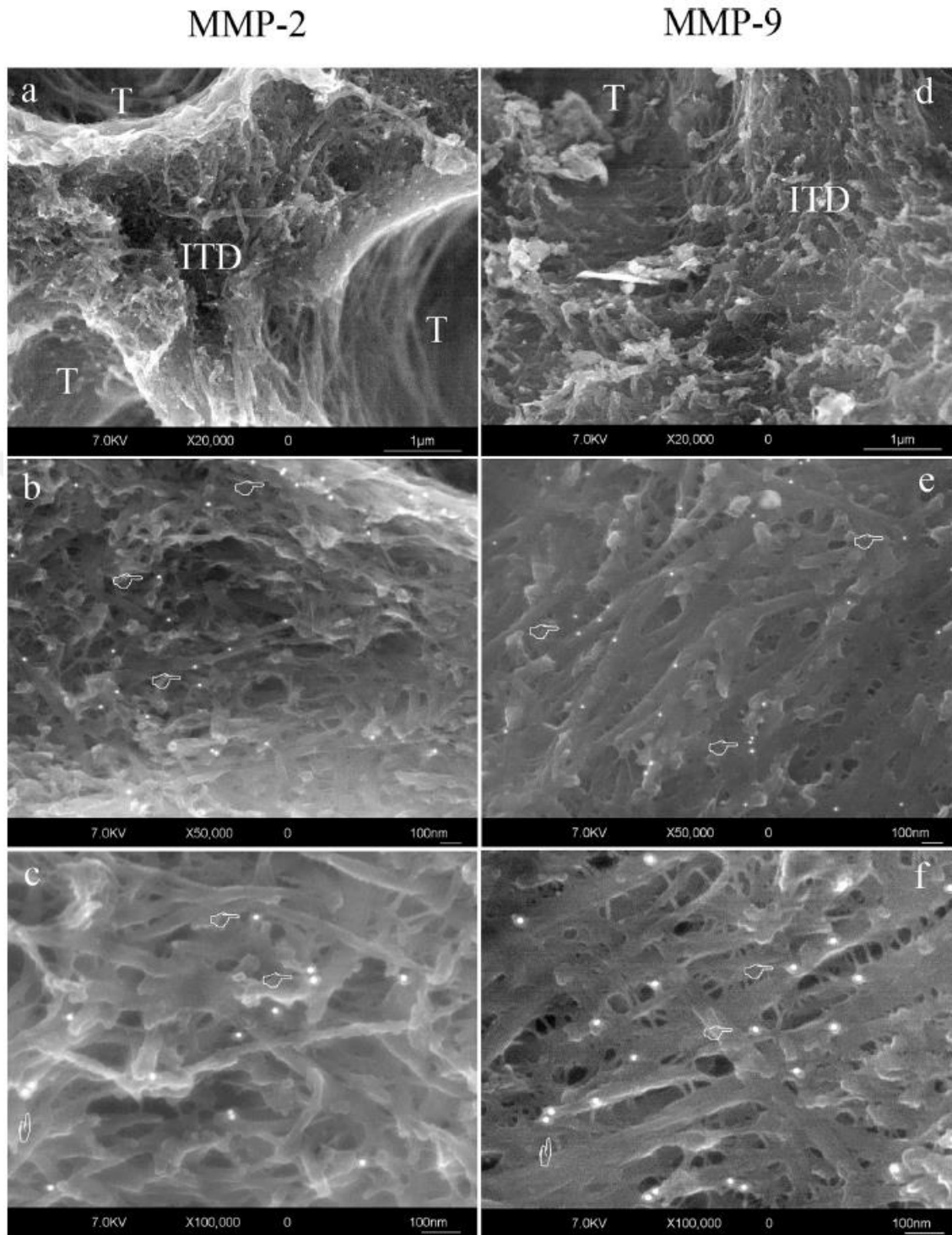
MMP enzimleri genellikle 6 alt gruba ayrılırlar [54]:

- Kollajenazlar, MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18
- Jelatinazlar, MMP-2, MMP-9
- Sitromelininler, MMP-3, MMP-10, MMP-11
- Matrilisinler, MMP-7, MMP-26
- Membran tip MMP'ler, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25

- Diğerleri, MMP-12, MMP-19, MMP-20 (enamelisin), MMP-23, MMP-27, MMP-28.

Bu enzimler içerisinde MMP-2, MMP-8, MMP-9 ve MMP-20 normal dentin matriksinde bulunurlar [55]. MMP-2 ve MMP-9 enzimleri esas olarak, intertübüler kollajen fibril ağında yer alırlar. MMP-2 ve -9, üç boyutlu olarak, lens-taramalı elektron mikroskopisinde alan emisyonu altında kısmen dekalsifiye edilmiş insan dentininde monoklonal antikorlarla ve transmisyon elektron mikroskobu ile demineralize insan dentininde immünohistokimyasal bir yaklaşımla tanımlanmıştır (Resim 6) [56].





Resim 4. [56] FEISEM (alan emisyon lens taramalı elektron mikroskobu), T tübüller, ITD intertübüler dentin.

(a, d) Kısmen dekalsifiye olmuş dentin yüzeyinin düşük büyütme görünümü (20.000), kalın bir organik matriks ve İTD ile çevrili olan açık T'yi gösterir. MMP-2 ve -9 etiketlemesi, çoğunlukla peritübüler dentinde lokalize olarak tanımlanabilir.

(b, e) Kısmen dekalsifiye edilmiş yüzeyin daha yüksek büyütme görüntüsü (350.000): MMP-2 ve -9 antikollarını tanımlayan pozitif immünohistokimyasal boyama, kolajen fibrilleri boyunca konumlandırılmıştır.

(c, f) Yüksek büyütme FEI-SEM mikrografları (100,000), MMP-2 ve -9 ile kollajen ağ örgüsü arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarır.

2.1.3.1.1 Ağız Ortamında MMP'ler

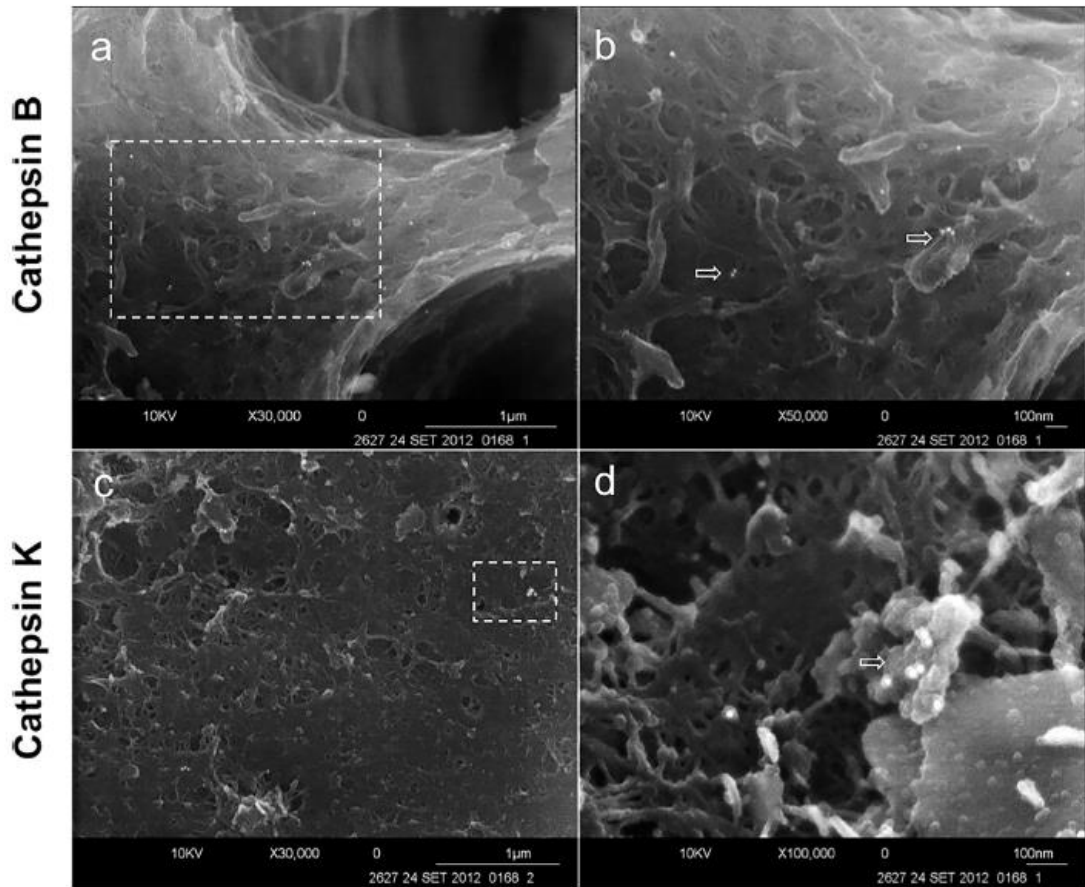
Kollajen, diş eti ekstraselüler matriksinin en önemli bileşenidir. Aktif periodontitis hastalığında diş eti kollajenlerinin yıkımında yine MMPs enzimleri yer alırlar [57]. MMPs enzimleri, ekstraselüler matriksteki protein bileşenlerini yıkarak doku düzenlenmesinde (remodeling) rol oynarlar. Bu enzimler fizyolojik gelişimde; hücre göçü, büyüme esnasında doku remodelingi, yara iyileşmesi, yeni damar gelişimi ya da oluşumu (angiogenesis), mine oluşumu, antijen yenlenmesinde rol oynarlar [58]. Normal ve kötü huylu hücre yayılımında düzenleyici molekül olarak görev alırlar [59]. Tümör hücrelerinde bulunur ve yayılımında (metastaz) rol oynarlar [60-63]. Bütün bu enzimler içerisinde MMP-2, MMP-8 ve MMP-9 enzimleri çürük dokusundaki kollajen yıkımından sorumludurlar [51]. MMP-20 enzimi ise mine gelişiminde aktif ve önemli rol oynar [64, 65]. MMPs enzimleri, buldukları ortamın pH'sı düştüğünde aktive olurlar [51]. Çürük dokuda, karyojenik bakterilerin ürettiği laktatın ortamın pH'sını düşürmesi ile bu enzimler aktif hale gelirler [66]. Shimada ve arkadaşları, MMPs enzimlerinin (MMP-2, -8, -9 ve -20) normal ve çürük dentinde lokalizasyonunu incelemişler ve çürük dokunun özellikle dış katmanlarında yoğun olarak MMP-8 ve MMP-9 enzimlerine rastladıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu tabakada bulunan enzimlerin kaynağının tükürük olduğunu ve çürüğün dış katmanında bulunan bu enzimlerin dentin organik matriksinin yıkımına sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar MMP-2 enziminin çürük ve normal dentinin her ikisinde birden bulunduğunu, çürük dokunun iç ve dış katmanları arasındaki dağılımının benzer olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar MMP-20'nin ise en çok normal dentinde bulunduğunu, çürük lezyonunda ise dış katmanlara doğru oranının azaldığını ifade etmişlerdir [55].

2.1.3.2 Sistein Katepsinleri

Dentin degradasyonu ile ilgili dentin matrislerinde endojen proteolitik enzimlerin öne çıkan diğeri bir grubu da sistein katepsinleridir. Dentindeki varlıkları yakın zamanda bildirilmiştir [67, 68]. HT'nin degradasyonunun yanı sıra çürüğün ilerlemesinde de rol oynadıkları gösterilmiştir [68, 69]. Katepsin (KT) -K, kollajene karşı % 98 katepsin

aktivitesine sahiptir ve MMP'lerden ve diğer katepsinlerden, birden fazla bölgede helikal kollajeni ayırma ve çoklu kollajen fragmanları meydana getirme yeteneği ile ayrılır [70]. Tersine, diğer katepsinler sadece kollajenin sarmal olmayan telopeptit kısmını ayırabilir [71].

KT'lerin ve MMP'lerin sinerjik olarak çalışabildiği, bu iki enzim grubunun, hedef substratlarının birbirine yakın olduğu ve enzimlerin de birbirine çok yakın lokalize olduğu düşünülmüştür [68]. Bu ilişki, hem sağlam hem de çürüklü dişlerde kollajen tarafından oluşturulmuş aynı alanda en azından bazı MMP'lerin ve KT'lerin varlığını gösteren çalışmalarla desteklenir [69], ve aynı zamanda bu farklı proteaz sınıfları arasında olası bir enzimatik kaskatı da gösterir [67, 68]. Daha yakın zamanda, immünogold etiketleme korelasyonlu FEISEM ve TEM mikroskopileri ile insan dentin matrisindeki KT'lerin ve MMP'lerin in situ birliktelik/ dağılımı rapor edilmiş ve demineralizasyondan sonra kollajen fibrilleri üzerinde KT-B ve KT-K varlığı gösterilmiştir (Resim 5) [72].



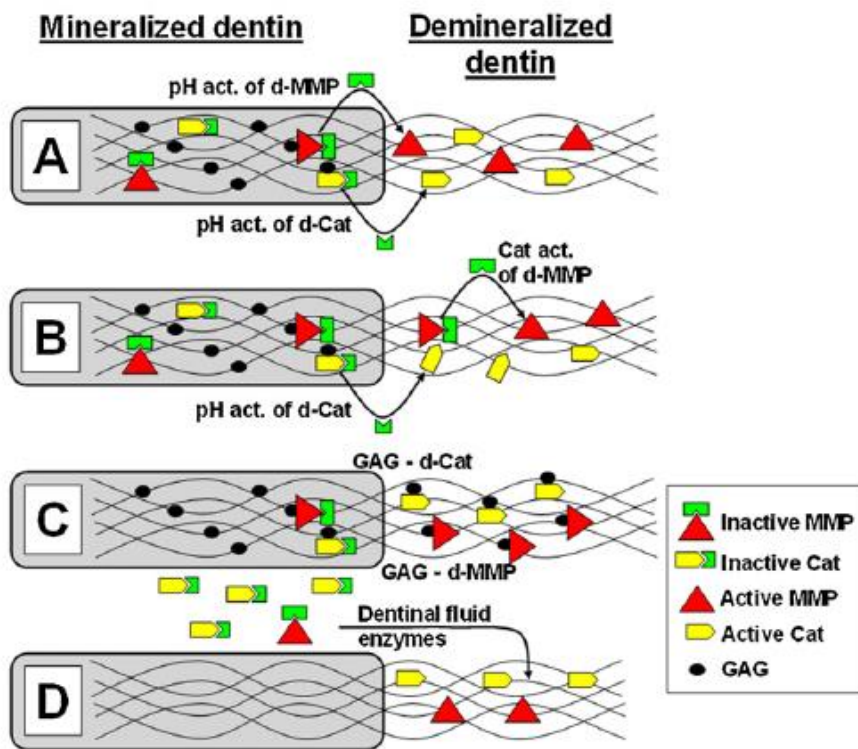
Resim 5. [72] İmmüno etiketleme prosedüründen sonra kısmen demineralize dentin FEISEM mikrografları. Etiketleme elektron ışınının altında elektron dens beyaz noktalar olarak tanımlanabilir (b ve d'deki oklar).

(a, c) Hafif seviyeli KT-B ve KT-K etiketleme sinyalinini gösteren kısmen demineralize dentin yüzeyinin düşük büyütme görüntüsü ($\times 30,000$).

(b) Kısmen demineralize edilmiş yüzeyin daha yüksek büyütme görüntüsü ($\times 50,000$): kollajen fibrilleri boyunca yer alan KT-B'yi (15 nm beyaz noktalar) tanımlayan pozitif immünohistokimyasal boyama.

(d) Yüksek büyütme FEISEM mikrografları ($\times 100.000$), KT-K (30 nm beyaz lekeler) boyama için orta seviyeli etiketleme ortaya çıkarır.

Ek olarak, MMP'ler ve KT'lerin aktiviteleri, florojenik substratlar kullanılarak spektrofotometrik olarak gözlemlenmiştir; bu iki proteaz ailesinin, matris bozunmasında farklı koordineli roller oynadığını göstermiştir. Diğer dokularda, MMP'ler ve KT'lerin birbirlerinin aktivitelerini düzenleyebildiği bilinmektedir ve olası KT-MMP etkileşimlerinin dentinde de ortaya çıktığı öne sürülmüştür [68].



Resim 6. [73] Dentin içinde sistein katepsinleri ve MMP'lerin olası aktivasyon mekanizmalarının ve işlevlerinin şematik sunumu. MMP'ler (kırmızı üçgenler) veya katepsinler (sarı ok uçları) yeşil bloklarla, enzimin ya bir proform olarak ya da spesifik (TIMP'ler, sistatinler) ya da spesifik olmayan (makroglobulin) inhibitörleri ile kompleks halinde inaktivasyonunu temsil eder. Proteinin aktivasyonunu (inhibitörün eliminasyonunu, latentten aktif forma dönüşümünü veya her

ikisini birden) yeşil blokların uzaklaştırılması temsil eder. Dentin içerisindeki glikozaminoglikanlar (GAG'lar) enzim aktivitesini etkiler.

(A) Asit veya asidik monomerlerin aşındırmasına bağlı pH değişiklikleri, dentine bağlı proMMP'leri ve /veya MMP-TIMP komplekslerini (d-MMP) aktif MMP'ye dönüştürür. Sırasıyla, dentine bağlı katepsin (d-Cat) asidik pH'da aktif hale gelir.

(B) En azından katepsin B, MMP'ler ve bunların inhibitörleri arasındaki dengeyi değiştirerek, MMP'ye özgü doku inhibitörleri TIMP-1 ve TIMP-2'yi (36) direkt olarak ayırır ve inaktive eder. Asidik pH sistein katepsinleri aktive eder, ya proMMP'leri proteolitik olarak aktive eder ya da TIMP'yi inhibe eder veya her ikisini yaparak pH'ın nötralizasyonundan sonra MMP'lerin aktif hale gelmesini ve fonksiyonel aktivitesini sağlar.

(C) Glikozaminoglikan (GAG: siyah nokta) katepsinlerin (ve muhtemelen MMP'ler) aktivasyonu ve stabilizasyonuna, nötr pH'ta bile katepsinlerin fonksiyonel aktivitesine izin verir.

(D) Odontoblast veya pulpa dokusundan üretilen enzimler hibrit tabakaya girebilir.

2.2 Dentin Biyomodifikasyonu

Endojen proteazlar aslında hidrolazlardır, çünkü kollajen peptidleri parçalamak için bağlanmamış suya ihtiyaç duyarlar. Dentin adezyon prosedürleri sırasında, hibrid tabaka içerisindeki demineralize kollajen fibrillerinin en derin kısmını tamamen rezin ile doldurmak, imkansız olmasa da oldukça zordur. Açıkta kalan kollajen fibrilleri arasındaki boşluklar su ile doludur, bu da endojen enzimlerin aktivasyonuna ve kollajen degradasyonuna, adeziv rezinin plastikleşmesine ve maruz kalan fibrillerde mekanik gerilime yol açar. Kollajen degradasyonunun inhibisyonu, geliştirilmiş genel hibrid tabaka bütünlüğü, nanosızıntının azalması ve bağlanma dayanımının artması ile sonuçlanmaktadır [74-77].

Hibrit tabakanın tabanında mevcut olan açıkta bulunan kollajen fibrilleri, konakçı kaynaklı enzimlerin, yani MMP'lerin ve sistein katepsinlerinin çoğu tarafından bozunmaya karşı hassas olan bir substratı temsil eder [13]. Bu nedenle, dentin biyomodifikatörleri olarak MMPI(MMP inhibitörü)'leri ve kollajen çapraz bağlayıcılar ile ön-muameleyle dentin substratını biyolojik olarak modifiye edebilirsek, daha stabil ve dayanıklı bir adeziv ara yüz elde edilebilir.

Dentin biyo-modifikasyonu, dentin ve bu ajanlar arasındaki rezin-dentin bağının dayanıklılığını arttırmak için çeşitli doğal ve sentetik ajanlar kullanarak multimekanistik etkileşimlere dayanan, bir stratejidir. Dental adeziv restorasyonları için stabil bir substrat

görevi gören daha dirençli, kararlı ve çözünmez bir kollajen ağı oluşturmak için kullanılabilir.

Kollajen çapraz bağlayıcılar ve MMP inhibisyonu yoluyla dentin biyomodifikasyonu, ya sentetik (karbodiimid, glutaraldehid, CHX, tetrasiklinler, kuaterner amonyum bileşikler, askorbik asit) ya doğal ürünler (kateşinler, oligomerik PA'lar, genipin, hesperidin ve diğer polifenoller) ya da ultraviyole-A aktif riboflavin gibi fiziksel yöntemlerle aktive edilen ürünler ile elde edilebilir [47].

Hibrid tabaka kollajenin bozulmasından sorumlu dentin matriksinde iki farklı tipte proteaz (MMP ve sistein katepsinleri) mevcut olduğundan, iki farklı inhibitör sınıfına sahip olmamız gerekir ve bu da yaklaşımı daha karmaşık hale getirir. Bu nedenle, kollajen çapraz bağlayıcıların kullanımı, tek bir çapraz bağlama maddesi ile dentin matrisinde mevcut olan tüm endojen proteaz türlerini inaktive etmek için alternatif bir yol olabilir. Bildiğimiz gibi, demineralize edilmiş dentin kollajen fibrilleri, hibrit tabakanın tabanında rezin emdirilmiş minerali alınmış dentin kollajeninden ve kesinlikle demineralize olmayan dentin kollajeninden daha zayıftır. Enzim inhibitörleri ile tedavi, bu hassas kollajen fibrillerinin degradasyonunu önlese de, kollajen fibrillerini güçlendirmezler [15]. Bu nedenle, matrise bağlı proteazlardan koruma sağlamanın yanı sıra, rezin-dentin arayüzünün mekanik stabilitesini ve dayanıklılığını geliştirmek için güçlendirme de yapılmalıdır. Bu nedenle, proteaz inhibe edici özelliği olan kollajen çapraz bağlayıcıları, açıkta kalan kollajen fibrillerini korumak için ümit verici bir teknik olacaktır.

Kollajen çapraz bağlayıcıları, endojen veya ekzojen olmak üzere iki tiptir. Eksojen olarak kollajen çapraz bağlayıcıları, fiziksel yöntemler veya kimyasal maddeler ile indüklenebilir. Bu ekzojen çapraz bağlar, birbirine yakın lifleri çeker, peptid zincirleri arasında kovalent veya iyonik bağ oluşturur [78]. Bu, daha yoğun ve pürüzsüz bir yapı üreten ve mekanik stres altında liflerin ve zincirlerin kaymasını önleyerek daha fazla mukavemet sağlayan interfiber bağ oluşumu ile sonuçlanır [79]. Böylece, dentin kollajenindeki çapraz bağların sayısının artırılması, dentin matrisinin mekanik özelliklerinin artırılması için, aynı zamanda kollajenin biyodegradasyon oranlarını düşürmek ve böylece adeziv restorasyonların kalitesini ve ömrünü arttırmak için ilginç bir yaklaşım olabilir [80, 81]. Bu ekzojen çapraz bağlama maddeleri, adeziv bağlamadan önce kullanılabilir ya da doğrudan adeziv sisteme dahil edilebilir.

Glutaraldehit (GD) ve doğal polifenoller (PA, üzüm çekirdeği, yeşil çay, kakao çekirdeği, sumak meyveleri veya kurkumin) gibi çeşitli diğer iyi bilinen çapraz bağlama ajanlarından sonra, kollajen polipeptitler [82], arasında çok sayıda hidrojen bağı oluşturarak kollajen yapısını stabilize edebilen yeni bir sentetik çapraz bağlama maddesi olan karbodiimid ilgi kazanmış ve son zamanlarda sitotoksiste ile ilişkili olan GD'in aksine sitotoksiste olmaksızın proteaz aktivitesini [83] inhibe ettiği gösterilmiştir [84].

2.2.1 Carbodiimide (1-ethyl-3- [3-dimethylaminopropyl] carbodiimide) (EDC)

EDC, doğrudan demineralize dentine uygulandığında, inter ve intra moleküler çapraz bağların oluşumu yoluyla enzimatik ve hidrolitik degradasyonu önleyerek zaman içinde rezin / dentin ara yüzünün yapısal mukavemetini ve bağlanma direncini geliştirdiği, sentetik bir çapraz bağlama maddesidir [80]. En kararlı siyanamid izomeridir ve çok kararlı çapraz bağlar üretir. Ayrıca tıbbi alanda da EDC, ilaç taşıyıcı sistem gelişimini, biyoprotetik kalp kapakçık yapımını, [85] kollajen iskeletlerinin hazırlığını [86] vb. desteklemek için kullanılmıştır.

2.2.1.1 Çapraz Bağlama Mekanizması

EDC, ek bağlantı grupları oluşturmadan peptitleri birbirlerine çapraz bağlayabilme özelliğinden dolayı sıfır uzunluklu bir çapraz bağlama maddesi [87] olarak bilinmektedir. Fonksiyonel bir grup ($RN = C = NR$) içerir ve protein molekülleri içinde bulunan glutamik asit ve aspartik asitin serbest karboksil grubunun aktivasyonu ile spesifik olmayan proteinler arasında kovalent peptit bağları oluşturabilir [88]. Kararlı kovalent amit bağı oluşturmak için bitişik bir polipeptit zincirinde epsilon amino grubu lisin veya hidroksilisin ile reaksiyona girer, bu O-asilisorea ara maddesinin oluşumu ile sonuçlanır. EDC ile tedaviyi takiben kollajenaz zorluğuna karşı direnci geliştirdiği ve kollajen bazlı materyallerin mekanik özelliklerini arttırdığı bildirilmiştir [89].

EDC, dentin matriksine bağlı MMP'lerde olduğu gibi dentin kollajeninde de çapraz bağlanmaya neden olur. Kollajen çapraz bağlayıcıların, demineralize dentin üzerine uygulandığında, kollajen ile karşılaştırıldığında MMP'lerde çapraz bağlanmanın daha hızlı gerçekleştiği bulunmuştur [83, 90]. Bu, kollajendekine göre MMP'lerdeki karboksil ve amino gruplarının daha kolay erişilebilir olmasından kaynaklanabilir [91]. Böylece, EDC'nin güçlü bir MMPI olduğu ve MMP inhibisyon etkisinin çapraz bağlama etkisinden çok daha hızlı olduğu ortaya çıkmaktadır.

2.2.1.2 MMPs İnhibisyon Mekanizması

Tip I kollajen molekülleri, selektif olarak bir prokollajenden biyolojik olarak, hem globüler C- hem de N-terminal uçlarında telopeptidler olarak bölünerek sentezlenir. Perumal ve ark. bölünme alanının, C-telopeptid (kollajen molekülünün terminal ucu) tarafından MMP'leri o yere ulaşmak için bloke ederek tamamen korunduğunu göstermiştir [91]. Bu nedenle, bu telopeptitin telopeptidazın proteolitik etkisi ile veya MMP'nin kollajenolizden önce üçlü sarmalın gevşemesini / ayrışmasını kolaylaştıran alt-tabakaya bağlanmadan önce mekanik bir hasarla çıkarılmasıyla bu alanın açığa çıkması gerekmektedir. Kollajeni parçalamak için, MMP'lerin katalitik alanın peptidi kesmesine izin veren bu “gevşeme” zorunludur. Bu, enzimin aktif bölgesi için dahası peptid zincirlerinde glisin-izolösin arasındaki spesifik peptid bağı kırılmak için de yeterli alan yaratır [73].

Alternatif olarak, örneğin fiziksel yükleme ile meydana gelen hasar, fibril yapısında bazı değişikliklere neden olur ve bu şekilde, MMP ile bölünecek ilk kollajen peptid zincirini ortaya çıkarır. Diğer zincirlerin hareketi için bağımsızlık sağlar ve böylece onların daha sonraki bölünmesini destekler. İlk bölünme bölgesinden uzakta bulunan kollajen molekülleri, MMP'ler tarafından bölünme için kolayca kullanılabilir hale gelecektir ve bu da daha fazla bozulmaya yol açacaktır [91].

Bu yüzden, dentin biyo-modifiye edicileri kullanıldığında, kollajenin daha da bozunmasını önlemek için, kollajenin elastisite modülünü artırır ve MMP'lerin kollajen üçlü-sarmal yapısını açmasını daha zor hale getirir.

EDC gibi çapraz bağlayıcılar tarafından MMP inaktivasyonunu açıklamak için önerilen mekanizmalar şunlardır:

- (1) Katalitik alanda geri dönüşümsüz değişiklikler veya diğer degrade modüler alanların allosterik inhibisyonu gibi enzimin üç boyutlu yapısındaki konformasyonel değişiklikler [11].
- (2) Aktif bölgenin moleküler hareketliliğini azaltarak veya negatif yüklü iyonize karboksil gruplarını pozitif yüklü amidlere değiştirerek dentin proteazlarının aktif bölgelerinin inaktivasyonu.

(3) Son olarak, kollajenazların spesifik peptid bağından büyük telopeptidleri uzaklaştırmak için telopeptidazları kısıtlayarak hem helikal hem de telopeptid alanlarını çapraz bağlayabilir [83].

2.2.1.3 EDC Sitotoksitesi

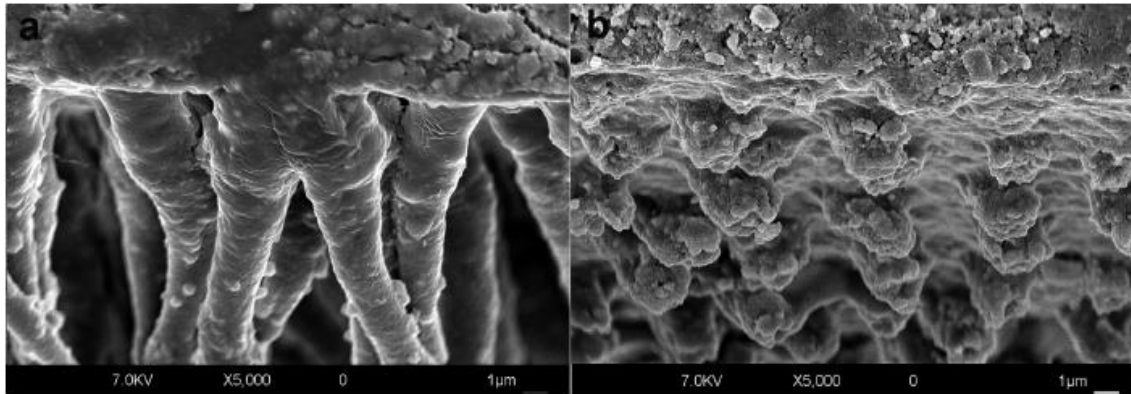
EDC, bir başka yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcı olan GD'nin yerine kullanılmıştır. GD'ye kıyasla çok düşük sitotoksite gösterir ve kollajenden kolayca durulanır ve hiçbir kimyasal madde kalıntısı bırakmaz. Ayrıca, potansiyel olarak sitotoksik aldehit tortuları içermez. Ayrı deneylerde daha önce kullanılan çeşitli EDC konsantrasyonları, hücre canlılığını etkilememiş ve odontoblast benzeri hücreler için sitotoksik olan herhangi bir trans-dentinal etki üretmemiştir, bu da in vivo uygulama için EDC'nin güvenli olmasını sağlamıştır. Scheffel ve diğ. dental pratikte çapraz bağlayıcı ajan olarak EDC kullanımının güvenli olduğunu ve rezin-dentin bağının kalitesini arttırmak için kullanılabileceğini kanıtlamıştır [92].

2.3 Adeziv Sistemler ve Dentine Adezyon Stratejileri

Çağdaş restoratif teknikler, diş rengindeki rezin esaslı materyallerin adeziv özelliklerine dayanmaktadır. Buonocore'un 1955'teki öncü yaklaşımını takiben, araştırmacılar ve üreticiler, dental adezivlerin hem sızdırmazlık hem de bağlanma yeteneklerini geliştirmişlerdir [7].

Rezin monomerlerin kendileri mineralize dokulara infiltre olamadıkları için, geleneksel olarak adeziv bond sistemleri bir asit, primer ve adezivden oluşur. Asit mineral kristallerinin uzaklaştırılması ve kollajen fibrillerinin açığa çıkarılması için kullanılır. Primer, demineralize dentine rezin monomerlerin infiltrasyonunu sağlayan hidrofilik rezin içerikli kısımdır. Adezivin kendisi, primer ile mekanik adezyon oluşturulan dentine penetre olan monomer karışımlarını içerir [93]. Bu bileşenler ayrı ayrı şişelerde veya birlikte, bir, iki veya üç klinik uygulama adımında gerçekleştirilebilir.

Van Meerbeek ve arkadaşları, 2003 yılında, diş yüzeyiyle etkileşime girme şekline göre adeziv sistemlerin bir sınıflandırılmasını önermiştir. E&R ve SE tekniği (Resim 7)[94].



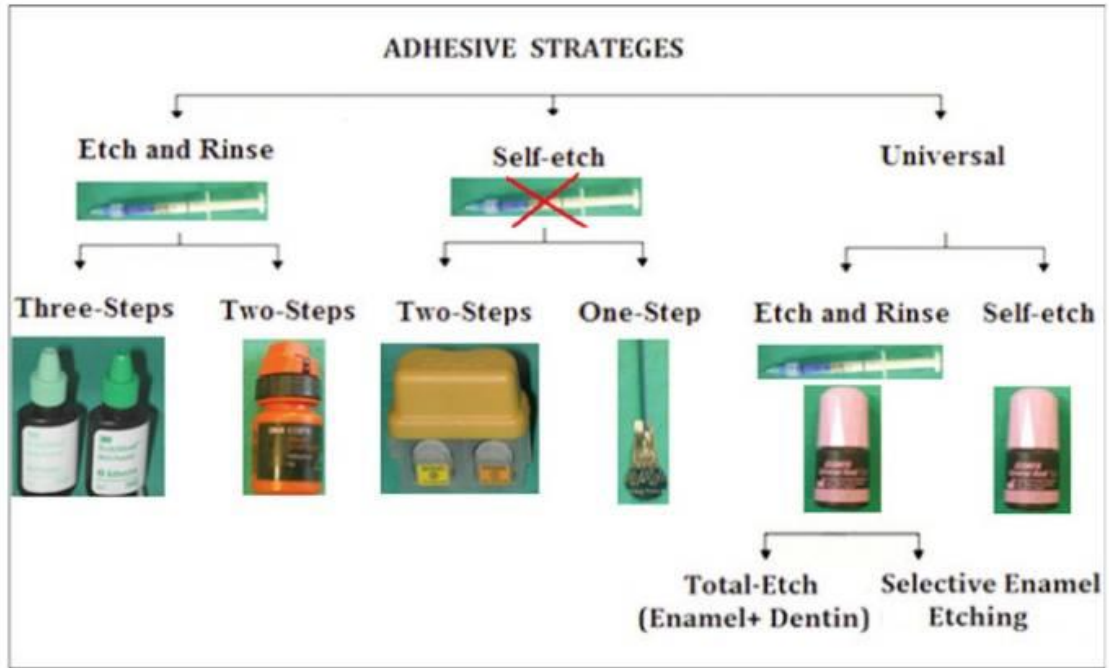
Resim 7. [7] a) E & R, b) self-etch adeziv sistem (HT'nin FESEM mikrograf görüntüsü)

E&R stratejisinde, smear tabakası uzaklaştırmak ve yaklaşık 5–10 μm derinliğinde demineralize dentin yüzeyel tabakası oluşturulmak için asit kullanılır. Açığa çıkan mineral içermeyen kollajen ağı, su içermektedir. Stabil bir bağ elde etmek istendiğinde, su tamamen adeziv içerikle değiştirilmelidir [5, 94, 95]. Ancak bu, monomerlerin ıslak ve demineralize dentin içine, açığa çıkmış kollajen fibrilleri içeren HT'nin altındaki rezinin tam gerçekleşmeyen infiltrasyonu sebebiyle sağlanamaz [96-98]. Bu durum, anti-tip I kollajen antikorları ile boyandıktan sonra asitle asitlenmiş, rezinle infiltre olmuş dentinin immünohistokimyasal olarak etiketlenmesiyle doğrulanmıştır. Buna göre, HT'nin üst yarısında kollajen fibriller az boyanırken, HT'nin en derin kısmında kollajen fibrillerin yoğun bir şekilde boyandığı ortaya çıkmıştır [99]. Bu sonuçlar, asitlenmiş kollajen fibrillerin rezinle kapsüle olmasının, HT'nin üst yarısında daha çok tamamlandığını, ancak alt yarıda tamamlanmadığını öne sürmektedir.

SE stratejisinde, adeziv komonomerler eş zamanlı olarak dentinal substratı demineralize ve infiltre ettiğinden, demineralizasyon derinliği ile rezin infiltrasyonunun derinliği arasındaki uyumsuzluğu azaltarak, daha homojen bir rezin infiltrasyonu yarattığından, ayrı bir asit-asitleme aşaması gerekli değildir. E & R sistemleri ile karşılaştırıldığında demineralize kollajen fibrillerine daha homojen bir rezin infiltrasyonu oluşturulur [46, 99, 100]. SE adeziv bonding tekniğinin stabilitesi, kollajen fibril substratı ve komonomerler arasındaki bağlantının etkinliğine bağlıdır [8]. Bazı çalışmalarda, E & R tekniği ile karşılaştırıldığında, SE adezivlerde düşük miktarda porözite ve daha fazla homojen rezin infiltrasyonu sayesinde kollajen fibrillerin daha iyi korunduğu bildirilmiştir [101]. Bununla birlikte, ayrı asitle aşındırma yapılmadan mine üzerine SE bondingin etkinliği hala sorgulanmaktadır [102, 103].

Şu anda, adeziv diş hekimliğinde, uygulama prosedürlerini ve klinik uygulama süresini kısaltarak bağlanma prosedürlerini basitleştirme eğiliminde devam eden bir trend mevcuttur. Bu yüzden, yeni bir adeziv sistem olan Üiversal Adezivler (UA) oluşturulmuştur. Bu adezivler, E & R veya SE modunda ilave bir kimyasal bağlayıcı ajanla kullanılabilir. UA'nın klinik performansı hakkında nispeten az bilgi vardır, ancak bazı çalışmalarda bazı çalışmalarda bu yeni tip adezivlerin E&R stratejisinde fosforik asit tarafından oluşturulan demineralize dentinin derinliğine tam infiltre olmadığı gösterilmiştir [1]. Aksine, SE tekniğiyle UA'nın HT'sı daha sığ ve daha dayanıklı görünmektedir, çünkü bu adezivler hidroksiapatit ile kimyasal olarak etkileşime girebilen ve kollajen fibrillerin uzun süre korunmasını sağlayan fonksiyonel monomerler içerir [1, 104-106]. Kullanılan fonksiyonel monomerler arasında, 10-metakriloiloksidil dihidrojen fosfat (10- MDP), dentine bağlanmada çok etkili ve dayanıklı bir monomer olduğunu göstermiştir. Yoshida ve arkadaşları, MDP'nin adhezyon-dekalsifikasyon konseptine göre kalsiyum (Ca ++) iyonlarına iyonik olarak bağlanabildiğini ve stabil formdaki MDP-Ca tuzları oluşturduğunu bildirmiştir [107, 108]. Adeziv ara yüzeyindeki bu tuz birikintileri, kendinden birleşmiş nano tabakalar oluşturur. MDP içeren adeziv, bir smear tabakası ile kaplı dentin üzerine uygulandığında, yüzey kısmen bir nanometre derinliğine kadar demineralize edilir. Dentin kısmi çözünmesi ile açığa çıkan Ca^{+2} iyonları, MDP-Ca formundaki kendinden birleşmiş nano tabakalar ve hibrit tabakası içine diffüze olur. Bazı in-vitro çalışmalar, üiversal adezivlerin hem E&R hem SE modunda kullanımının, dentine bağlanma dayanımında anlamlı farklılıklar olmadığını göstermiştir [109-111]. Diğer taraftan, yüksek pH'ları nedeniyle, bu adezivler minede selektif-etch'den faydalanır. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) gözlemlerine dayanarak, üiversal adezivler, SE modunda kullanıldığında, yaklaşık 0.5 ila 0.2 mm kalınlığında hibrit tabakalar oluşturarak, ılımlı ve ultra-ılımlı SE olarak olarak sınıflandırılabilir. Böylece, adeziv formülasyon içinde daha az asidik rezin monomerler karıştırılarak, 1-basamaklı SE adezivlerle uygulama modunun problemi çözülmüş gibi görünmektedir. Ancak, Muñoz ve ark. [112] tarafından yapılan bir çalışmada Scotchbond Üiversal (3M ESPE), uygulama modundan bağımsız olarak dentine benzer bağlanma dayanımı gösterirken, SE modunda dentine All-Bond Üiversal (Bisco Dental) ve Peak Üiversal Adhesive (Optident) uygulamalarının, bu adezivlerin E & R modunda uygulanmasına kıyasla önemli ölçüde daha düşük mikrogerilim bağlanma dayanımı sağladığı bildirilmiştir. Üiversal adezivlerin klinik etkinliğinin daha iyi anlaşılması

prospektif randomize klinik çalışmalarla elde edilebilir, ancak bu adezivler piyasaya çok yakın bir zamanda sunulduğundan, orta / uzun vadeli in vivo çalışmalarda eksiklik vardır. Perdigão ve ark. [113] tarafından yapılan 18 aylık bir klinik çalışma, Scotchbond Ünlversal ile bağlanmış sınıf V rezin kompozitinin bağlanma stratejisinin, bu sonuçların bildirilen kısa takip süresi nedeniyle klinik olarak anlamlı kabul edilemese bile, bağlanma stratejisinden etkilenmediğini göstermiştir.



Resim 8. [114] Modern adeziv stratejiler

2.4 Rezin Degradasyonu

Hibrid tabakanın iki genel degradasyon paterni tarif edilmiştir: kollajen fibrillerin organizasyonunun bozulması ve çözünmesi, interfibriler boşluklardan adeziv rezinin hidrolizi ve filtre edilmesi [115, 116].

Hidrolitik degradasyon yalnızca suyun varlığında meydana gelir ve rezin kütesinin kaybına neden olan polimerler arasındaki kovalent bağları kırabilecek kimyasal bir reaksiyondur [7, 117]. Hidroliz, hibrid tabaka içindeki rezin degradasyonunun temel nedeni olarak kabul edilir [16]. Dentin doğal olarak nemli bir substrattır, hidrofiliktir. Bu nedenle, çağdaş adezivler, organik çözücüler, genellikle su, etanol, aseton yada HEMA gibi (iki hidroksietil metakrilat) hidrofilik rezin monomer karışımları içerir. Bu hidrofilik rezin monomerleri, substratla adezivin hibridizasyonuna neden olan ıslak ve demineralize dentine adezivlerin infiltrasyonu için gereklidir [93, 118]. Bununla birlikte,

adeziv formülasyonlarındaki bu hidrofilik rezin monomerler, rezin sistemleri tarafından yüksek miktarda su absorpsiyonuna neden olurlar ve polimerizasyondan sonra geçirgen bir membran gibi bağlanan yüzey boyunca suyun hareketine izin verecek şekilde davranan bir hibrid tabaka oluştururlar [119, 120]. Su hareketi, bir difüzyon mekanizması olarak başlar, ardından adezivin hidrofilik fazını hızlandıran büyük su dolu kanalların oluşumu izlenir [121, 122]. Adezivin hidrofilik alanlarına suyun penetrasyonu, çözünebilir rezinin filtre edilmesini kolaylaştırır. Önceden rezinle infiltre edilmiş kollajen matrisi çözüldüğü ve yavaşça ekstrakte edildiği için, alttaki çözünmez kollajen fibriller açığa çıkar ve proteolitik enzimlerin saldırısına karşı savunmasız hale gelir [123]. Matriks proteazları hidrolazlardır, kollajen “polimeri” küçük birimlere ayırmak için spesifik peptid bağlarına su eklerler.

Asitlenmiş dentin ve / veya adezivlerde artık suyun varlığı, adeziv tabaka içinde geçirgenliğin artmasını sağlayarak adeziv monomerlerin polimerizasyonunu azaltabilir [121]. Adeziv sistem ve uygulanması için gerekli adımların sayısı ne olursa olsun, tüm adeziv sistemler, adeziv tabaka boyunca sıvı hareketinin kapsamı ile ilişkilendirilebilen değişken derecelerde tamamlanmamış polimerizasyon sergilerler [7, 123]. Suyun varlığının yanında [124], hem hidrofilik hem de hidrofobik alanların bir arada bulunduğu adeziv rezin komplekslerinin tamamlanmamış polimerizasyonunun potansiyel nedenleri olarak diğer faktörler araştırılmıştır: adeziv hidrofilikliği [125], monomer yapısı ve işlevselliği [126, 127], solvent tipi ve konsantrasyonu [123, 128, 129]. Bu amfifilik rezin karışımlarında, esas olarak basitleştirilmiş adezivler içinde [130-132], heterojen rezin tabakalarının oluşumuna yol açan nano-faz ayırma fenomenleri gözlenmiştir. En yaygın foto-başlatıcı kamforokinon, hidrofobiktir ve hidrofilik monomerlerin yetersiz kür derinliğine (DC) neden olabilir [132]. Konvansiyonel CQ'ya ek olarak TPO (etil 4-dimetilaminobenzoate ve difenil (2,4,6-trimetilbenzoil) -fosfin oksit) gibi alternatif hidrofilik foto başlatıcıların, hidrofilik adeziv sistemlerin kür derinliğini geliştirmesi önerilmiştir [132, 133]. Hidrofilik foto-başlatıcıların eklenmesi, hem hidrofilik hem de hidrofobik alanların polimerizasyonunu artırır, kür derinliğini artırır [134] ve faz ayrışmasının zararlı etkisini azaltır [131].

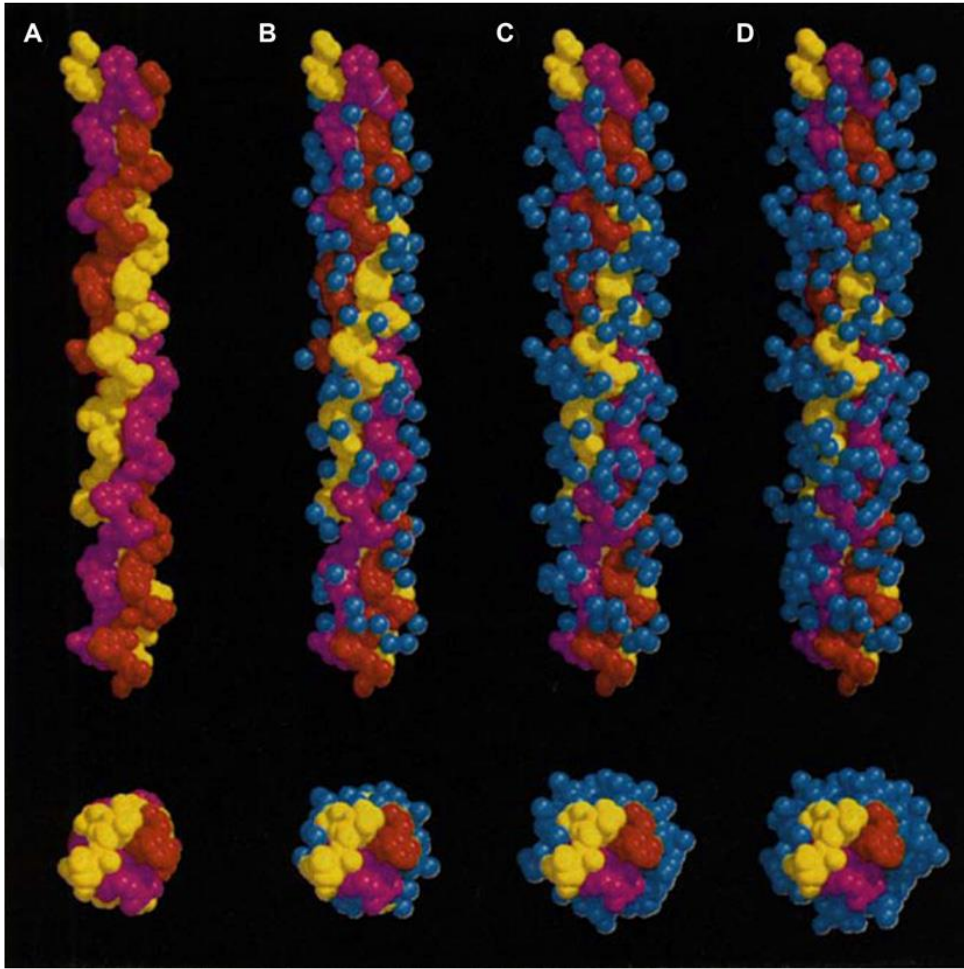
Restorasyonların oklüzal kuvvetlere uzun süre maruz kalması ve tekrarlanan sıcaklık değişimleri, restoratif materyallerin büzülmesine ve genişlemesine neden olmakta, oral sıvıların ve suyun rezine nüfuz etmesini sağlayarak ara yüzey stabilitesini etkilemektedir

[135]. Su, difüzyon ile hidrofilik alanlara ve rezin infiltre edilmiş kollajen matrikse nüfuz edebilir veya fotopolimerizasyon sırasında matriks içinde sıkışabilir [136]. Bu artık su, kollajen ve rezin polimerlerinin hidrolizinde kullanılır, yüzey abrazyonuyla matris bozunmasını hızlandırır, yüzey alanını artırır ve hem su hem de çözünebilir tükürük enzimlerinin daha fazla girişine izin verir, bu da ester bağ hidrolizini büyük ölçüde hızlandırarak adeziv ara yüzünün başarısızlığına neden olur [50].

2.5 Adeziv Sistemlerde Enzim Aktivasyonu

MMPs enzimleri rezin infiltrasyonundan sonra dahi aktif kalabilirler [137]. Ancak, rezin-dentin ara yüzeyinde MMPs enzimlerinin aktivasyonu, total-etch ve self-etch sistemler için farklı etiyolojilere sahiptir. Ara yüzde MMPs enzimlerinin aktivasyonu, yalnızca su olmayan ortamlarda durur, yani dentin yüzeyine uygulanan adeziv, ister total etch ister self-etch sistem olsun, MMPs enzimleri su olmayan ortamlarda inaktif hale gelirler [138].

Kollajen fibriller, dentin ve kemiklerin mineralizasyonu sırasında apatit kristallerinin tutunabilmeleri için, nanometre çapında boşluklar sağlarlar [139]. Fibriller arası boşluklara apatit kristalleri yerleşmeden önce buralarda su vardır. Ancak mineralizasyon ile birlikte fibriller arasındaki su mineraller ile yer değiştirir [140].



Resim 9. [139] Kollajenin üç boyutlu şematik sunumu

(A) Farklı renklerde gösterilen üç peptid zinciri ile hidratlanmamış kollajen görüntüsü

(B) Su molekülleri (mavi küreler) ilk tabaka, peptid yüzeyi üzerinde doğrudan karbonil, hidroksil veya amid gruplarına hidrojen bağlı

(C) Su moleküllerinin ikinci tabakası, birinci tabakadaki suya hidrojen bağlı

(D) Su moleküllerinin üçüncü tabakası

Mineralize dentine, adeziv rezin infiltre olamaz. İnfiltre olabilmesi için diş dokusu asitlenerek minerallerin uzaklaştırılması gereklidir. Minerallerin asit etching ile ortamdan uzaklaştırılması ile kollajen fibriller arası boşluklar tekrar su ile dolar. Kollajenler arası boşluklara monomerin difüze olmasından önce buralarda su bulunması, kollajen fibrillerin çökmesinin önlenmesi açısından önemlidir [141].

Yüzey demineralizasyonundan sonra, adeziv sistemlerin ekstraselüler matrikse infiltre olması ve daha sonra polimerize edilmesi sonucunda hibrit tabakası oluşur. Rezin-dentin bağlayıcıların uzun dönemde başarılı olabilmeleri için, adezivin kollajenler arası

boşluklara uygun bir biçimde yayılması gereklidir. Diğer bir deyişle, adeziv sistemlerin uzun dönem başarısı, homojen ve güçlü hibrit tabakası oluşmasına bağlıdır. Adezivin kollajenler arası boşluklara yeteri kadar penetre olamaması sonucu [142], bu boşluklarda kollajenlere bağlı ya da serbest olarak bulunan enzimler aktif hale gelirler [53].

Dentin içerisinde bulunan MMPs enzimleri, adeziv sistemlerin asidik özellikleri sebebiyle de aktive olurlar [143]. Self-etch sistemlerin yapısındaki hafif asitler, dentindeki MMPs enzimlerini (MMP-2 ve MMP-9) aktive edebilirler [14]. Klinik olarak rutin kullanımda olan self-etch adezivlerin pH'sı genellikle 1.5-2.7 dir ve bu pH değerlerindeki adezivler, dentin yapısında bulunan enzimleri aktive ederler. Total-etch sistemlerde ise durum biraz farklıdır. Total-etch sistemlerde, adezivin kollajen boşluklarını yeteri kadar dolduramaması, buralarda serbest kalmış enzimlerin aktive olmasına sebep olur [53, 144]. 4,47 Bu aktivasyon da hibrit tabakasında bulunan kollajenlerin hidrolizine sebep olarak, bağlayıcının uzun dönem dayanıklılığını tehlikeye sokar [15, 53].

2.6 Bağlanma Dayanıklılık Testleri

Diş sert dokuları ve restoratif materyal arasında klinik anlamda kabul edilebilir bir bağlanma dayanıklılığı elde edebilmek amacıyla adeziv sistemler geliştirilmiştir. Bundan dolayı adeziv materyallerin hem fiziksel özelliklerini hem de bağlanma dayanıklılıklarını etkileyebilecek faktörleri değerlendirmek adına bağlanma dayanımı ölçümü önemli bir yer tutmaktadır [145]. Bu amaçla literatürde, kullanılan in vitro yöntemler arasında makaslama (shear), gerilim (tensile) ve mikro gerilim (micro tensile) bağlanma dayanıklılık testleri örnek olarak gösterilebilir [145, 146].

Günümüzde en sık kullanılan testler; shear ve mikrotensile bağlanma dayanım (μ TBS) testleridir. Unutulmaması gereken elde edilen bağlanma dayanım değerlerinin materyalin özelliklerini tam olarak yansıtmadığıdır [147]. Bu değerler kompozitin tipi, örnek büyüklüğü ve geometrisi, uygulanan kuvvet oranı gibi deneysel etkenlere göre değişiklik gösterebilir [148]. Bu nedenle sonuçlar karşılaştırılırken bu parametrelerin sonuçlarda farklılık yaratabileceği unutulmamalıdır [149, 150].

İdeal bağlanma dayanım testinin teknik hassasiyetinin düşük olması, uygulananın kolay ve hızlı olması gerekmektedir. Genel olarak laboratuvar testlerinin avantajları arasında test prosedürünün nispeten kolay olması, spesifik parametre ve özelliklerle ilgili veri elde etmenin hızlı olması, belirli bir parametrenin ölçülebilmesine olanak sağlaması, birçok

sayıda deneysel grubun tek bir çalışmada test edilebilir olması, yeni ve/ya da deneysel materyal/teknikğin güncel altın standart performansı ile karşılaştırılabilmesine olanak vermesi sayılabilir [149].

2.6.1 Mikrogerilim Bağlanma Dayanımı (μ GBD) Testi

Mikrogerilim test yöntemi, dentinin elastik modülünü ve bağlanma dayanımını ölçer [151]. Mikrogerilim bağlanma dayanım (μ GBD) testi, makro testlerin sağlayamadığı avantajları sağlar. Labaratuvarında örneklerin küçük çaplarda hazırlanarak, bağlanma dayanımlarının bu küçük parçalara göre değerlendirilmesi, dişten kaynaklanan yapısal farklılıkların incelenmesine de olanak sağlar [152-154]. μ GBD testi, düz okluzal yüzeylerde hazırlanan kompozit bloklara uygulanır. Örneklerin çaplarına bağlı olarak her dişten farklı sayıda numune elde edilebilir [155]. Bağlanma yüzeyi, makro testlere göre çok küçük yüzeylerde değerlendirilir. Aynı dişten çok sayıda örnek elde edilerek ölçüm yapılabilir. Çekilmiş dişin farklı dentin yüzeylerinde bölgesel farklılıklar araştırılabilir. Geleneksel shear ve tensile testlerinde yüksek bağlanma dayanım değerleri elde edilebilirken, μ GBD testlerinde küçük yüzeylere daha düzgün stres dağılımı [156, 157] sağlanarak, makro testlerde elde edilen değerlerden daha düşük bağlanma dayanım değerleri elde edilir. Ayrıca, μ GBD çalışmaları restoratif materyalin adezyonu ve reçine bağlayıcıların uzun dönem durabiliteleri ile ilgili çok yönlü bilgi sağlar [158]. Mikrogerilim testinde, çubuk şeklinde ki örnekler İsomat cihazında, elmas disklerle, yüksek hızda ve su soğutması altında hazırlanır. Hazırlanan örneklerin uzunluğu ortalama 10-24 mm arasında olmalıdır. Bu uzunluğun yarısı diş yapısı, diğer yarısı restoratif materyaldir. Uzunluğu 4 mm den küçük olan örnekler çekme testinde kullanılamaz [159].

2.7 Yüzey Görüntüleme Yöntemleri

2.7.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope-SEM)

Taramalı elektron mikroskobu preperasyon yapılmış mine ve dentin yüzeyinin mikro yapısını gözlemlenmede kullanılır. Diş yüzeyinin doğal kimyasal yapısı ve topoğrafik özellikleri incelenebilmektedir. Bu işlem için yüzeyi incelenecek numunenin kurutulması ve altın ile kaplanması gerekmektedir [160].

Taramalı Elektron Mikroskobunda (SEM) numune yüzeyinde 1-10 nm yarıçaplı bir noktaya 1-10 keV'luk birincil elektron enerjili elektron demeti bir lens sistemi yardımı ile odaklanır. Odaklanan demet bir optiksel gösteri olarak kullanılan video tübün elektron

demeti ile aynı anda bir saptırıcı halka sistemi numuneyi dikdörtgensel olarak boydan boya tarar. İki demet aynı tarayıcı jeneratör ile kontrol edilir. Büyütme, numune yüzeyi üzerinde taranan alan ve görüntülemenin büyüklük oranıdır. Çeşitli sinyaller, ikincil elektronlar, geri saçılan elektronlar, x-ışınları ve numune akımı ile toplanabilir. Sinyalin iki boyutlu haritası bir SEM görüntüsü sağlar. Başlıca SEM uygulamaları yüzey topografisi ve elementsel haritalamadır [160].

Sonuç olarak, EDC, MMP inhibe edici özelliklere sahip bir kollajen çapraz bağlayıcı olarak tarif edilmiştir. Çapraz bağlayıcıların potansiyeli, kollajen ağının mekanik olarak dayanımını, enzimatik degradasyona karşı direncini artırma ve matris kollajenine bağlı açığa çıkmış MMP'leri inaktive etme olasılığı ile ilgilidir. EDC, kollajen matrisinin mekanik özelliklerini artırarak rezin dentin bağlarının dayanıklılığını etkin bir şekilde artırır. EDC'nin dental adezyon üzerindeki etkisine ilişkin araştırmaların çoğu, etch-and-rinse adezivler kullanılarak yapılmıştır. Bununla birlikte, EDC'nin son yıllarda piyasaya çıkan universal adezivlerin bağlanma dayanımı üzerindeki etkisi değerlendirilmelidir.

Çalışmamızın hipotezleri şunlardır:

Hipotez 1: EDC solüsyonuyla yüzey tedavisinin iki farklı universal adezivin erken ve geç dönem dentine bağlanma dayanımları üzerinde etkisi yoktur.

Hipotez 2: Test edilen iki universal adeziv arasında dentine bağlanma dayanımı bakımından fark yoktur.

Hipotez 3: Universal adezivlerin etch-and-rinse ve self-etch modunda uygulanma dentine bağlanma dayanımı üzerinde etkisi yoktur.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından, 24.11.2017 tarih ve 2017/534 protokol numarası ile onaylanmıştır (Ek-1). Çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar ve Projeler Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No. 2018-7903).

3.1 Kullanılan Materyaller

Kullanılan materyaller ve içerikleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Kullanılan materyaller ve içerikleri

Materyal	Üretici Firma	Üretici Talimatları	İçerik	LOT NO
EDC	Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany		1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid hidroklorür	BCBW2261
Filtek Bulk Fill Posterior Kompozit	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	4 mm kalınlıkta yerleştirilip 20 sn polimerize edilmiştir.	AUDMA, UDMA ve 1,12-dodecane-DMA, 20nm silika partikülleri, 4-11 nm zirkonyum partikülleri	N853695
Single Bond Universal	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	E&R modu için asit etch 15 sn dentin yüzeyine uygulanmıştır, 15 sn yıkanmıştır ve hava spreyiyle kurutulmuştur. Aplikatör yardımıyla 20 sn diş yüzeyine aktif olarak uygulanmıştır, 5 sn çözelti buharlaşana kadar hava akımı uygulanmıştır, 10 sn boyunca polimerize edilmiştir.	MDP Phosphate Monomer, Dimethacrylate resins, HEMA, Vitrebond™ Copolymer, Filler, Ethanol, Water, Initiators, Silane pH: 2,7	3424447
Clearfil Universal Bond	Kuraray, Noritake, Japan	E&R modu için asit etch 15 sn dentin yüzeyine uygulanmıştır, 15 sn yıkanmıştır ve hava spreyiyle kurutulmuştur. Aplikatör yardımıyla 10 sn diş yüzeyine aktif olarak uygulanmıştır, 5 sn çözelti buharlaşana kadar hava akımı uygulanmıştır, 10 sn boyunca polimerize edilmiştir.	10 MDP, Bis-GMA, camphorquinone, Dimethacrylate resins, HEMA, Ethanol, Water, Silane, Fillers, Initiators pH: 2,3	9P0031

3.2 Örnek Hazırlığı

Çalışmada Temmuz 2018'den en geç 6 ay öncesine kadar çekilmiş 80 adet çürüksüz insan üçüncü molar dişi kullanıldı. Dişler çekildikten sonra üzerindeki debris ve yumuşak doku artıkları kretuvar yardımıyla uzaklaştırıldı. Dişler deney gününe kadar distile su içerisinde saklandı [161].

Düzgün okluzal dentin yüzeyi oluşturmak için, su soğutması altında trim makinasında dişlerin okluzal mine dokuları uzaklaştırıldı. Açığa çıkan dentin dokusu üzerinde standardize bir smear tabakası oluşturmak için su altında #180, 320, 600 gritlik silkon karbit zımpara (BueHTer, Lake Bluff, IL) kullanıldı. Hazırlanan dişler okluzal yüzeyleri tabana paralel olacak şekilde mine-sement sınırının yaklaşık 1 mm altından dairesel hazırlanmış kalıplar içerisinde kendiliğinden sertleşen akrilik rezin (İntegra) içine gömüldü.

EDC solüsyonu aşağıdaki gibi hazırlanmıştır:

1M EDC (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany) (Şekil 10) çözeltisi, 958 mg EDC'nin %70'lik aseton içerisinde (pH 6.0) çözülmesiyle hazırlandı [162, 163].

Örnekler daha sonra her grupta 10 örnek olacak şekilde aşağıdaki 8 gruba rastgele ayrıldı.

Grup 1: Asit etch (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) 15 sn dentin yüzeyine uygulanıp, 15 sn yıkandı ve hava spreyle kurutuldu. Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) (Şekil 11) üretici talimatları doğrultusunda (Tablo 1) uygulandı.

Grup 2: Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) üretici talimatları doğrultusunda (Tablo 1) dentin yüzeyine asit etch uygulanmadan self-etch modunda uygulandı.

Grup 3: Asit etch (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) 15 sn dentin yüzeyine uygulanıp, 15 sn yıkandı ve hava spreyle kurutuldu. 1 M EDC asetonlu solüsyonu aplikatör yardımıyla 1 dk dentin yüzeyine uygulandı ve ardından 5 sn havayla kurutuldu. Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) üretici talimatları doğrultusunda (Tablo 1) uygulandı.

Grup 4: 1 M EDC asetonlu solüsyonu aplikatör yardımıyla 1 dk dentin yüzeyine uygulandı ve ardından 5 sn havayla kurutuldu. Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) üretici talimatları doğrultusunda (Tablo 1) uygulandı.

Grup 5: Asit etch (Kuraray, Noritake, Japan) 15 sn dentin yüzeyine uygulanıp, 15 sn yıkandı ve hava spreyiyle kurutuldu. Clearfil Universal Bond (Kuraray, Noritake, Japan) (Şekil 12) üretici talimatları doğrultusunda (Tablo 1) uygulandı.

Grup 6: Clearfil Universal Bond (Kuraray, Noritake, Japan) üretici talimatları doğrultusunda (Tablo 1) dentin yüzeyine asit etch uygulanmadan self-etch modunda uygulandı.

Grup 7: Asit etch (Kuraray, Noritake, Japan) 15 sn dentin yüzeyine uygulanıp, 15 sn yıkandı ve hava spreyiyle kurutuldu. 1 M EDC asetonlu solüsyonu aplikatör yardımıyla 1 dk dentin yüzeyine uygulandı ve ardından 5 sn havayla kurutuldu. Clearfil Universal Bond (Kuraray, Noritake, Japan) üretici talimatları doğrultusunda (Tablo 1) uygulandı.

Grup 8: 1 M EDC asetonlu solüsyonu aplikatör yardımıyla 1 dk dentin yüzeyine uygulandı ve ardından 5 sn havayla kurutuldu. Clearfil Universal Bond (Kuraray, Noritake, Japan) üretici talimatları doğrultusunda (Tablo 1) uygulandı.

Adeziv ve EDC solüsyonu uygulamaları için kullanılan aplikatörler her uygulamada değiştirilmiştir. Bondlanan her bir örnek LED ışık cihazı (VALO Cordless; Ultradent Products) (Şekil 13) ile üreticilerce önerilen ışık süresi doğrultusunda polimerize edildi. Cihazın ışık yoğunluğu kontrolü için Hilux radyometre (Hilux UltraPlus Curing Units, Benlioglu Dental) kullanıldı. EDC solüsyonu ve bond uygulamalarından sonra 4 mm kalınlığında Filtek Bulk-Fill Posterior kompozit (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) (Şekil 14) yerleştirildi ve 20 sn boyunca polimerize edildi.



Şekil 10. EDC



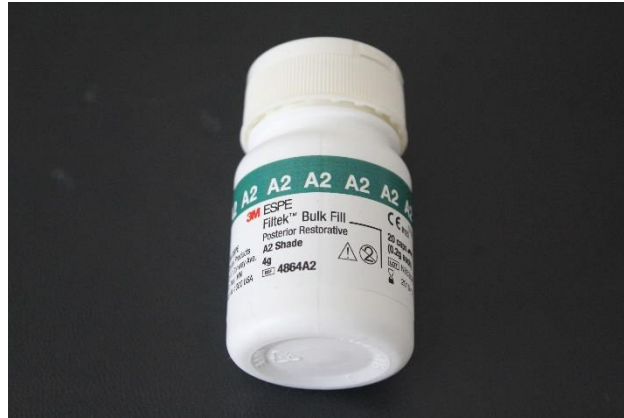
Şekil 11. Single Bond Universal



Şekil 12. Clearfil Universal Bond



Şekil 13. LED ışık cihazı



Şekil 14. Filtek Bulk Fill Posterior kompozit

Örnekler polimerizasyonun tamamlanması için 24 saat 37 ° C'de distile su içinde saklandı. Tüm gruplardaki örneklerin yarısı (erken test grubu) 24 saat 37 ° C'de distile su içinde saklandıktan sonra değerlendirilmiştir. Her gruptan geriye kalan örnekler (gecikmiş test grubu) µGBD testi öncesi 6 ay boyunca 37 ° C'de bir inkübatörde yapay tükürükte [164] saklandı. Yapay tükürük iki haftada bir değiştirildi [165]. Yapay tükürük formülasyonu Tablo 2'deki gibidir.

Tablo 2. Yapay tükürük formülasyonu

İçerik	Konsantrasyon	Kullanılan Miktar
1. CaCl ₂	1.5 mmol/L	0.166g
2. NaHCO ₃	8.2 mmol/L	0.688g
3. NaCl	4.8mmol/L	0.2805g
4. KCl	137mmol/L	10.211g
5. KH ₂ PO ₄	4mmol/L	0.5443g

Yapay tükürük hazırlandıktan sonra karışıma fosfat tamponu eklenerek pH'sı 7 olarak sabitlendi. Bu belirtilen miktarlar bir litre çözelti için verildiğinden kullanacağımız 5 litre çözelti için gerekli oranlar hesaplandı ve kimyasalların çözünebilmesi için steril distile su kullanıldı.

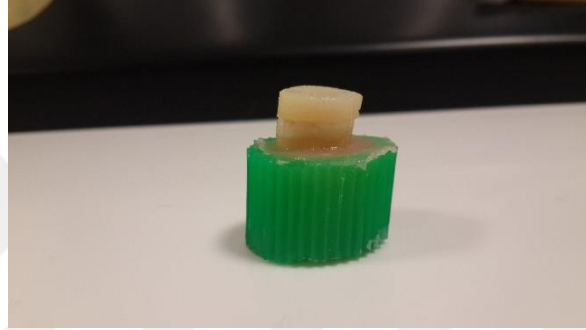
3.3 Mikrogerilim Bağlanma Dayanımı (µGBD) Testi

Hazırlanan örneklerden Minitom (Struers, Detroit Road Westlake, OH, ABD) kesme cihazıyla 0,3 mm çapındaki diskle yaklaşık 1 mm×1 mm× 8 mm boyutlarında 1 mm²'lik kompozit ve dentinden oluşan kesitler alındı. Kesitler mikrogerilim test cihazı (MTD-

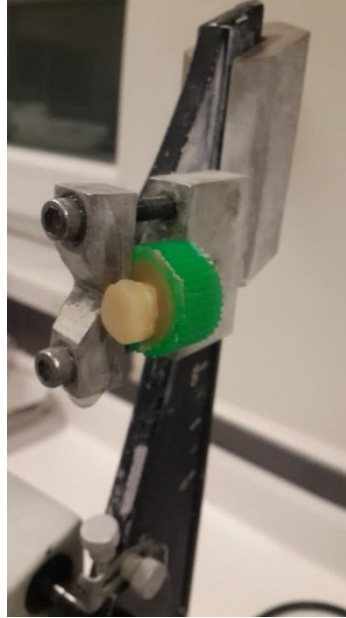
500, SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen, Almanya) üzerine monte edilebilen bir metal aparata yapıştırıcı (502 Super Glue, Evo-Bond Group, Taiwan) ile yapıştırıldı ve 1 mm/dk hızda [166] tensal kuvvetlerine maruz bırakıldı. Restorasyonların kopma değerleri tensal cihazının kendi yazılım programı (MTD-500 ver. 2.0, SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen, Almanya) ile kopma anındaki kuvvet, Newton (N) olarak kaydedildi ve aşağıdaki formül kullanılarak N değerleri Megapaskal (MPa) değerlerine çevrildi:

Makaslama bağlanma dayanımı (MPa) = P / a^2

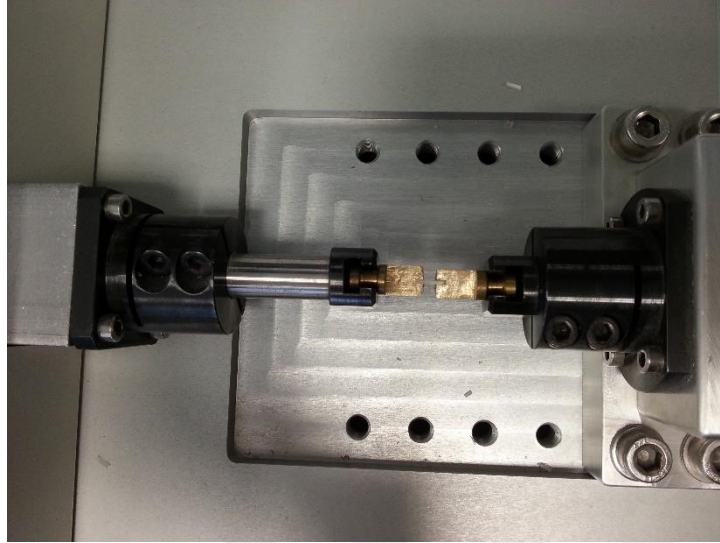
Burada P kopma anındaki kuvvet (N), a^2 ise örneklerin taban alanıdır (mm^2).



Resim 15. Hazırlanan örnek



Resim 16. Örneklerden kesit alınması



Resim 17. Örnek yerleştirilmiş Üniversal Test Cihazı

3.4 Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope-SEM) Analizi

Örneklerin kopma yüzey analizleri, SEM incelemesi, taramalı elektron mikroskobu (GeminiSEM 500, Zeiss, Almanya) ile gerçekleştirildi. SEM analizi öncesinde incelenecek numuneler alüminyum blok üzerine yapıştırıcı bir bant yardımıyla sabitlendikten sonra, numune yüzeyleri 200 Å kalınlığında altın ile kaplanıp farklı büyütme oranlarında (X70-1000) yüzey görüntüleri alındı.

Başarısızlık tipleri;

- 1- Adeziv başarısızlık, restoratif materyalin % 20 sinden daha az dentin yüzeyinde kalmışsa,
- 2- Koheziv başarısızlık, restoratif materyalin %80'inden fazlası dentin yüzeyinde kalmışsa,
- 3- Karışık (adeziv/koheziv) başarısızlık ise, dentin yüzeyinde koheziv başarısızlıktan daha az ama adeziv başarısızlıktan daha fazla restoratif materyal kalmışsa olarak tanımlandı [167].

3.5 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde, istatistiksel yazılım programından yararlanıldı (SPSS v16.0; SPSS Inc., Chicago, IL., USA). Veri dağılımının normallik varsayımının analizi için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Kullanılan adezivlerin,

EDC solüsyonunun, yaşlandırmanın ve bunlar arasındaki etkileşimin mikrogerilim bağlanma dayanımı üzerine olan etkisini incelemek için üç yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplar arası genel karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), kopma tiplerinin analizinde ise Ki-Kare testi ve test grupları arasındaki anlamlı farklılıkların tespitinde Post-hoc Tukey testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Yaşlandırma öncesi ve sonrası test gruplarının ortalama mikrogerilim bağlanma dayanımı değerleri, standart sapmaları, istatistiksel farkları ve yaşlandırma sonrası bağlanma dayanımındaki yüzdelerik düşüşü Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Yaşlandırma öncesi ve sonrası test gruplarının ortalama bağlanma dayanımı (MPa) \pm standart sapma değerleri, istatistiksel farkları ve yaşlandırma sonrası bağlanma dayanımındaki yüzdelerik düşüş

Gruplar	N (Kesit)	Erken Dönem	Yaşlandırma Sonrası	P	Bağlanma Dayanımı Düşüş
Grup 1 Single Bond Universal E & R	20	18,24(\pm 4,95) ^a	17,34(\pm 4,59) ^y	1,00	% 4,9
Grup 2 Single Bond Universal SE	20	17,48(\pm 5,70) ^a	15,06(\pm 3,92) ^{xy}	0,89	% 13,8
Grup 3 Single Bond Universal E & R +EDC	20	17,82(\pm 4,66) ^a	17,40(\pm 4,50) ^y	1,00	% 2,3
Grup 4 Single Bond Universal SE +EDC	20	18,17(\pm 4,01) ^a	17,12(\pm 4,09) ^{xy}	1,00	% 5,7
Grup 5 Clearfil Universal Bond E & R	20	14,24(\pm 1,97) ^a	13,48(\pm 2,09) ^x	1,00	% 5,3
Grup 6 Clearfil Universal Bond SE	20	15,10(\pm 3,31) ^a	14,29(\pm 4,14) ^{xy}	1,00	% 5,3
Grup 7 Clearfil Universal Bond E & R +EDC	20	15,67(\pm 5,50) ^a	14,91(\pm 3,26) ^{xy}	1,00	% 4,8
Grup 8 Clearfil Universal Bond SE +EDC	20	15,27(\pm 3,93) ^a	15,09(\pm 3,22) ^{xy}	1,00	% 1
P		0,086	0,004		

*Üslü simge "a" erken dönem gruplar arasındaki istatistiksel farkları, "x,y" geç dönem gruplar arasındaki farkları göstermektedir. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışmamızda test edilen grupların erken dönem mikrogerilim bağlanma dayanımı değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Geç dönem bağlanma dayanımı değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0,05$). Geç dönem Grup 1 ve Grup 3, Grup 5'ten istatistiksel olarak daha yüksek bağlanma dayanımı değerleri göstermiştir ($p < 0,05$).

Geç dönem bağlanma dayanımı değerleri erken dönem bağlanma dayanımı değerlerine göre tüm gruplarda sayısal olarak düşüş göstermesine rağmen test edilen grupların erken ve geç dönem bağlanma dayanımı değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Çalışmamızda EDC solüsyonunun uygulandığı grupların EDC solüsyonu uygulanmayan gruplara göre geç dönem bağlanma dayanımı değerlerinde yüzde olarak daha az düşüş gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Kullanılan üniversal adezivlere göre test gruplarının ortalama mikrogerilim bağlanma dayanımı değerleri ve standart sapmaları Tablo 4'te gösterilmiştir. Single Bond Üniversal uygulanan gruplar, Clearfil Üniversal Bond uygulanan gruplardan istatistiksel olarak erken dönem, geç dönem ve de genel olarak daha yüksek bağlanma dayanımı değerleri göstermiştir ($p<0,05$). Üniversal adezivlerin E&R ve SE modunda uygulandığı gruplarda bağlanma dayanımı değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4. Adezivlerin ortalama bağlanma dayanımı (MPa) \pm standart sapma değerleri

Adezivler	N (Kesit)	Ortalama bağlanma dayanımı (MPa) \pm Standart sapma
Clearfil Üniversal Bond E & R	80	14.57 ($\pm 3,53$) ^a
Clearfil Üniversal Bond SE	80	14.93 ($\pm 3,62$) ^a
Single Bond Üniversal E & R	80	17.70 ($\pm 4,60$) ^b
Single Bond Üniversal SE	80	16.96 ($\pm 4,56$) ^b

**Üslü simge küçük harfler sütunlar arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir.*

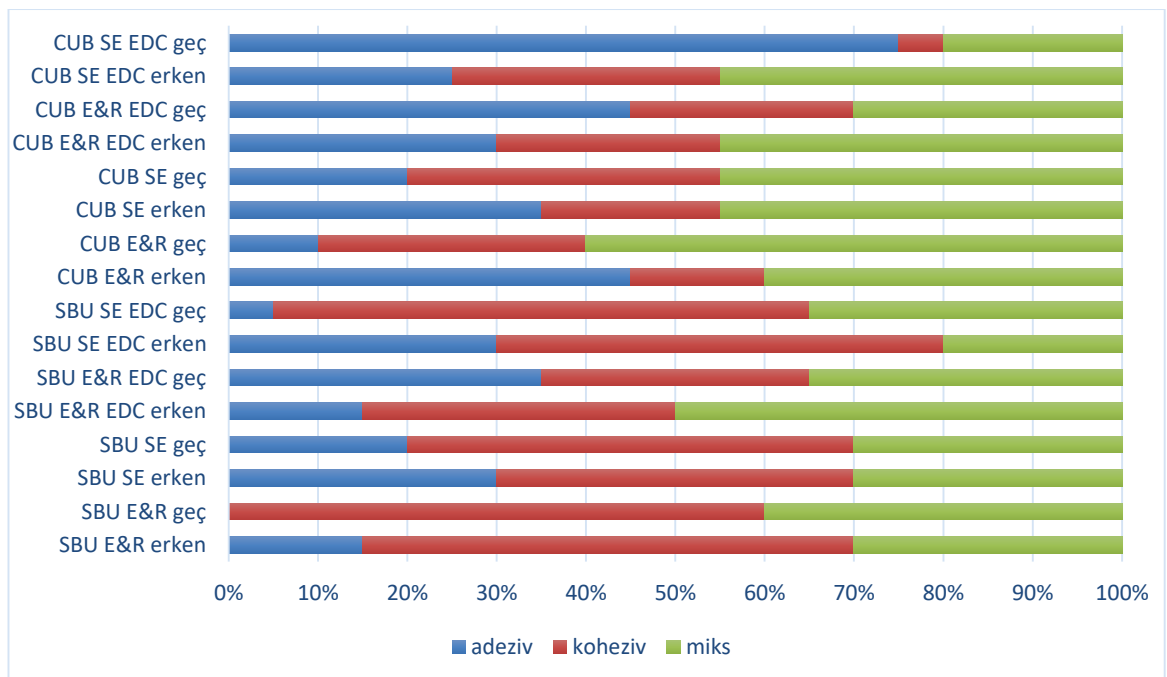
Çalışmamızda, üç yönlü varyans analiz sonucuna göre de uygulanan üniversal adeziv sistem, bağlanma dayanım değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilemişken ($p<0,05$), EDC ve yaşlandırma istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilememiştir ($p>0.05$).

Gruplarda görülen kopma tipleri ve dağılımı Tablo 5 ve Resim 18'de gösterilmektedir. Grupların kopma tipleri dağılımı arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Yapılan inceleme sonunda; en fazla gözlenen kopma tipi miks (%37,5), bunu takiben sırasıyla koheziv (%35,31) ve adeziv kopmadır (%27,18). Erken dönem gruplar

arasında en fazla görülen kopma tipi miks (%38,12), bunu takiben sırasıyla koheziv (%33,75) ve adeziv (%28,12) kopma iken; geç dönemde gruplar arasında görülen kopma tipleri miks ve koheziv (%36,87) eşit sayıda olmak üzere bunları takiben adeziv (%26,25) kopmadır.

Tablo 5. Grupların kopma tipleri

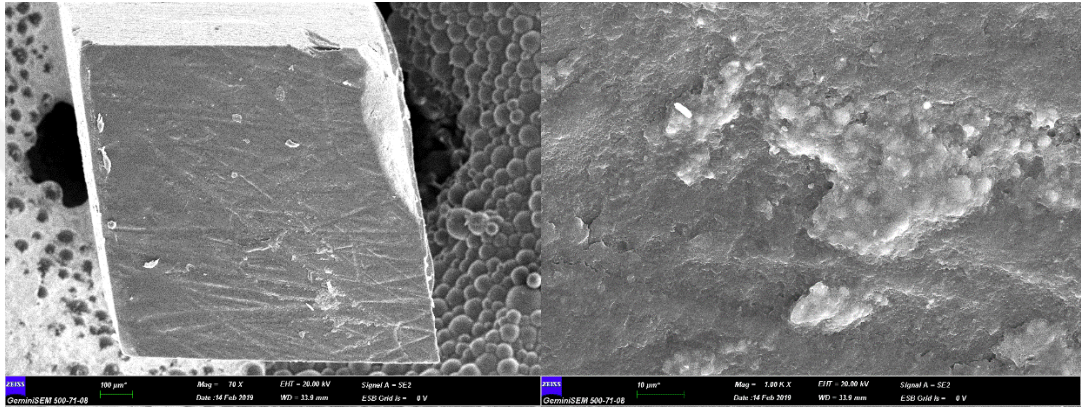
	Gruplar	Adeziv		Koheziv		Miks	
		Erken	Geç	Erken	Geç	Erken	Geç
1	Single Bond Universal E & R	3	0	11	12	6	8
2	Single Bond Universal SE	6	4	8	10	6	6
3	Single Bond Universal E & R +EDC	3	7	7	6	10	7
4	Single Bond Universal SE +EDC	6	1	10	12	4	7
5	Clearfil Universal Bond E & R	9	2	3	6	8	12
6	Clearfil Universal Bond SE	7	4	4	7	9	9
7	Clearfil Universal Bond E & R +EDC	6	9	5	5	9	6
8	Clearfil Universal Bond SE +EDC	5	15	6	1	9	4



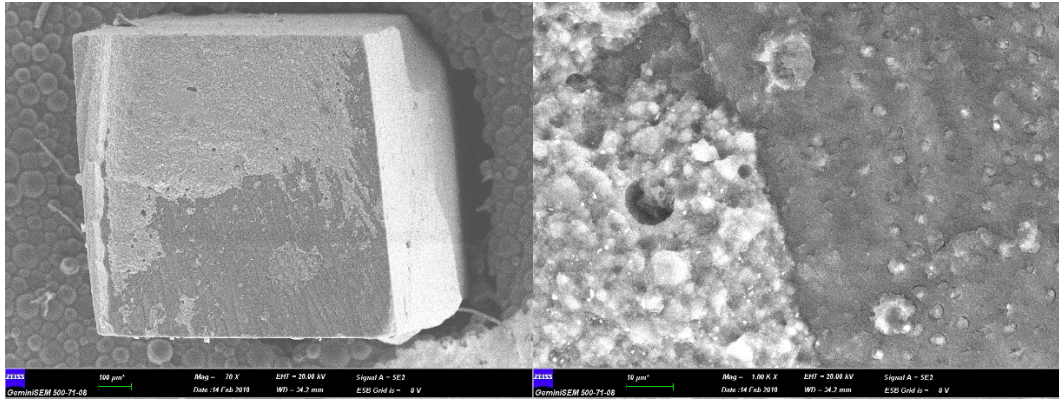
Resim 18. Örneklerde oluşan kopma tiplerinin yüzdelik dağılımı

Single Bond Universal uygulanan grupların kopma tipleri analiz edildiğinde en fazla gözlenen kopma tipi koheziv (%47,5), bunu takiben sırasıyla miks (%33,75) ve adeziv (18,75) kopmadır. Clearfil Universal Bond uygulana gruplarının kopma tipleri analiz edildiğinde en fazla gözlenen kopma tipi miks (%41,25), bunu takiben sırasıyla adeziv (%35,62) ve koheziv (%23,12) kopmadır.

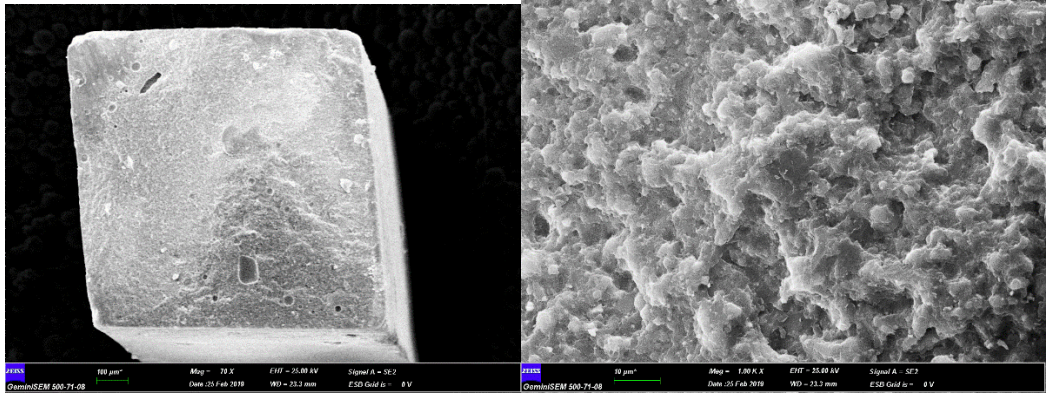
4.1 Sem Görüntüleri



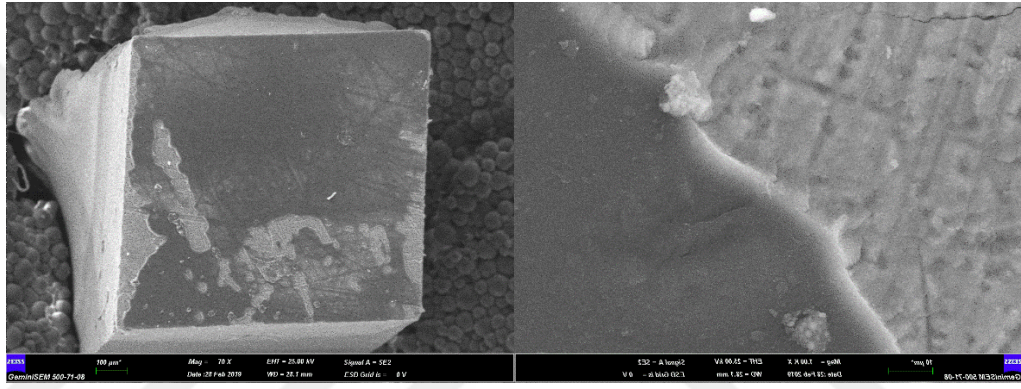
Resim 19. Clearfil Universal Bond E & R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



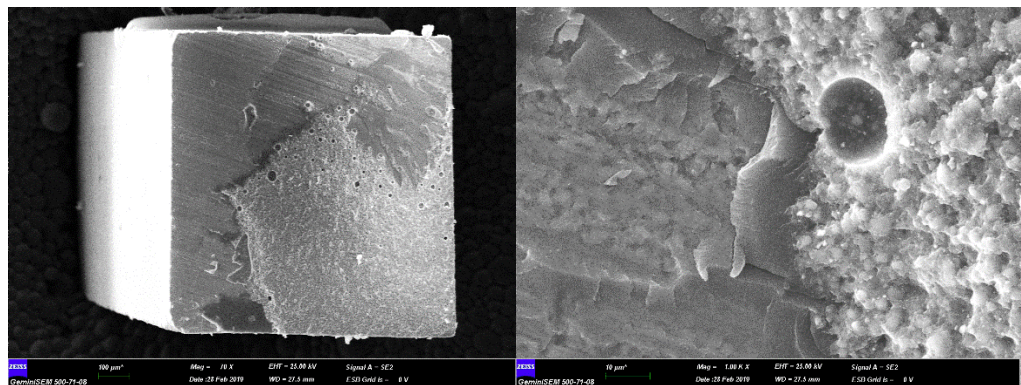
Resim 20. Clearfil Universal Bond E & R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



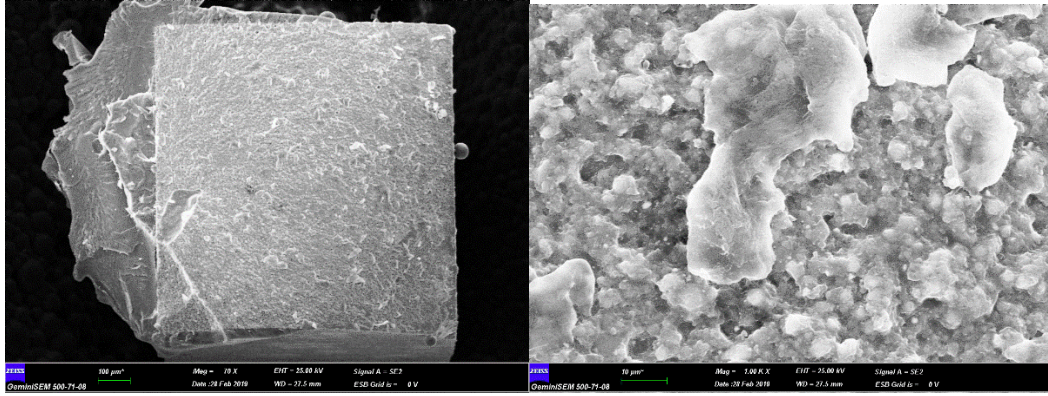
Resim 21. Clearfil Universal Bond E & R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



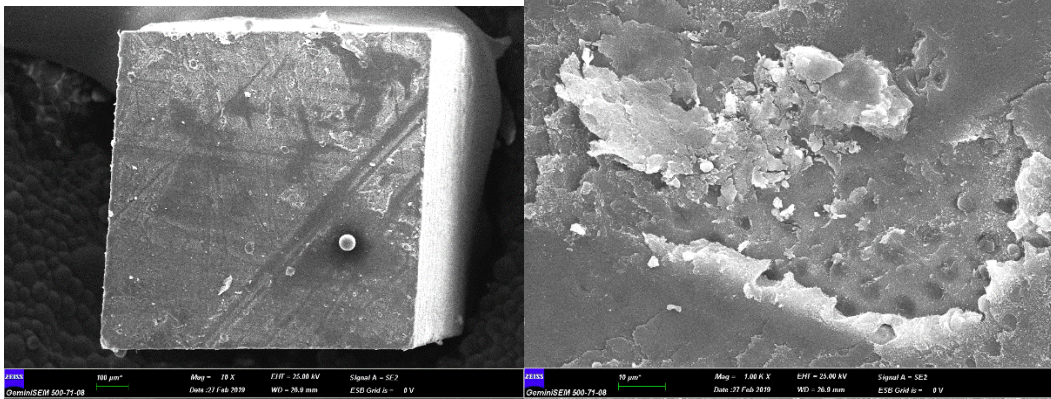
Resim 22. Clearfil Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



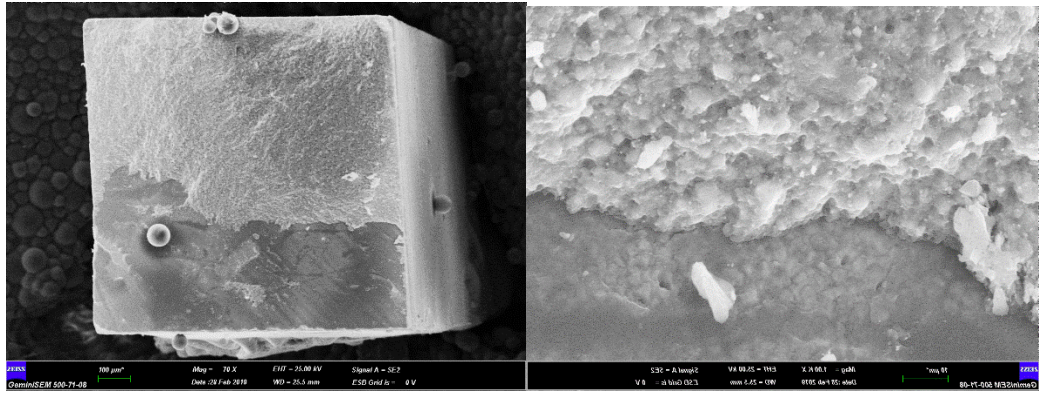
Resim 23. Clearfil Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



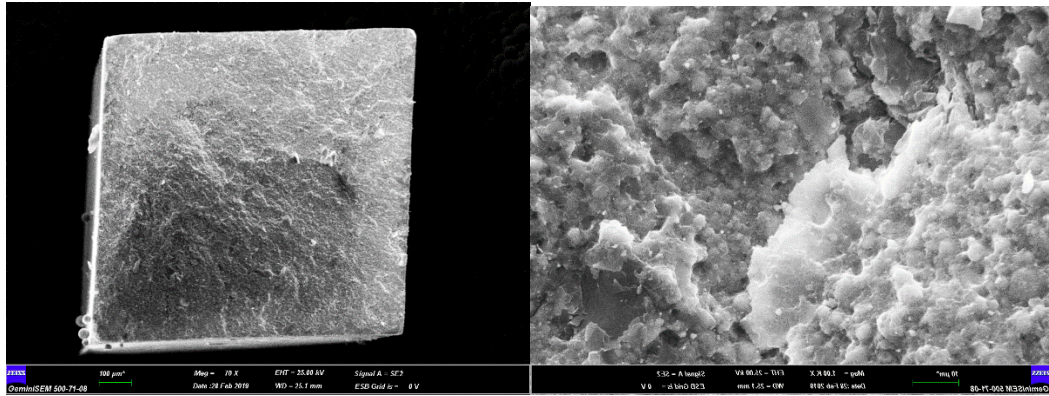
Resim 24. Clearfil Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



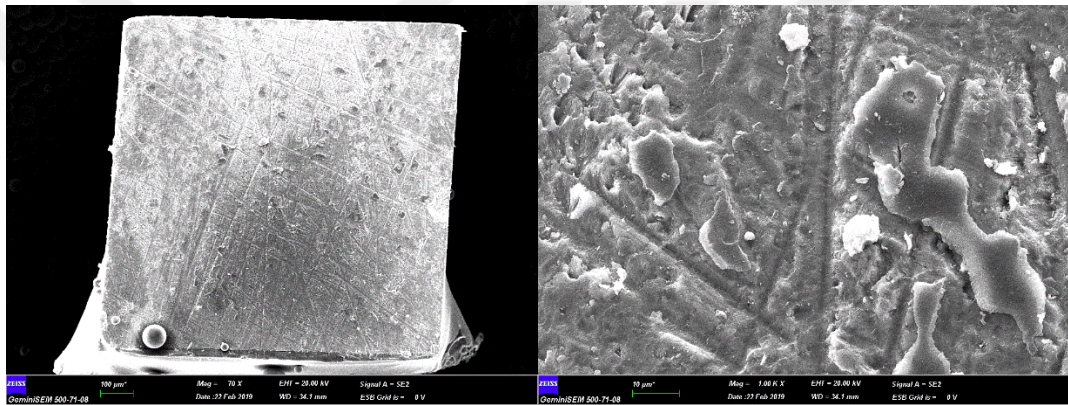
Resim 25. Clearfil Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



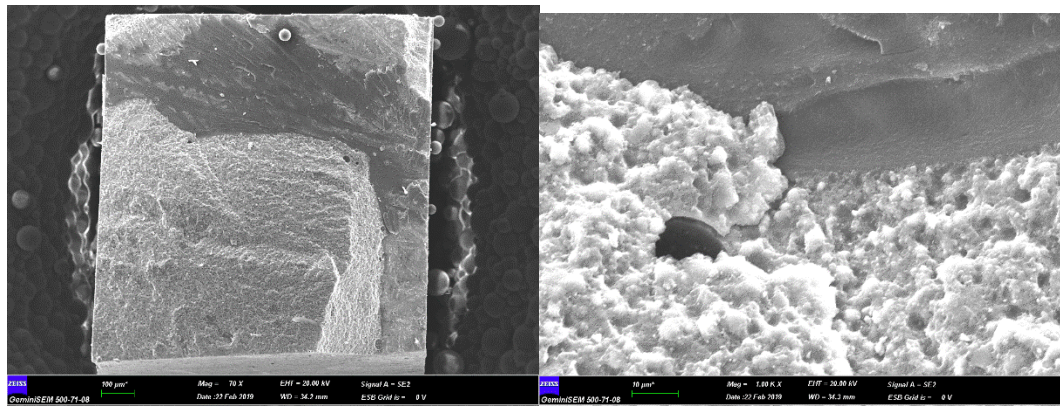
Resim 26. Clearfil Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



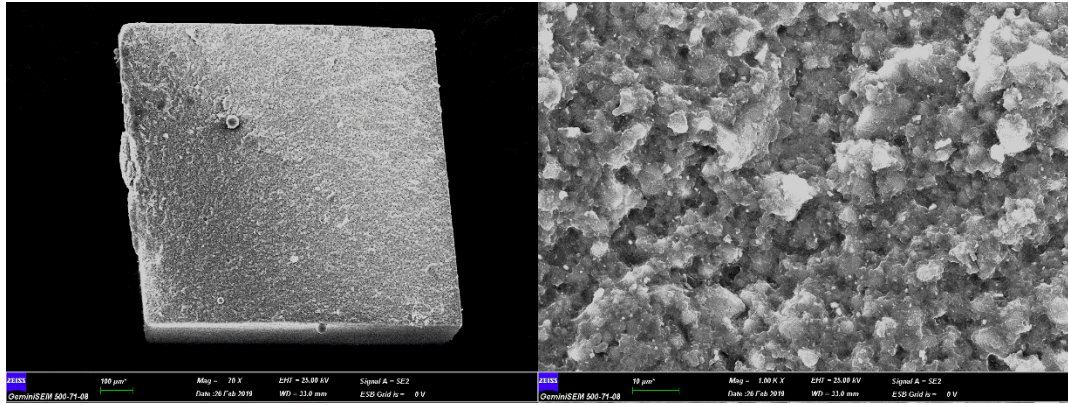
Resim 27. Clearfil Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



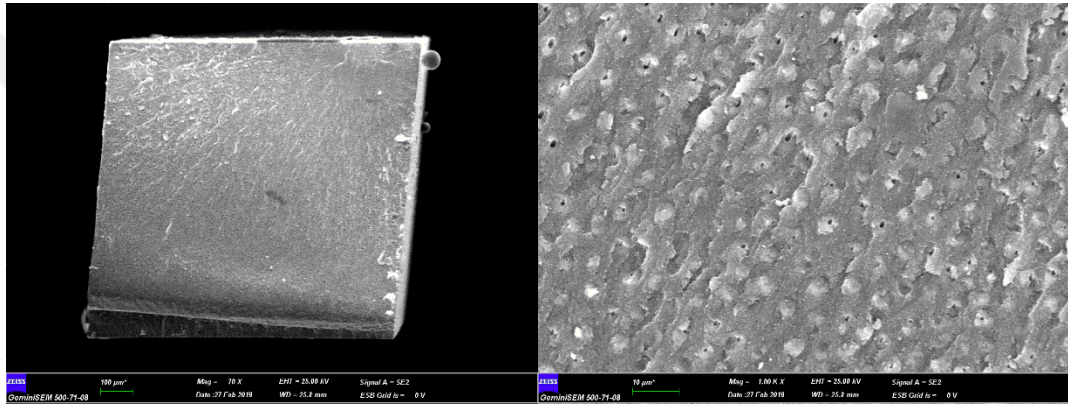
Resim 28. Clearfil Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



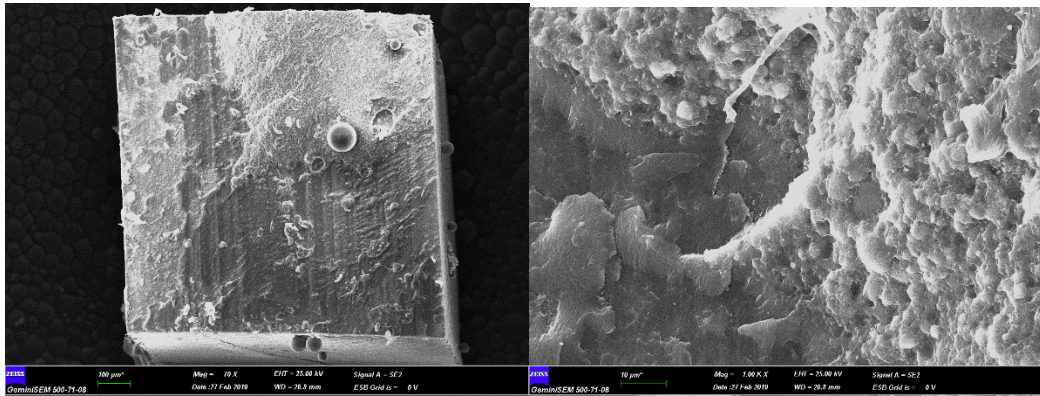
Resim 29. Clearfil Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



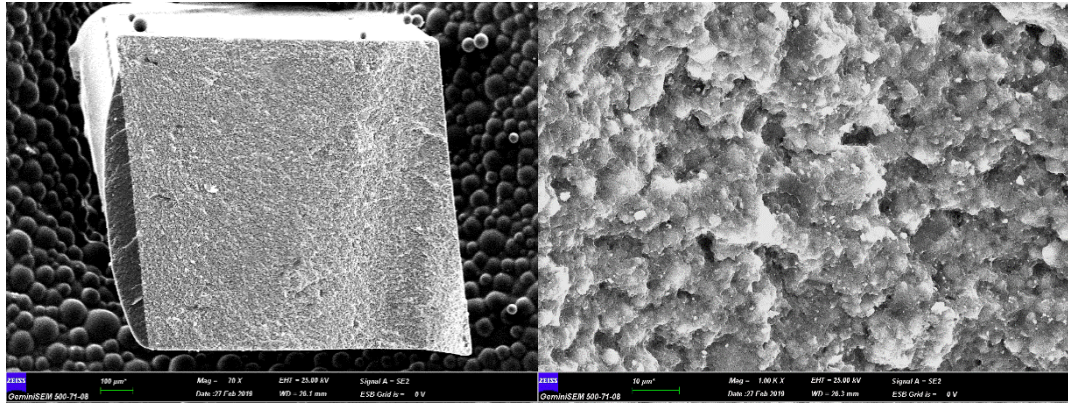
Resim 30. Clearfil Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



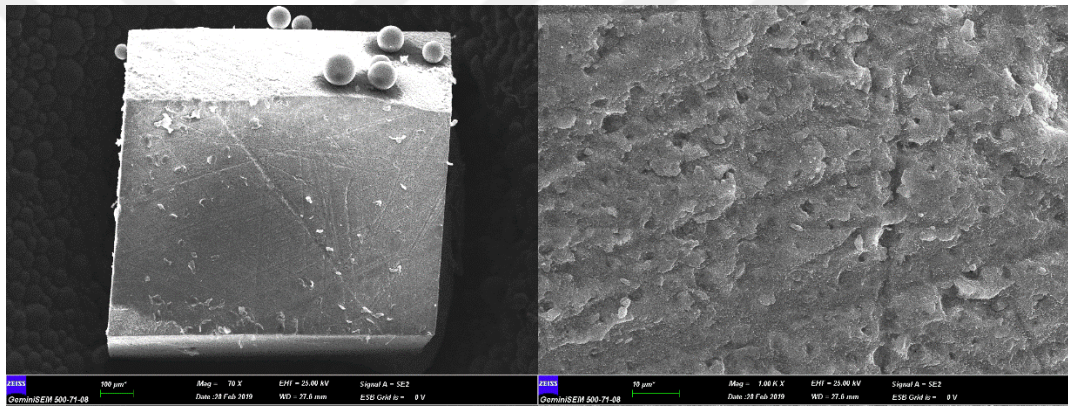
Resim 31. Single Bond Universal E&R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



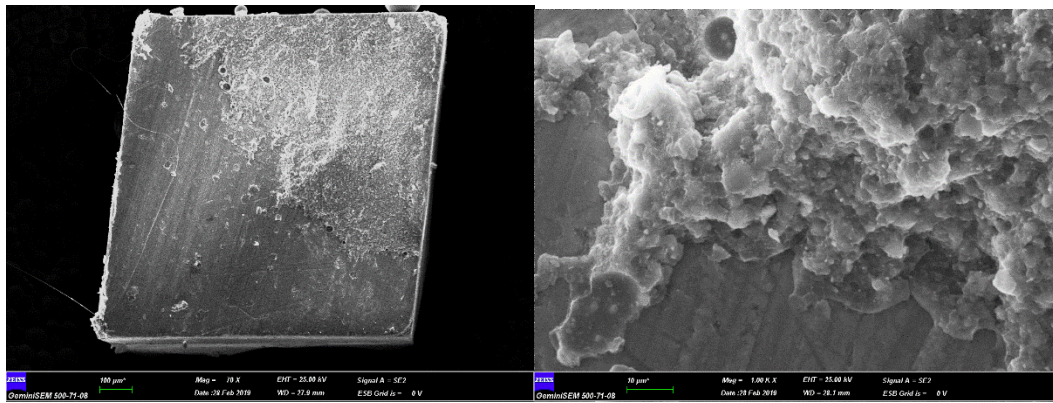
Resim 32. Single Bond Universal Bond E&R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



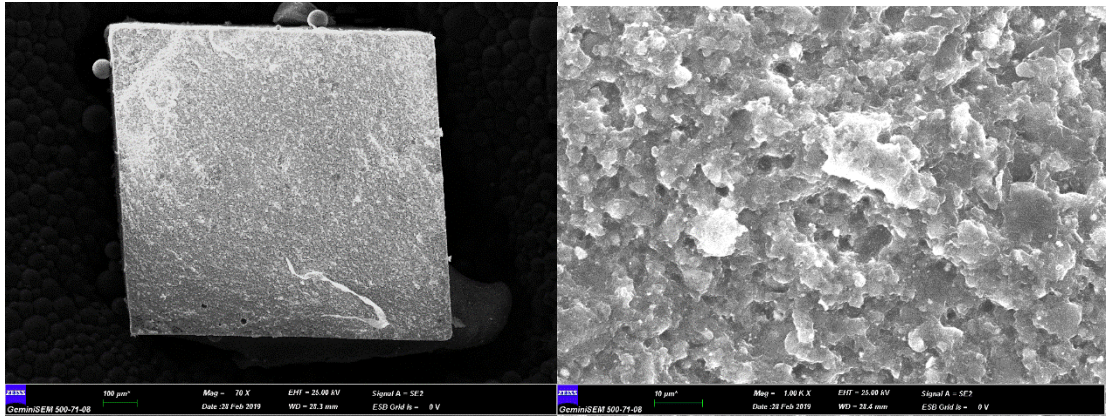
Resim 33. Single Bond Universal Bond E&R grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



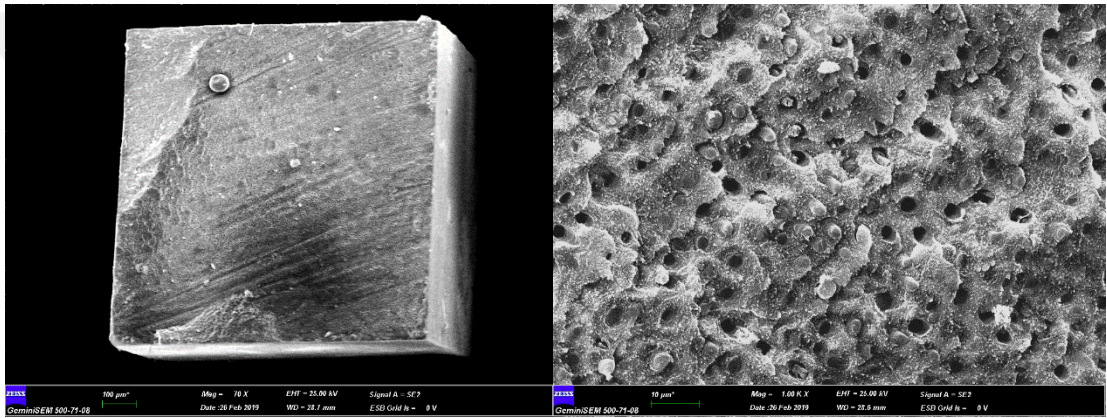
Resim 34. Single Bond Universal SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



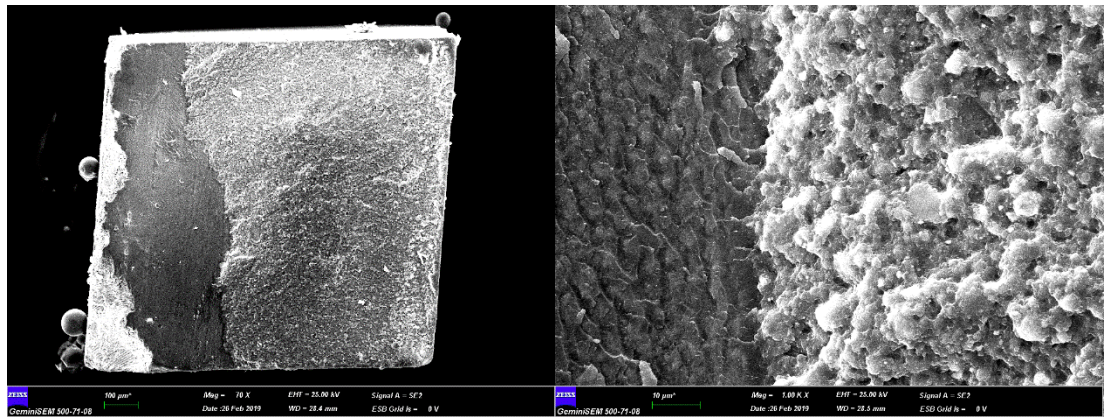
Resim 35. Single Bond Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



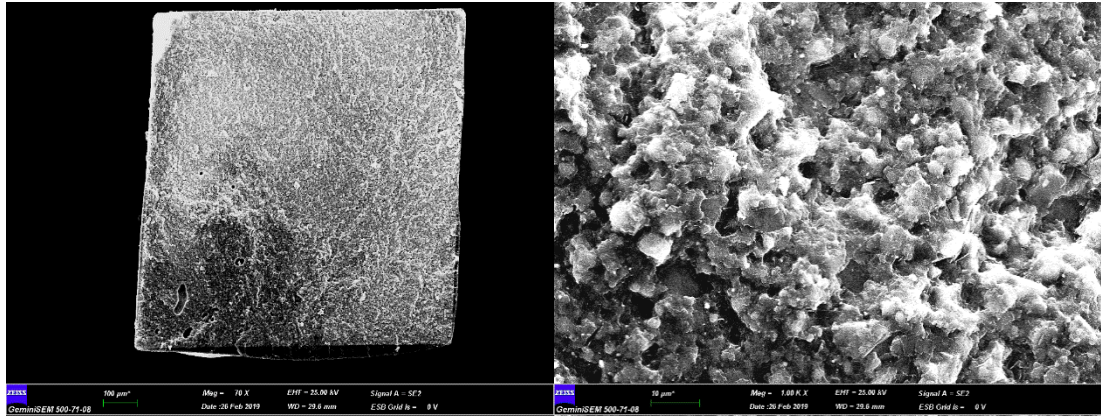
Resim 36. Single Bond Universal Bond SE grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



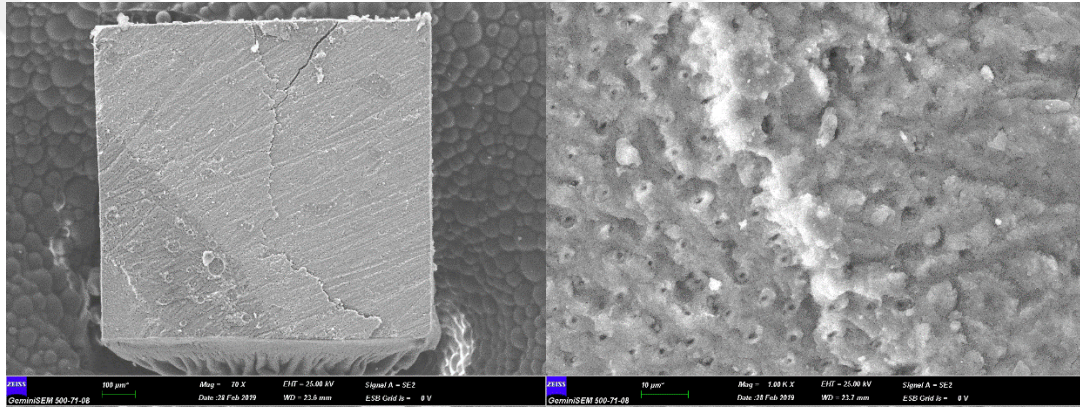
Resim 37. Single Bond Universal E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



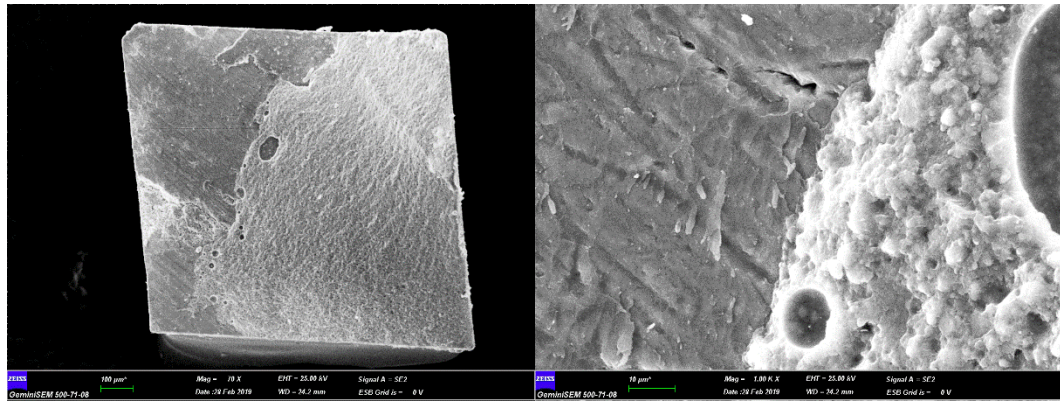
Resim 38. Single Bond Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



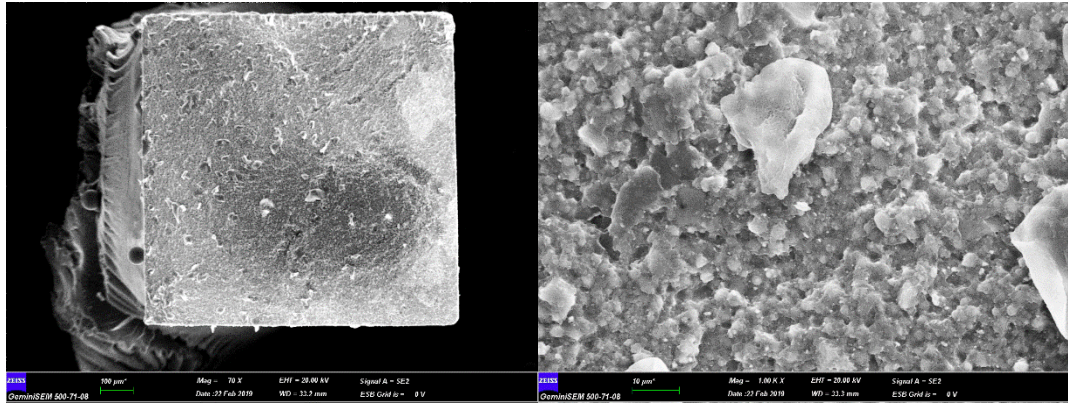
Resim 39. Single Bond Universal Bond E&R EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



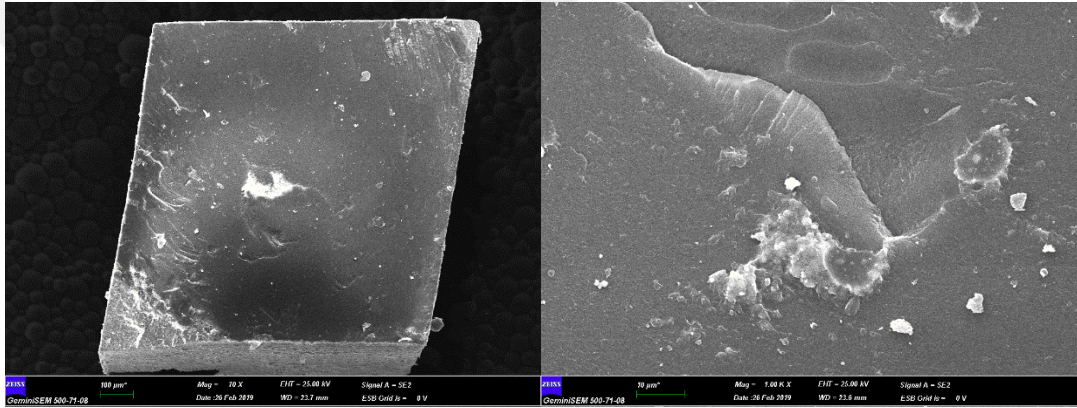
Resim 40. Single Bond Universal SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



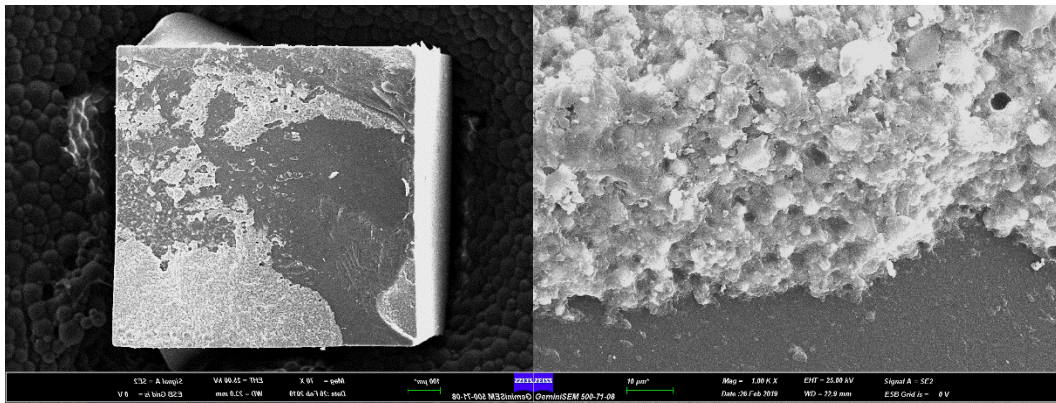
Resim 41. Single Bond Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



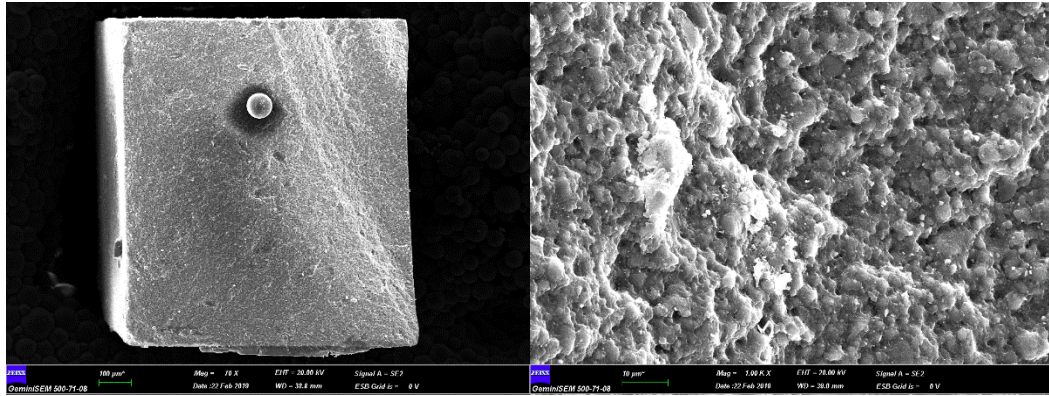
Resim 42. Single Bond Universal Bond SE EDC grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



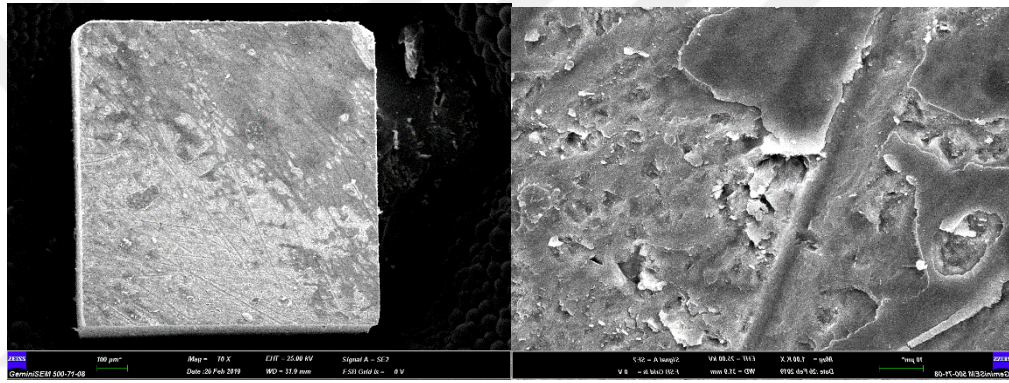
Resim 43. Clearfil Universal Bond E & R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



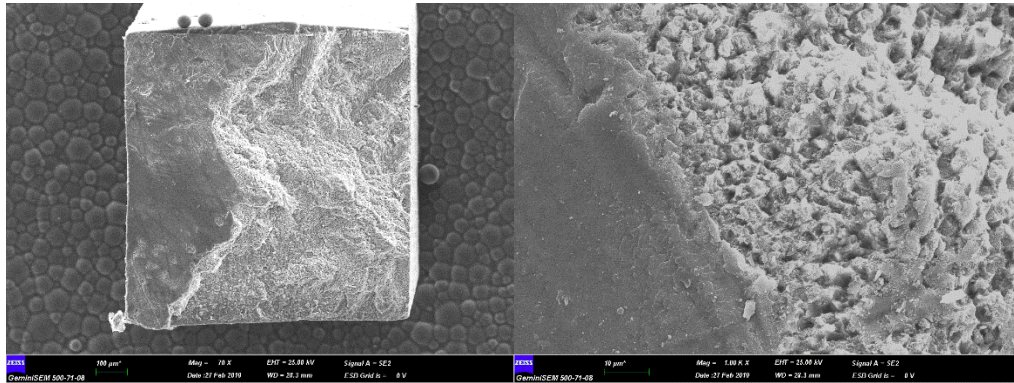
Resim 44. Clearfil Universal Bond E & R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



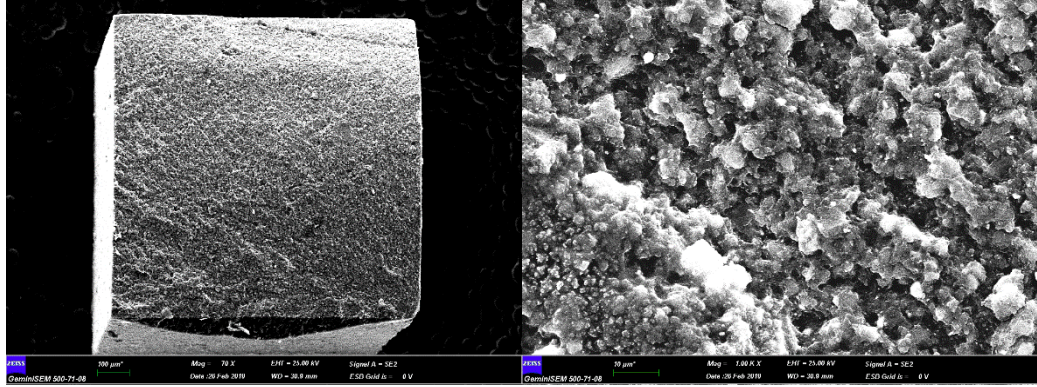
Resim 45. Clearfil Universal Bond E & R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



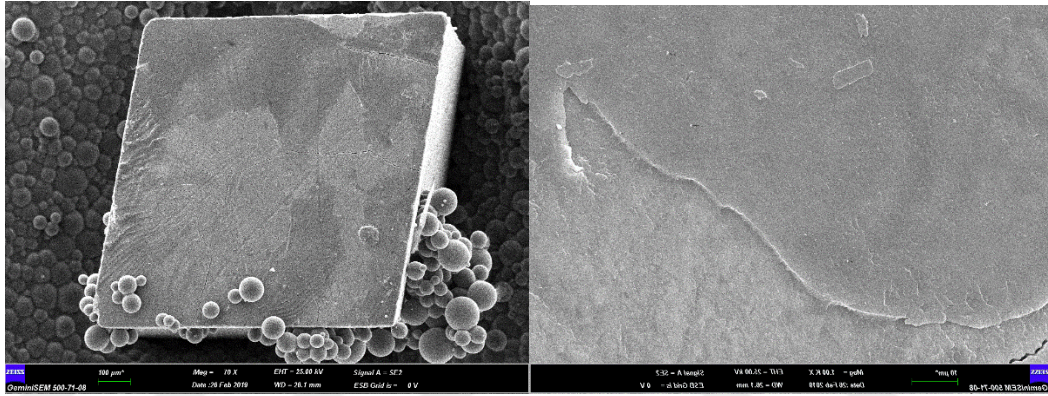
Resim 46. Clearfil Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



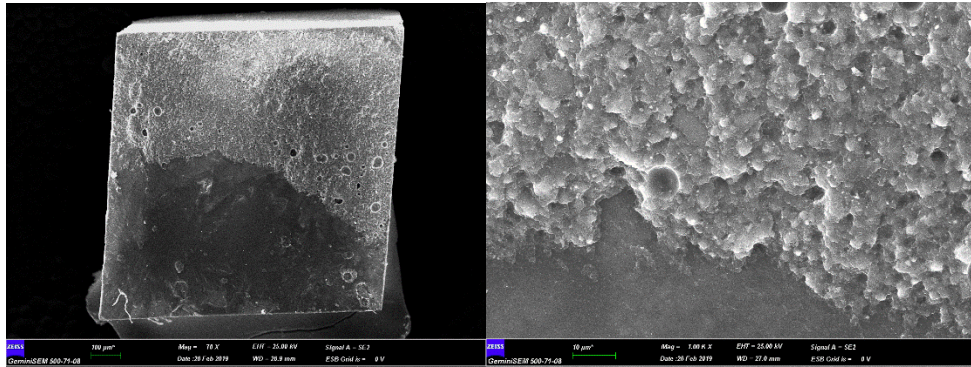
Resim 47. Clearfil Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



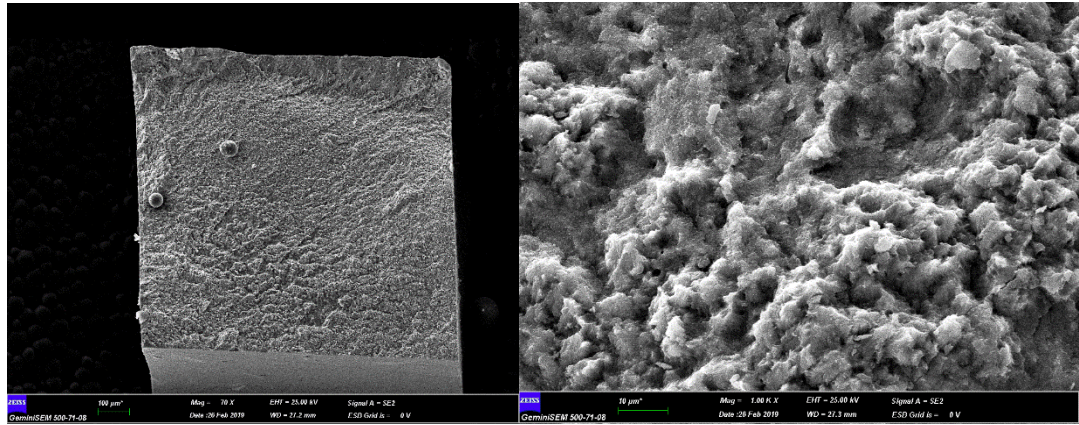
Resim 48. Clearfil Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



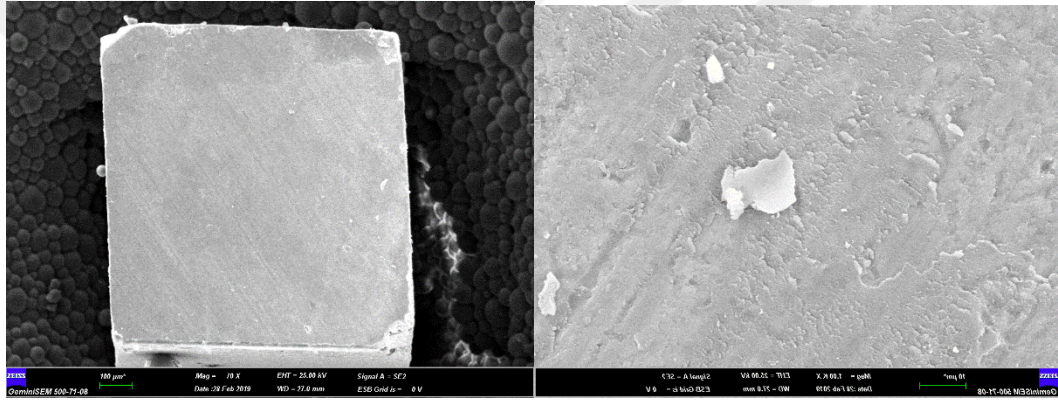
Resim 49. Clearfil Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



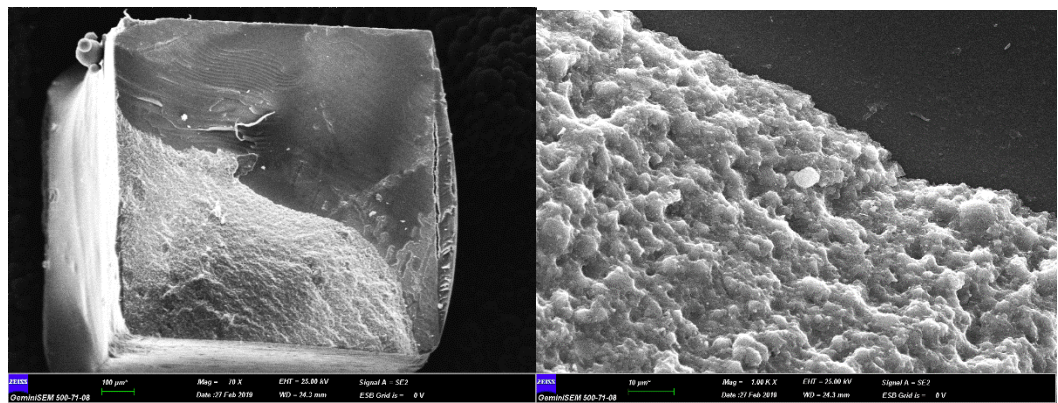
Resim 50. Clearfil Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



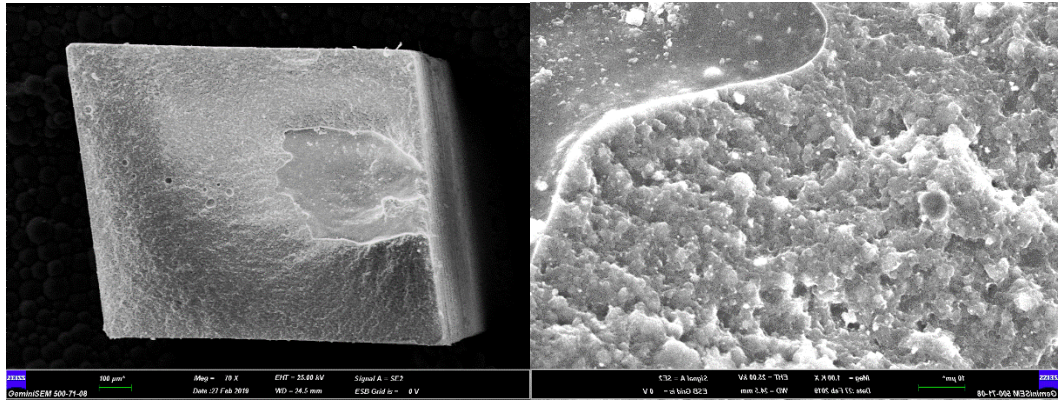
Resim 51. Clearfil Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



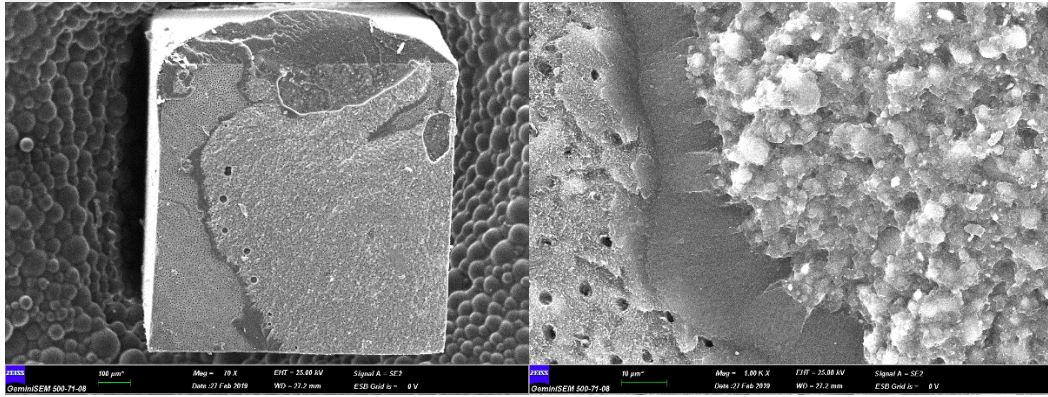
Resim 52. Clearfil Universal Bond SE EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



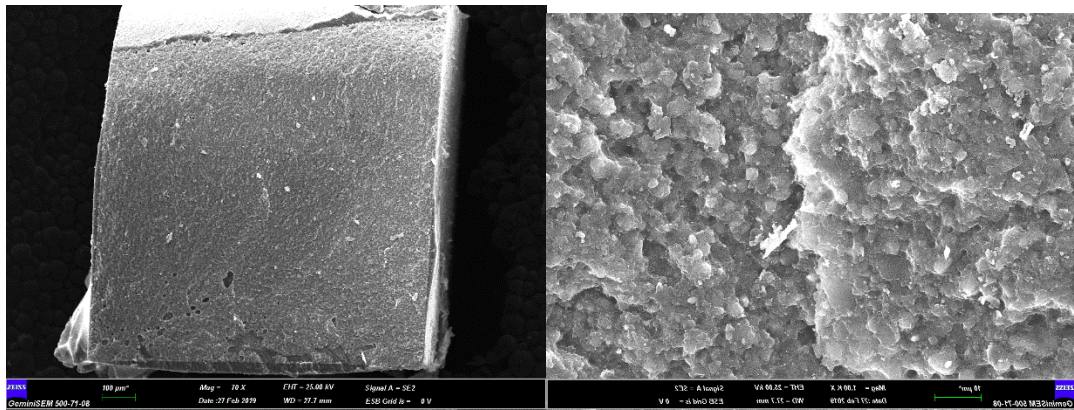
Resim 53. Clearfil Universal Bond SE EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



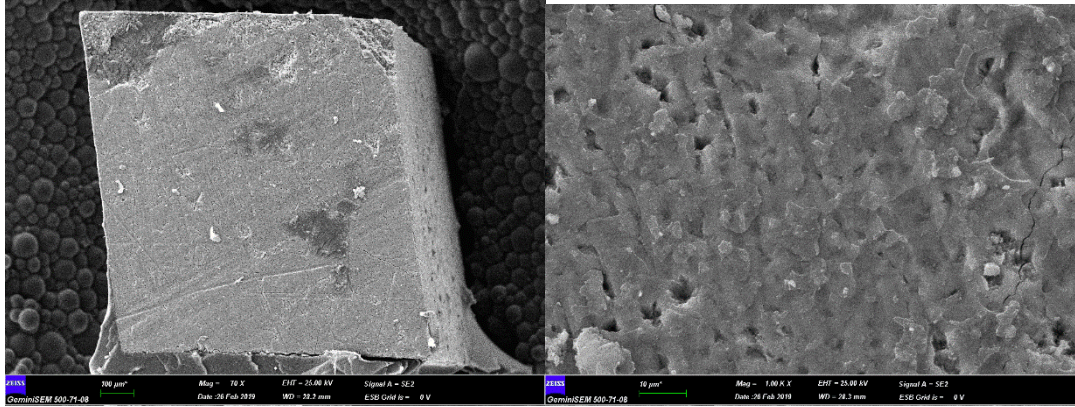
Resim 54. Clearfil Universal Bond SE EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



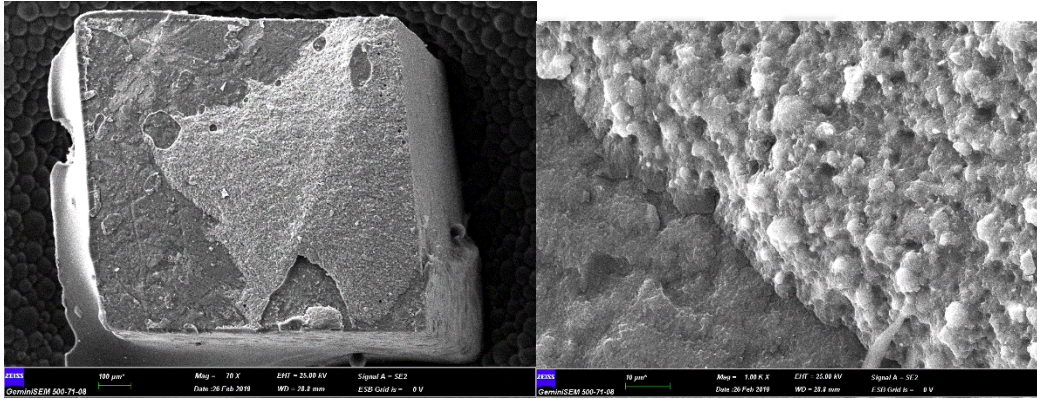
Resim 55. Single Bond Universal Bond E&R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



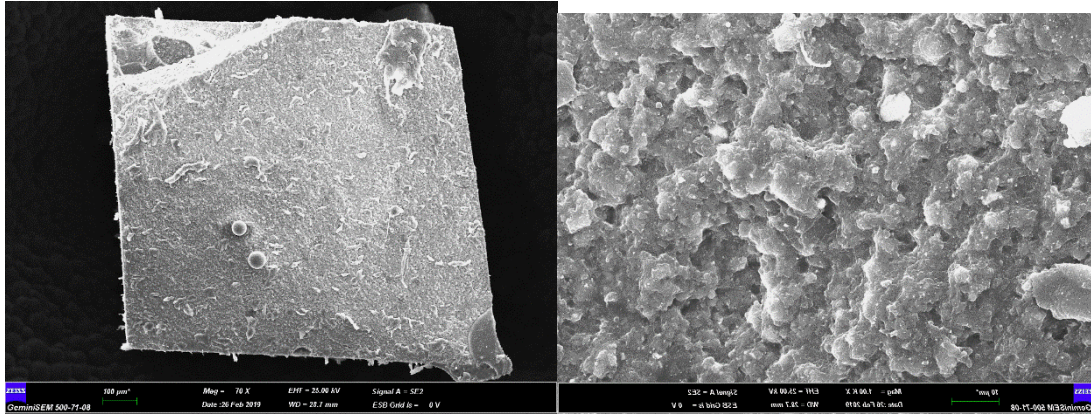
Resim 56. Single Bond Universal Bond E&R 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



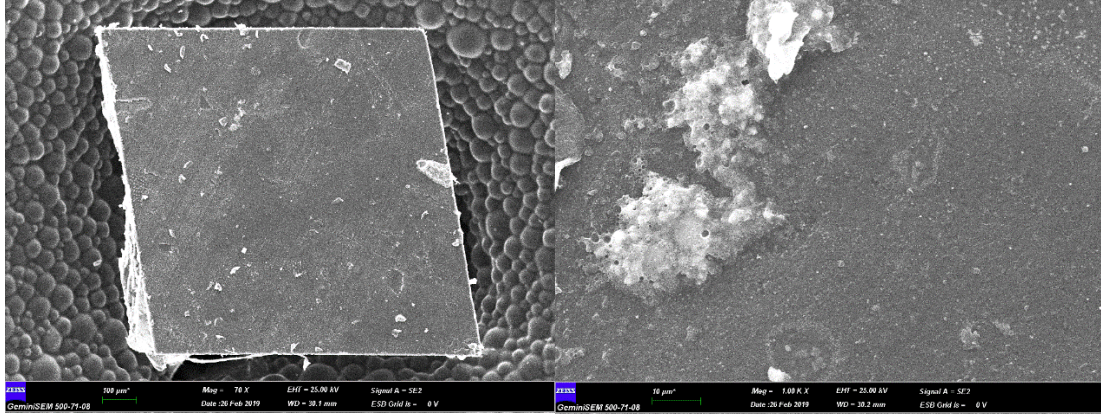
Resim 57. Single Bond Universal SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



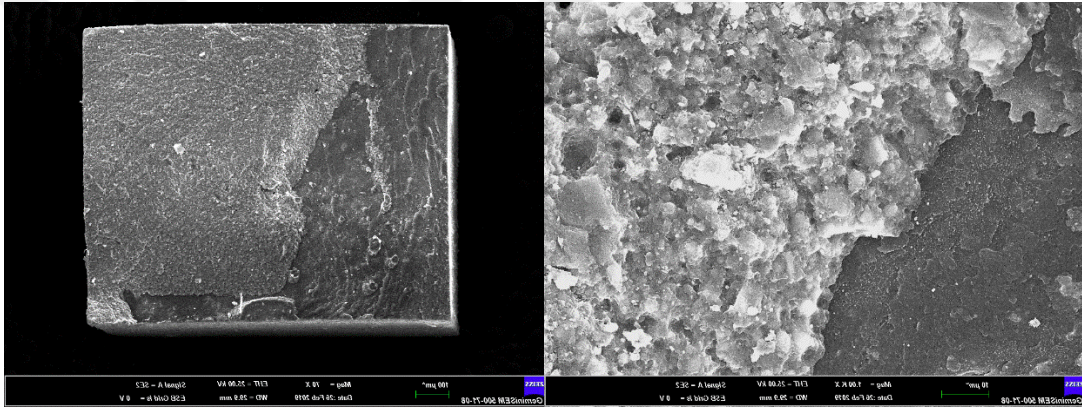
Resim 58. Single Bond Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



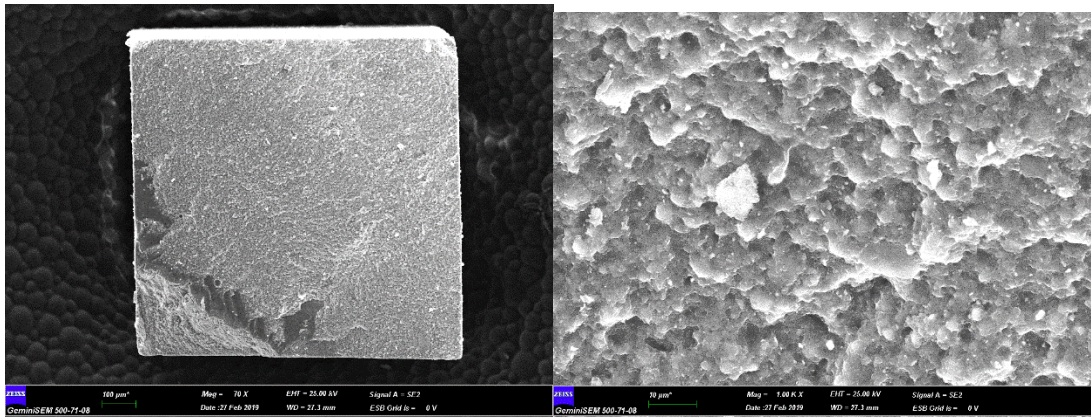
Resim 59. Single Bond Universal Bond SE 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



Resim 60. Single Bond Universal E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'adeziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



Resim 61. Single Bond Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'miks' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü



Resim 62. Single Bond Universal Bond E&R EDC 6 ay grubuna ait bir örneğin bağlantı arayüzünde görülen 'koheziv' tip ayrılmanın x70 ve x1000'lik büyütmede taramalı elektron mikroskop görüntüsü

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması sonucunda; EDC solüsyonuyla yüzey tedavisinin iki farklı üniversal adezivin erken ve geç dönem dentine bağlanma dayanımları üzerinde etkisi olmayacağı yönündeki hipotezimiz ve üniversal adezivlerin E&R ve SE modunda uygulanmasının dentine bağlanma dayanımı üzerinde etkisi olmayacağı yönündeki hipotezimiz kabul edilirken, test edilen üniversal adezivler arasında dentine bağlanma dayanımı bakımından fark olmayacağı yönündeki hipotezimiz reddedilmiştir.

Adeziv dişhekimliğinde yeni geliştirilen restoratif materyallerin özelliklerini değerlendirmek için en verimli yöntem klinik çalışmalardır. Fakat klinik çalışmalar uzun sürmesi ve zor olması gibi bazı dezavantajlara sahiptirler. Bu nedenle materyallerin yapılan restorasyona olan etkisi laboratuvar şartlarında değerlendirilebilir. Bu laboratuvar testlerinin klinik çalışmalara göre maliyetinin az olması, araştırma süresinin kısa olması ve çok fazla çalışan personele ihtiyaç duyulmaması gibi avantajları mevcuttur. Bu nedenlerden dolayı in vitro çalışmalar tercih edilmektedir [168]. Geliştirilen materyallerin başlangıç değerlendirilmesine katkıda bulunsa da tam ve doğru bir değerlendirme için in vitro çalışmalara ilaveten uzun dönem klinik çalışmalara ihtiyaç vardır [169]. Mason ve ark. [170], dört adet dentin adeziv sistemin bağlanma dayanım değerlerini in vivo ve in vitro koşullarda hazırlanan örneklerde karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda klinik ve laboratuvar sonuçları arasında belirgin fark olmadığını ve in vitro testlerin güvenilir sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma, standardizasyonu sağlamanın daha kolay olması ve daha kısa sürede sonuç alınabilmesi nedeni ile in vitro olarak planlanmıştır.

Laboratuvar çalışmalarında kullanılacak dişlerin çekiminden çalışmada kullanılacağı zamana kadar ve çalışma aşamalarında dehidrate olmalarının önlenmesi için bir saklama solüsyonunda tutulması gerekmektedir [171]. Dental materyallerin diş dokusuna adezyon

testiyle ilgili ISO TR 11450 standartları raporunda (1991), çekilmiş dişlerin; üzerinde kan ve doku artıkları akan su altında temizlendikten sonra distile su içerisinde bekletilmesinin uygun olduğu belirtilmiştir [161]. Bu nedenle bizim çalışmamızda da kullandığımız dişler, üzerindeki organik debris ve artıkların uzaklaştırılmasının ardından distile su içerisinde saklanmıştır.

Piyasadaki dentin adeziv sistemlerin sürekli gelişmesine kıyasla, hibrit tabakanın zayıf stabilitesi hala endişe vericidir ve endojen proteaz aktivitesiyle [172] ilişkili olarak rezin/dentin ara yüzündeki kollajen matrisinin degradasyonu onların ömrünü olumsuz yönde etkileyen ana faktörlerden biridir [7, 11, 73, 173]. CHX, hem MMP'leri [174] hem de sistein katepsinleri [175] inhibe etmesine rağmen, CHX'in potansiyel dezavantajı 18 ila 24 ay içinde hibrit tabakanın dışına sızabilmesidir [176, 177]. Adeziv ara yüzünü uzun süre stabilize etmek, dentin matrisindeki endojen proteazların varlığına ve aktivitesine kalıcı bir çözüm bulmak için, aktive edilmiş matris-bağlı MMP'lerin katalitik yanlarını inaktive ederek çapraz bağlanması seçeneği çok umut verici görünmektedir [80, 83, 178]. Glutaraldehit ve üzüm çekirdeği ekstraktları [179] başlangıçta çapraz bağlayıcı olarak kullanılmıştır, ancak glutaraldehitin çok toksik olduğu gerçeğinin yanı sıra etkili olmaları için gereken uygulama süresi de klinik olarak kabul edilebilir değildi (10 dakika ila saat arası). Bu problemin üstesinden gelmek için, % 0.1 riboflavin'in asitlenmiş dentine rezin bonding öncesi 2 dakika UVA ışığı ile uygulanması test edilmiş, dentin MMP'lerini inhibe ettiği ve hibrit tabaka dayanıklılığını arttırdığı sonucuna varılmıştır [178]. Başka bir çalışma, UVA veya bir dental mavi ışıkla işleme tabi tutulmuş örneklerde demineralize dentine uygulanan % 0.1 veya % 1 riboflavin'in, onların nihai tensal dayanımını iki katına çıkardığını ve bakteriyel kollajenaz tehdidinden sonra kollajen degradasyon miktarını azalttığını göstermiştir. Bulgular, kollajene çapraz bağlanma için riboflavin kullanımının, mavi ışık kullanarak basitleştirilmiş uygulama tekniği ile avantajlı olabileceğini göstermektedir, ancak optimum konsantrasyonu bulmak ve çapraz bağlama için gereken süreyi kısaltmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (5 dakika) [180].

Benzer bir şekilde, çok düşük sitotoksositeye sahip bir çapraz bağlama ajanı olan EDC'nin, dentin matrisinin mekanik özelliklerini arttırmaya yönelik potansiyel yeteneklerini gösteren araştırmalar yapılmıştır [80] ve asitlenmiş dentin üzerine 1 dakika süreyle uygulandığında endojen proteaz aktivitesini tamamen inhibe ettiğini ortaya koymuştur

[83]. Çapraz bağlayıcı EDC yoluyla dentin kollajen kuvvetlendirilmesi ve güçlendirilmesi, molekül içi ve moleküller arası çapraz bağların oluşması yoluyla, zaman içinde rezin/dentin ara yüzünün enzimatik ve hidrolitik bozunmaya karşı, yapısal bütünlüğünü ve bağlanma dayanımını arttırmada önemli olabilir [79]. EDC, $RN=C=NR$ formülüne sahip fonksiyonel bir grup içerir. EDC, proteinler içindeki iyonize edilmiş karboksil grupları ile reaksiyona girerek, iki yan ürün arasında stabil bir kovalent amid bağı oluşturmak üzere bitişik bir protein zinciri ve bitişik bir protein zinciri ile reaksiyona girebilen bir O-asilizourür ara ürünü oluşturur. Bu çapraz bağlayıcı, aktif bölgenin moleküler hareketliliğini azaltarak veya negatif yüklü iyonize karboksil gruplarını pozitif yüklü amidlere değiştirerek dentin proteazların aktif bölgelerini inaktive hale getirebilir. Ek olarak, EDC, kollajen içinde hem helikal hem de telopeptid alanlarını çapraz bağlayabilir ve ayrıca kollajenazların spesifik peptid bağından büyük telopeptitleri normal olarak uzaklaştıracak olan telopeptidaz aktivitesini de önleyebilir [83]. EDC, kollajenin sertleşmesine neden olur ve MMP'lerin kollajenin üçlü sarmal yapısını çözmelerini zorlaştırır. [181]. Bu "çözülme", MMP'lerin katalitik sahasının peptidi kesmesine izin vermek için gerekli olduğundan [7, 11, 73, 173], MMP'lerin fonksiyonel aktivitesini de etkili bir şekilde inhibe edecektir. Bu nedenle bu çalışmada diğer çapraz bağlayıcılar yerine EDC kullanmayı tercih ettik.

Bu çalışmada, EDC solüsyonu 1M konsantrasyonunda kullanılmıştır ve 60 saniye süreyle dentine uygulanmıştır. Bedran-Russo ve ark. [80] 10 dakika ile 4 saat arasındaki bir süre boyunca EDC ile dentin kollajen tedavisinin mekaniksel özellikleri arttırdığını göstermiştir. Bununla birlikte, bu tür reaksiyon süreleri klinik olarak uygulanabilir değildir. Scheffel ve ark. [182] demineralize dentin üzerinde klinik olarak uygun EDC uygulaması zamanını test etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre, EDC, 1 M veya 2 M konsantrasyonlarda 60 saniye uygulandığında dentin elastikiyet modülünü ve kollajen sertliğini istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırmıştır.

Bu çalışmada, EDC solüsyonunun hazırlanması için çözücü olarak aseton kullanılmıştır. EDC solüsyonu için kullanılan çeşitli çözücülerin çapraz bağlanma potansiyelini etkilediği bulunmuştur. Son zamanlarda Ekambaram ve ark. asetonun EDC solüsyonu yapmak için bir çözücü olarak kullanılması durumunda, elastikiyet modülünün önemli ölçüde arttığını, solvent olarak su ve etanolün kullanıldığı zaman elde edilen sonuçların aksine, demineralize dentinin nihai tensal dayanımının korunmasının yanı sıra şişme

oranının da önemli ölçüde azaldığını bulmuşlardır [163]. Böylece, EDC'nin dentin kollajen çapraz bağlama potansiyelinin çözücü olarak aseton kullanılarak arttırılabileceği sonucuna varılabilir. Aseton ve su karıştırıldığında, aseton etkin bir şekilde suyun demineralize dentinden uzaklaştırılmasını sağlar çünkü aseton oda sıcaklığında etanol ve sudan çok daha yüksek bir buhar basıncına sahiptir [183]. Asetonun buhar basıncı yüksek olduğu için, hızla uçar ve dentin dehidrate edebilir. Dehidrasyon potansiyeli nedeniyle, aseton, dentin kollajeninin aktive edilmiş karboksil grubunun hidrolizinin önlenmesine yardımcı olur. Bu aktiveleştirilmiş karboksil gruplarının kararlılığı, kollajen çapraz bağlanma derecesini belirler [184].

Bu çalışmada, adezivlerin uygulanmasından önce EDC solüsyonuyla yüzey tedavisi yapılması, adezivlerin erken dönem ve yaşlandırma sonrası mikrogerilim bağlanma dayanımı değerlerini istatistiksel olarak etkilememiştir. Bu çalışmada EDC, dentin yüzey tedavisi olarak kullanıldığında yapay tükürükte 6 ay saklandıktan sonra bile istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen bağlanma dayanımında yüzde olarak daha az düşüş göstermiştir. Sonuçlarımız 1 dakikalık EDC yüzey tedavisiyle rezin-dentin bağının korunduğunu ve rezin-dentin bağ dayanıklılığının arttığını bildiren çeşitli çalışmalarla benzerdir [92, 185-187]. Mazzoni ve ark. [186] yaptıkları bir in-vitro çalışmada, E&R adeziv sistemlerinin bağ stabilitesi üzerine EDC'nin etkisini incelemişlerdir. EDC solüsyonunun kullanımı, dentine erken dönem bağlanma dayanımını etkilememiştir, ancak test edilen her iki adeziv için 1 yıl yapay tükürükte yaşlandırma sonrası bile EDC yüzey tedavisi yapılmayan gruplara kıyasla bağ kuvvetinin korunmasına katkıda bulunmuştur. Singh ve ark. [162] yaptıkları bir in-vitro çalışmada, dentin biyomodifiye edicilerinin dentine erken ve geç dönem makaslama bağlanma dayanımları üzerine etkisini incelemişlerdir. EDC, epigallokatekin-gallat (EGCG), minosiklinin kullanıldığı grupların erken dönem bağlanma dayanımları ile 6 ay yapay tükürükte yaşlandırma sonrası bağlanma dayanımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olmayıp rezin-dentin bağının korunmasını sağlarken hiçbir yüzey tedavisi yapılmayan kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bağlanma dayanımı göstermişlerdir. Singh ve ark. [188] yaptıkları bir in-vitro çalışmada, tek aşamalı self-etch adezivlerin bağlanma performansı üzerine EDTA ve EDC yüzey tedavisinin erken dönem ve 6 ay yapay tükürükte yaşlandırma sonrası etkisini incelemişlerdir. EDC yüzey tedavisinin adezivlerden herhangi birinin erken ve geç dönemdeki bağlanma dayanımı değerleri arasında anlamlı bir farklılık olmamıştır. Bununla birlikte, EDTA ile koşullandırılmış

dentin yüzeyi üzerine EDC uygulanması, altı ay boyunca bağ kuvvetinde anlamlı bir düşüş olmadan her iki adezivın rezin-dentin bağlanma dayanımının korunmasını sağlamıştır. Zhang ve ark. [189] yaptıkları bir in-vitro çalışmada, iki ve üç aşamalı E&R adezivlerle hazırlanan dentin bağlarının yorulma direnci üzerine EDC'nin etkisini incelemiştir. Erken dönemde her iki adeziv sistem için kontrol grubu ile EDC yüzey tedavisi yapılmış gruplar arasında yorgunluk çatlak büyüme direnci bakımından fark bulunmamıştır. 3 ve 6 ay yapay tükürükte yaşlandırma sonrası, EDC ile tedavi edilen gruplar, kontrollerden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla yorgunluk çatlak büyüme direnci sergilemişlerdir. EDC dentin kollajeninin çapraz bağlanmasına neden olmanın yanı sıra, çapraz matris bağlı MMP'leri de bağlar ve çapraz bağlama MMP'lerde kollajendekinden daha hızlı gerçekleşir [83, 90]. Proteazların katalitik bölgesini etkisiz hale getirir ve bitişik peptidler arasında yeni bir peptid bağı oluşturarak enzimlerin hareketliliğini azaltır. Bu, MMP'lerdeki karboksil ve amino gruplarının ulaşılabilirliğinin kollajenden daha iyi olmasıyla açıklanabilir [91]. EDC'nin güçlü bir MMP inhibitörü olduğunu ve MMP inhibe edici etkisinin kollajen çapraz bağlama etkisinden çok daha hızlı olduğunu gösterir. Bu nedenle, EDC gibi çapraz bağlama ajanları ile MMP inaktivasyonunun, sadece MMP inhibitörüyle inhibisyonundan çok daha uzun sürmesi beklenebilir [162].

Üniversal adezivler diş hekimliği piyasasına sunulmuş olan en son jenerasyon adeziv sistemlerdir. Bu adezivler hem E&R hem SE modunda kullanılabilir. Ayrıca yapılan bazı çalışmalar da bunu desteklemektedir [190, 191]. Bu çalışmada da üniversal adeziv olan Single Bond Universal ve Clearfil Universal Bond hem E&R hem de SE modunda kullanılmıştır.

Bu çalışmada, Single Bond Universal uygulama modu farketmeksizin Clearfil Universal Bond'dan istatistiksel olarak daha iyi bağlanma dayanım değerleri göstermiştir ($p < 0,05$). Chen ve ark. [192] dentine bağlanan 5 üniversal adezivin kısa dönem in-vitro performansını inceledikleri çalışmada da Clearfil Universal Bond, Single Universal Bond'dan daha düşük bağlanma dayanımı değerleri göstermiştir. Her iki bonding sistemin davranışlarındaki farklılıklar, bileşimleriyle ilişkili olabilir. Ek olarak, EDC ile tedavi edilmiş örneklerin farklı bağ koruma kapsamı, çapraz bağlanma sonrası test edilen bonding ajanlarının dentin kollajen matrisi ile farklı etkileşimi ve farklı MMP aktivasyon modlarına neden olabilecek endojen MMP'lere duyarlılıkları ile ilgili olabilir [13, 14, 137,

172]. Single Bond Universal adeziv, yapısında hidroksiapatit kristalleriyle kimyasal bağlantıyı sağlayan rezin modifiye cam iyonomer Vitrebond'da (3M ESPE) kullanılan polialkenoik asit kopolimeri (PAC) içermektedir ve Single Bond Universal adezivin yüksek bağlanma dayanımı göstermesinin içeriğinde bulunan polialkenoik asit kopolimeri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir [109, 190, 193]. PAC, hidroksiapatit [194] içindeki Ca-bağlanma bölgeleri için MDP monomeriyle rekabet edebilir ve yüksek molekül ağırlığı nedeniyle, polimerizasyon sırasında monomer yaklaşımını önleyebilir [190]. PAC, cam iyonomer malzemelerinde kimyasal ve spontan olarak hidroksiapatite bağlanır [195] ve yakın zamanda yapılan bir çalışma, PAC varlığının, aynı bileşimde PAC içermeyen bir adezivden daha fazla bağlanma dayanımı sağladığını göstermiştir [113, 195].

Bu çalışmada, üniversal adezivlerin etch-and-rinse ve self-etch modunda kullanımları arasında bağlanma dayanımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir ($p>0,05$). Perdigao ve ark. Scotchbond Universal (Single Bond Universal) Adeziv' i E&R ve SE modunda çürüksüz servikal lezyonlar üzerinde test ettikleri 6, 18 ve 36 aylık 3 adet klinik çalışma yapmışlardır [113, 196, 197] ve çalışmalarının sonuçlarına göre 6, 18 ve 36 ayın sonunda üniversal adezivin klinik davranışı üzerinde uygulama stratejisinin etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Munoz ve ark. [190] ve Tekçe ve ark. [198] ise yapmış oldukları çalışmalarda kullanılan farklı üniversal adeziv sistemlerin E&R moduna göre kıyaslandığında SE modunda dentine daha düşük bağlanma değerleri gösterdiklerini bulmuşlardır. Wellington ve ark.[199] üniversal adezivlerin bağlanma dayanımını inceledikleri sistematik derleme ve meta-analizde, adeziv öncesi asit kullanımının üniversal adezivler için dentin bağlanma dayanımını etkilemediğini göstermişlerdir. Bununla birlikte, asidik monomerlerin içeriği bağlanma dayanımını etkileyebilir; bağlanmanın stabilitesi için, dentine adezyonda ılımlı SE adeziv önerilir [6, 103, 118]. Ilımlı adeziv sistemler olarak değerlendirilen üniversal adezivlerin, E&R ve SE yaklaşımları arasında dentin bağlanma dayanımı bakımından hiçbir farklılık göstermediği göz önüne alındığında, bu materyallerin, SE modunda kullanılmaları post operatif hassasiyet riskini ve kollajen fibrillerin zamanla bağ stabilitesini tehlikeye atabilecek degradasyon olaylarına maruz kalma ihtimalini azaltabilir [103, 111, 118, 200].

Posterior dişlerin restorasyonunda rezin kompozitler oldukça popülerdir, ancak kavite derinliği, konfigürasyon faktörü ve kullanılan materyalin polimerizasyon derinliğine bağlı olarak polimerizasyon büzülme stresini azaltmak için tabakalı yerleştirme tekniği gerektirmektedirler. Bununla birlikte tabakalı yerleştirme, El-Safty ve ark. [201] tarafından rapor edildiği gibi, tabakalar arası boşluk oluşumu, kontaminasyon riski ve tedavi süresinin uzamasına neden olmaktadır. Bu nedenle üreticiler, klinik olarak başarısının iyi olmasının yanında, uygulanması ve şekillendirilmesi kolay ve kısa zamanda uygulanabilen bir dental materyal üretmeyi amaçlamışlardır ve tek seferde 4-5 mm derinliğe kadar uygulanabilen “bulk fill kompozit rezin materyaller” piyasaya sürülmüştür. Geleneksel kompozit rezinlerin monomer kimyasında ve doldurucu teknolojisinde yapılan değişiklikler ile elde edilen bulkfill kompozitlerin translusent yapısı geliştirilmiştir ve metakrilat rezin içerisine yerleştirilen foto aktif gruplar, bu kompozitlerin polimerizasyon kinetiğinin daha iyi kontrol edilmesine ve 4-5 mm derinliğe kadar polimerize edilebilmesine izin vermektedir [202]. Geleneksel kompozitlerde yer alan Bis-GMA monomerinin kimyasında yapılan değişikliklerle viskozitesi düşük yeni bir monomer elde edilmiştir. Bu sayede geleneksel kompozit rezinlerden ve hatta akışkan kompozitlerden daha düşük derecede polimerizasyon büzülmesi gösteren bulkfill kompozitler geliştirilmiştir. Polimerizasyon büzülmesinin az olması ise çürük, kenar sızıntısı, pulpa irritasyonu ve hassasiyet gibi bazı olumsuzlukların oluşumuna engel olmaktadır [203]. Çalışmamızda kullandığımız Filtek Bulk-Fill kompozit, üretici firmanın önerileri doğrultusunda 4 mm'ye kadar tek tabaka halinde uygulanmıştır.

Bu çalışmada, önceki çalışmalara benzer şekilde 6 aylık saklamada yapay tükürük [92, 204] ve 24 saatlik saklamada su kullanılmıştır, böylece önceki çalışmalarda bildirilen adezivlerin erken dönem bağlanma dayanımı değerleri ile geçerli bir karşılaştırma yapılabilmektedir. Bir meta-analiz, saklama ortamı olarak suyun daha yüksek heterojenliği sunarken, yapay tükürük ve diğer yaşlanma yöntemlerinin daha düşük heterojenliği sunduğunu bildirmiştir [205]. Ayrıca, Tezvergil-Mutluay ve ark. [165], suyun bir saklama ortamı olarak kullanılmasının, endojen dentin MMP'lerinin hidrolitik aktivitesini hafife aldığı, çünkü suyun dentin matrikslerinden kalsiyum ve çinko iyonlarının geri kazanılmasını değil, kaybını teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Bu nedenle, klinik durumu daha iyi simüle etmek için uzun süreli saklama için yapay tükürük kullanılmıştır.

Bu çalışmada, başka çalışmalarla [162, 188, 189] uyumlu olarak 6 aylık yaşlandırmadan sonra bağ performansındaki değişiklikler değerlendirilmiştir. Bağ degradasyonunda yer alan çok sayıda faktör olduğu için, dentin bağının dayanıklılığını test etmek için oral ortamın simüle edilmesi ve klinik koşulların sağlanması için çeşitli yöntemler önerilmiştir (çiğneme simülatörü, termal siklus, uzun süre su ve yapay tükürükte saklama) [206]. Yaygın olarak kullanılan yaşlandırma yöntemlerinden biri termal siklus uygulamasıdır. ISO TR 11450 standardına göre (1994, 2003) suda 5°C ve 55°C arası 500 termal siklus uygun bir yapay yaşlandırma testidir. ISO protokolüne göre termal siklus uygulanan birçok çalışmada adeziv sistemlerin bağlanma dayanımlarının ve mikrosızıntılarının termal siklus işleminden etkilenmediği bildirilmiştir [135, 207, 208]. Heitze ve ark. [209], yaptıkları çalışmada mikrogerilim ve makromakaslama testlerinde termal siklus uygulamasının önemsiz bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Castro ve ark. [210], restorasyonların uzun dönem bağlanma dayanımlarını örneklere termo-mekanik stres uygulayarak incelemişlerdir. Araştırmacılar Adper Single Bond ile hazırlanan örneklere termo-mekanik yaşlandırma olarak; 50 N ve 100000 mekanik siklus ve 2000 termal siklus işlemi uygulamışlardır. Araştırmacılar 1 yıl suda bekletme sonunda Single Bond'un bağlanma dayanım değerlerinin düştüğünü bildirirken, termo-mekanik siklus uygulanan bağlayıcıların bağlanma dayanım değerlerindeki azalmanın anlamlı olmadığını ileri sürmüşlerdir. Bu nedenle bu çalışmada yaşlandırma işlemi için yapay tükürükte saklama yöntemini tercih ettik. Çalışmamız, altı ay boyunca suni tükürükte saklandıktan sonra, hem Single Bond Universal hem de Clearfill Universal Bond'un, EDC yüzey tedavisi uygulanmadığında bağ kuvvetinde daha fazla azalma olduğunu ortaya koymuştur. Çeşitli çalışmalar, uzun süreli depolamadan sonra rezin elüsyonu ve kollajen matrislerin hidrolitik bozunmasının morfolojik kanıtlarını sağlamıştır [7]. Bağlanma dayanımında gözlenen düşüş, su / oral sıvı emiliminden sonra meydana gelen polimer şişmesi ve rezin sızıntısı nedeniyle hibrit tabakalardaki rezin bileşenlerin bütünlüğünün kaybı ile ilgili olabilir [211]. Bağ degradasyonunu hedefleyen önceki çalışmalar, mikrogerilim testlerinden yararlanmış ve genel olarak, 12 aylık yaşlandırmadan sonra bağ performansındaki değişiklikleri değerlendirmiştir [212-214]. Büyük örneklerin saklanmadan önce mikrogerilim kesitlere bölünerek depolanması, örneklerin kesit alanını azaltır, bu da hibrit tabaka boyunca suyun daha hızlı difüzyonunu sağlar [211]. Araştırmacılar suda bekletme süresince, 1 mm² ebatlarındaki çubuk şekilli örneklerde bağlayıcı yıkımının, bütün diş olarak bekletilenlere kıyasla hızlı olduğunu bunun sebebinin

adeziv ara yüzeyine su erişebilirliğinin artması olduğunu bildirmişlerdir. Birçok çalışma bütün diş olarak saklanan örneklerin bağlanma dayanımlarınının 1 yıl suda bekletme sonunda bile değişmediğini göstermiştir [215, 216]. Bizim çalışmamızda test edilen grupların erken ve geç dönem bağlanma dayanım değerlerinde düşüş gözlenmesine rağmen bağlanma dayanımları arasında istatistiksel olarak fark olmamıştır. Bunun nedeni 6 aylık yaşlandırma süresi ve örneklerin mikrogerilim kesitlere bölünmeden bütün şeklinde saklanması olabilir.

Bu çalışmada iki farklı üniversal adezivin ve EDC'nin dentine bağlanma dayanımına etkisini değerlendirmek için mikrogerilim bağlanma dayanımı testi kullanılmıştır. Bu metodoloji, 1 mm'nin altındaki küçük alanlarda ara yüzey bağlanma dayanımlarını araştırma fırsatı verir. Adeziv sistemleri değerlendirmek için dentin bağlanma substratı olarak kullanıldığında, makaslama bağlanma dayanımı testleri, debonding işlemi sırasında homojen olmayan stresler üretme eğilimindedir ve dentin içinde koheziv kopmalara neden olur. Bununla birlikte, dentin içerisindeki koheziv kırıklar, klinik olarak gerçek kavitelere ilgili başarısızlık mekanizmasını temsil etmemektedir [217]. Enine kesit alanları küçültülmüş örneklere sahip olduğu için, mikrogerilim bağlanma dayanımı testi daha güvenilir ve aynı zamanda hem dentin hem de rezinde koheziv başarısızlık oranını azaltan daha homojen bir ara yüzey stres dağılımı sağlar [145]. Schreiner ve ark. [218] mikrogerilim bağlanma dayanımı testi ile makaslama bağlanma dayanımı testini karşılaştırmış ve makaslama testinde dentin ve kompozit içinde önemli ölçüde daha fazla başarısızlık gözlendiğini tespit etmişlerdir. Bu nedenle, mikrogerilim test yönteminden elde edilen sonuçlar, dentine ara yüzey bağlanma dayanımını daha net bir şekilde yansıtabilir [217]

Bu çalışmada, kopma tipleri SEM ile incelenerek belirlenmiştir. Genellikle, başarısızlık modları stereomikroskopi ile incelenir ve adeziv, dentin veya kompozitte koheziv ve miks başarısızlıklar olarak sınıflandırılır. Bu bilgi yararlı olsa da, sadece düşük güçlü mikroskopi ile yapılan değerlendirmenin, kırılmış yüzeydeki materyallerin ve başarısızlık modlarının ayırımının hatalı yorunlanmasına neden olabileceği kabul edilmiştir [158]. Adeziv ara yüz veya miks başarısızlıklar için başarısızlık modu üzerindeki doğrulayıcı sonuç, yalnızca yüksek büyütme oranlarında SEM ile uygun şekilde yapılabilir [158, 219].

Bu çalışmada erken dönemde en fazla miks ve en az adeziv kopma tipi gözlenirken, geç dönemde eşit sayıda miks ve koheziv, en az adeziv kopma tipi gözlenmiştir. Erken dönemde en fazla miks kopma tipi gözlenirken geç dönemde miks kopma tipi azalmış, adeziv kopma tipi artmıştır. Bu sonuçlar Sing ve ark. yapmış oldukları çalışmadakine benzerdir. Bunun sebebi yaşlandırma sonrası grupların bağlanma dayanımının azalması olabilir. Adeziv kopma, materyalde kırık oluşumuna neden olan koheziv kırığa tercih edilen bir kopma tipidir. Buna rağmen bağlanma dayanımının fazla olmasıyla daha çok koheziv tip kopmalar görülmektedir [220-222]. Single Bond Universal gruplarında erken ve geç dönem kopma tipleri benzer olup en fazla koheziv kopma tipi görülürken, Clearfil Universal Bond gruplarında en fazla miks kopma tipi gözlenmiştir. Bu durum Single Bond Universal'in bağlanma dayanım değerlerinin daha yüksek olmasıyla açıklanabilir. EDC'nin uygulama formunun, farklı konsantrasyon ve uygulama süresinin, farklı çağdaş adeziv sistemlerinin dentine uzun dönem bağlanma etkinliği üzerindeki etkisini değerlendirmek için daha fazla çalışma gereklidir. Bununla birlikte; in vitro çalışmalarda her zaman bazı kısıtlamalar mevcuttur; ağız içi koşulları tam olarak taklit edemezler, yalnızca materyal ve yöntemlerin klinik performansları ile ilgili yorumlarda bulunmamıza yardımcı olurlar. Bu sebeple in vitro çalışmaların, in vivo çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Bu konuyla ilgili in vivo çalışmalara ve klinik takiplere ihtiyaç duyulmaktadır.

SONUÇLAR

Bu tez çalışmasının sınırları dahilinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

1. Dentin yüzeyinin EDC solüsyonuyla tedavisi, istatistiksel olarak fark olmamasına rağmen test edilen universal adezivler için 6 aylık yaşlandırma süresi boyunca EDC solüsyonu uygulanmayan gruplara göre rezin-dentin bağının korunmasını sağlamış ve bağlanma kuvvetinin daha az kaybına neden olmuştur.
2. Single Bond Universal, Clearfil Universal Bond'dan daha iyi bağlanma dayanımı değerleri göstermiştir.
3. Ünlversal adezivlerin E&R ve SE modunda kullanımları arasında bağlanma dayanımı bakımından fark gözlenmemiştir.

6. KAYNAKLAR

1. Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, De Munck J. Bonding effectiveness of a new 'multi-mode' adhesive to enamel and dentine. *J Dent*, 2012. **40**(6): p. 475-84.
2. Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent*, 1991. **3**(4): p. 133-8.
3. Nakabayashi N. The hybrid layer: a resin-dentin composite. *Proc Finn Dent Soc*, 1992. **88 Suppl 1**: p. 321-9.
4. Tjäderhane L. Dentin Bonding: Can We Make it Last? *Operative Dentistry*, 2015. **40**(1): p. 4-18.
5. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluay A. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater* 2017, 2017. **27**: p. 1-16.
6. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*, 2011. **27**(1): p. 17-28.
7. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater*, 2008. **24**(1): p. 90-101.
8. Maravic T, Mazzoni A, Comba A, Scotti N, Checchi V, Breschi L. How stable is dentin as a substrate for bonding? *Curr Oral Health Rep*, 2017. **4**: p. 248-57.
9. Mjor IA, Shen C, Eliasson ST, Richter S. Placement and replacement of restorations in general dental practice in Iceland. *Oper Dent*, 2002. **27**(2): p. 117-23.
10. Salz U, Zimmermann J, Zeuner F, Moszner N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. *J Adhes Dent*, 2005. **7**(2): p. 107-16.
11. Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, Pashley DH, Tay FR. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res*, 2011. **90**(8): p. 953-68.
12. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res*, 2002. **62**(3): p. 447-56.
13. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*, 2004. **83**(3): p. 216-21.

14. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, Carvalho RM, Tjaderhane L, Tay FR, Pashley DH. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci*, 2006. **114**(2): p. 160-6.
15. De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, Van Meerbeek B. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res*, 2009. **88**(12): p. 1101-6.
16. Frassetto A, Breschi L, Turco G, Marchesi G, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH, Cadenaro M. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability--A literature review. *Dent Mater*, 2016. **32**(2): p. e41-53.
17. Talungchit S, Jessop JL, Cobb DS, Qian F, Geraldini S, Pashley DH, Armstrong SR. Ethanol-wet bonding and chlorhexidine improve resin-dentin bond durability: quantitative analysis using raman spectroscopy. *J Adhes Dent*, 2014. **16**(5): p. 441-50.
18. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res*, 1982. **16**(3): p. 265-73.
19. Bourbia M, Ma D, Cvitkovitch DG, Santerre JP, Finer Y. Cariogenic bacteria degrade dental resin composites and adhesives. *J Dent Res*, 2013. **92**(11): p. 989-94.
20. Busscher HJ, Rinastiti M, Siswomihardjo W, van der Mei HC. Biofilm formation on dental restorative and implant materials. *J Dent Res*, 2010. **89**(7): p. 657-65.
21. Bortolotto T, Bahillo J, Richoz O, Hafezi F, Krejci I. Failure analysis of adhesive restorations with SEM and OCT: from marginal gaps to restoration loss. *Clin Oral Investig*, 2015. **19**(8): p. 1881-90.
22. Tjäderhane L, Carrilho M, Breschi L, Tay FR, Pashley DH. Dentin basic structure and composition-an overview. *Endod Top*, 2009. **20**: p. 3–29.
23. Carvalho RM, Tjäderhane L, Manso AP, Carrilho MR, Carvalho CAR. Dentin as a bonding substrate. *Endod Top*, 2012. **21**: p. 62–88.
24. Mazzoni A, Breschi L, Carrilho M, Nascimento FD, Orsini G, Ruggeri A, et al. A review of the nature, role, and function of dentin non-collagenous proteins. Part II: enzymes, serum proteins, and growth factors. *Endod Top*, 2009. **21**: p. 19–40.

25. Orsini G, Jr AR, Mazzoni A, Nato F, Manzoli L, Putignano A, et al. A review of the nature, role, and function of dentin non-collagenous proteins. Part 1: proteoglycans and glycoproteins. *Endod Top*, 2009. **21**: p. 1–18.
26. Gelse K, Poschl E, Aigner T. Collagens--structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003. **55**(12): p. 1531-46.
27. Ortiz C, Boyce MC. Materials science. Bioinspired structural materials. *Science*, 2008. **319**(5866): p. 1053-4.
28. Silver FH, Horvath I, Foran DJ. Viscoelasticity of the vessel wall: the role of collagen and elastic fibers. *Crit Rev Biomed Eng*, 2001. **29**(3): p. 279-301.
29. Knott L, Bailey AJ. Collagen cross-links in mineralizing tissues: a review of their chemistry, function, and clinical relevance. *Bone*, 1998. **22**(3): p. 181-7.
30. Light ND, Bailey AJ. The chemistry of the collagen cross-links. Purification and characterization of cross-linked polymeric peptide material from mature collagen containing unknown amino acids. *Biochem J*, 1980. **185**(2): p. 373-81.
31. Reiser K, McCormick RJ, Rucker RB. Enzymatic and nonenzymatic cross-linking of collagen and elastin. *FASEB J*, 1992. **6**(7): p. 2439-49.
32. Yamauchi M. Collagen biochemistry: an overview. *Advances in Tissue Banking*. NJ: WorldScientific Publishing, 2000: p. 455-500.
33. Saito M, Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporos Int*, 2010. **21**(2): p. 195-214.
34. Goldberg M, Takagi M. Dentine proteoglycans: composition, ultrastructure and functions. *Histochem J*, 1993. **25**(11): p. 781-806.
35. Haruyama N, Sreenath TL, Suzuki S, Yao X, Wang Z, Wang Y, Honeycutt C, Iozzo RV, Young MF, Kulkarni AB. Genetic evidence for key roles of decorin and biglycan in dentin mineralization. *Matrix Biol*, 2009. **28**(3): p. 129-36.
36. Ruggeri A, Orsini G, Mazzoni A, Nato F, Papa V, Piccirilli M, Putignano A, Mazzotti G, De Stefano Dorigo E, Breschi L. Immunohistochemical and biochemical assay of versican in human sound predentine/dentine matrix. *Eur J Histochem*, 2009. **53**(3): p. 125-33.
37. Panwar P, Du X, Sharma V, Lamour G, Castro M, Li H, Bromme D. Effects of cysteine proteases on the structural and mechanical properties of collagen fibers. *J Biol Chem*, 2013. **288**(8): p. 5940-50.

38. Torzilli PA, Arduino JM, Gregory JD, Bansal M. Effect of proteoglycan removal on solute mobility in articular cartilage. *J Biomech*, 1997. **30**(9): p. 895-902.
39. Suppa P, Ruggeri JA, Tay FR, Prati C, Biasotto M, Falconi M, Pashley DH, Breschi L. Reduced antigenicity of type I collagen and proteoglycans in sclerotic dentin. *J Dent Res*, 2006. **85**(2): p. 133-7.
40. Scott JE. Proteoglycan-fibrillar collagen interactions. *Biochem J*, 1988. **252**(2): p. 313-23.
41. Vogel KG, Paulsson M, Heinegard D. Specific inhibition of type I and type II collagen fibrillogenesis by the small proteoglycan of tendon. *Biochem J*, 1984. **223**(3): p. 587-97.
42. Hedbom E, Heinegard D. Binding of fibromodulin and decorin to separate sites on fibrillar collagens. *J Biol Chem*, 1993. **268**(36): p. 27307-12.
43. Oyarzun A, Rathkamp H, Dreyer E. Immunohistochemical and ultrastructural evaluation of the effects of phosphoric acid etching on dentin proteoglycans. *Eur J Oral Sci*, 2000. **108**(6): p. 546-54.
44. Breschi L, Gobbi P, Lopes M, Prati C, Falconi M, Teti G, Mazzotti G. Immunocytochemical analysis of dentin: a double-labeling technique. *J Biomed Mater Res A*, 2003. **67**(1): p. 11-7.
45. Breschi, L., et al., Dentin proteoglycans: an immunocytochemical FEISEM study. *J Biomed Mater Res*, 2002. **61**(1): p. 40-6.
46. Breschi L, Lopes M, Gobbi P, Mazzotti G, Falconi M, Perdigao J. Immunocytochemical identification of type I collagen in acid-etched dentin. *J Biomed Mater Res A*, 2003. **66**(4): p. 764-9.
47. Bedran-Russo AK, Pauli GF, Chen SN, McAlpine J, Castellan CS, Phansalkar RS, Aguiar TR, Vidal CM, Napotilano JG, Nam JW, Leme AA. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. *Dent Mater*, 2014. **30**(1): p. 62-76.
48. Veis A, Schlueter RJ. The Macromolecular Organization of Dentine Matrix Collagen. I. Characterization of Dentine Collagen. *Biochemistry*, 1964. **3**: p. 1650-7.
49. Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjaderhane L, Pashley DH, Tay FR, Mazzoni A. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dent Mater*, 2018. **34**(1): p. 78-96.

50. Dayan D, Binderman I, Mechanic GL. A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix. *Arch Oral Biol*, 1983. **28**(2): p. 185-7.
51. Tjaderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res*, 1998. **77**(8): p. 1622-9.
52. Nagase H, Woessner Jr. JF. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*, 1999. **274**(31): p. 21491-4.
53. Zhang SC, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci*, 2009. **1**(4): p. 163-76.
54. Kreis T, Vale R. Matrix metalloproteinases. In: Sternlicht MD, Werb Z, editors. *Guidebook to the extracellular matrix, anchor, and adhesion proteins*, 2nd edn. San Francisco: Oxford University Press; 1999;519-42.
55. Shimada Y, Ichinose S, Sadr A, Burrow MF, Tagami J. Localization of matrix metalloproteinases (MMPs-2, 8, 9 and 20) in normal and carious dentine. *Aust Dent J*, 2009. **54**(4): p. 347-54.
56. Mazzoni A, Pashley DH, Tay FR, Gobbi P, Orsini G, Ruggeri Jr. A, Carrilho M, Tjaderhane L, Di Lenarda R, Breschi L. Immunohistochemical identification of MMP-2 and MMP-9 in human dentin: correlative FEI-SEM/TEM analysis. *J Biomed Mater Res A*, 2009. **88**(3): p. 697-703.
57. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*, 1993. **64**(5 Suppl): p. 474-84.
58. Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjaderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand*, 2007. **65**(1): p. 1-13.
59. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*, 2004. **10**(6): p. 311-8.
60. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*, 2003. **92**(8): p. 827-39.
61. Vu TH, Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev*, 2000. **14**(17): p. 2123-33.

62. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2001. **17**: p. 463-516.
63. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res*, 2006. **69**(3): p. 562-73.
64. Caterina JJ, Skobe Z, Shi J, Ding Y, Simmer JP, Birkedal-Hansen H, Bartlett JD. Enamelysin (matrix metalloproteinase 20)-deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. *J Biol Chem*, 2002. **277**(51): p. 49598-604.
65. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjaderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res*, 2002. **81**(9): p. 603-7.
66. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res*, 2006. **85**(1): p. 22-32.
67. Tersariol IL, Geraldeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Paakkonen V, Martins MT, Carrilho MR, Pashley DH, Tay FR, Salo T, Tjaderhane L. Cysteine cathepsins in human dentin-pulp complex. *J Endod*, 2010. **36**(3): p. 475-81.
68. Nascimento FD, Minciotti CL, Geraldeli S, Carrilho MR, Pashley DH, Tay FR, Nader HB, Salo T, Tjaderhane L, Tersariol IL. Cysteine cathepsins in human carious dentin. *J Dent Res*, 2011. **90**(4): p. 506-11.
69. Vidal CM, Tjaderhane L, Scaffa PM, Tersariol IL, Pashley D, Nader HB, Nascimento FD, Carrilho MR. Abundance of MMPs and cysteine cathepsins in caries-affected dentin. *J Dent Res*, 2014. **93**(3): p. 269-74.
70. Garnero P, Borel O, Byrjalsen I, Ferreras M, Drake FH, McQueney MS, et al. The collagenolytic activity of cathepsin K is unique among mammalian proteinases. *J Biol Chem*, 1999. **273**: p. 32347-52.
71. Brömme D, Wilson S. Role of cysteine cathepsins in extracellular proteolysis. In: *Extracellular matrix degradation*. Berlin, DE: Springer Verlag-Heidelberg; 2011. p. 23-52.
72. Scaffa PM, Breschi L, Mazzoni A, Vidal CM, Curci R, Apolonio F, Gobbi P, Pashley D, Tjaderhane L, Tersariol IL, Nascimento FD, Carrilho MR. Co-distribution of cysteine cathepsins and matrix metalloproteases in human dentin. *Arch Oral Biol*, 2017. **74**: p. 101-107.
73. Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH.

- Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater*, 2013. **29**(1): p. 116-35.
74. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res*, 2005. **84**(8): p. 741-6.
75. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjaderhane L, Visintini E, Cadenaro M, Tay FR, De Stefano Dorigo E, Pashley DH. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater*, 2010. **26**(6): p. 571-8.
76. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, Reis AF, Hebling J, Mazzoni A, Breschi L, Pashley D. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*, 2007. **86**(6): p. 529-33.
77. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjaderhane L. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res*, 2007. **86**(1): p. 90-4.
78. Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho M, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer-A review. *Dent Mater*, 2013. **29**(10): p. 999-1011.
79. Bedran-Russo AK, Pereira PN, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2007. **80**(1): p. 268-72.
80. Bedran-Russo AK, Vidal CM, Dos Santos PH, Castellan CS. Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010. **94**(1): p. 250-5.
81. Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2009. **91**(1): p. 419-24.
82. Nagpal R, Singh P, Singh S, Tyagi SP. Proanthocyanidin: A natural dentin biomodifier in adhesive dentistry. *J Restor Dent*, 2016. **4**: p. 1-6.
83. Tezvergil-Mutluay A, Mutluay MM, Agee KA, Seseogullari-Dirihan R, Hoshika T, Cadenaro M, Breschi L, Vallittu P, Tay FR, Pashley DH. Carbodiimide cross-linking inactivates soluble and matrix-bound MMPs, in vitro. *J Dent Res*, 2012. **91**(2): p. 192-6.

84. Hill SD, Berry CW, Seale NS, Kaga M. Comparison of antimicrobial and cytotoxic effects of glutaraldehyde and formocresol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1991. **71**(1): p. 89-95.
85. McDade JK, Brennan-Pierce EP, Ariganello MB, Labow RS, Michael Lee J. Interactions of U937 macrophage-like cells with decellularized pericardial matrix materials: influence of crosslinking treatment. *Acta Biomater*, 2013. **9**(7): p. 7191-9.
86. Grant SA, Spradling CS, Grant DN, Fox DB, Jimenez L, Grant DA, Rone RJ. Assessment of the biocompatibility and stability of a gold nanoparticle collagen bioscaffold. *J Biomed Mater Res A*, 2014. **102**(2): p. 332-9.
87. Olde Damink LH, Dijkstra PJ, van Luyn MJ, van Wachem PB, Nieuwenhuis P, Feijen J. Cross-linking of dermal sheep collagen using a water-soluble carbodiimide. *Biomaterials*, 1996. **17**(8): p. 765-73.
88. Zeeman R, Dijkstra PJ, van Wachem PB, van Luyn MJ, Hendriks M, Cahalan PT, Feijen J. Successive epoxy and carbodiimide cross-linking of dermal sheep collagen. *Biomaterials*, 1999. **20**(10): p. 921-31.
89. Powell HM, Boyce ST. EDC cross-linking improves skin substitute strength and stability. *Biomaterials*, 2006. **27**(34): p. 5821-7.
90. Scheffel, D.L., et al., Inactivation of matrix-bound matrix metalloproteinases by cross-linking agents in acid-etched dentin. *Oper Dent*, 2014. **39**(2): p. 152-8.
91. Perumal, S., O. Antipova, and J.P. Orgel, Collagen fibril architecture, domain organization, and triple-helical conformation govern its proteolysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. **105**(8): p. 2824-9.
92. Scheffel DL, Hebling J, Scheffel RH, Agee K, Turco G, de Souza Costa CA, Pashley D. Increased Durability of Resin-Dentin Bonds Following Cross-Linking Treatment. *Oper Dent*, 2015. **40**(5): p. 533-9.
93. Swift Jr. EJ, Perdigao J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995. *Quintessence Int*, 1995. **26**(2): p. 95-110.
94. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*, 2003. **28**: p. 215-35.
95. Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int*, 1993. **24**: p. 618-31.

96. Wang Y, Spencer P. Quantifying adhesive penetration in adhesive/dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2002. **59**: p. 46-55.
97. Frankenberger R, Pashley DH, Reich SM, Lohbauer U, Petschelt A, Tay FR. Characterisation of resin-dentine interfaces by compressive cyclic loading. *Biomaterials*, 2005. **26**(14): p. 2043-52.
98. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent*, 1995. **20**(1): p. 18-25.
99. Breschi L, Prati C, Gobbi P, Pashley D, Mazzotti G, Teti G, Perdigao J. Immunohistochemical analysis of collagen fibrils within the hybrid layer: a FEISEM study. *Oper Dent*, 2004. **29**(5): p. 538-46.
100. Spencer P, Wang Y, Walker MP, Wieliczka DM, Swafford JR. Interfacial chemistry of the dentin/adhesive bond. *J Dent Res*, 2000. **79**(7): p. 1458-63.
101. Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to intact dentin. *J Dent Res*, 1996. **75**(9): p. 1706-15.
102. Van Landuyt KL, Kanumilli P, De Munck J, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bond strength of a mild self-etch adhesive with and without prior acid-etching. *J Dent*, 2006. **34**(1): p. 77-85.
103. Cardoso MV, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, Van Meerbeek B. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J*, 2011. **56 Suppl 1**: p. 31-44.
104. Toledano M, Osorio R, de Leonardi G, Rosales-Leal JI, Ceballos L, Cabrerizo-Vilchez MA. Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. *Am J Dent*, 2001. **14**(4): p. 205-10.
105. Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Snauwaert J, Hellemans L, Lambrechts P, Vanherle G, Wakasa K. Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. *J Dent Res*, 2000. **79**(2): p. 709-14.
106. Inoue S, Koshiro K, Yoshida Y, De Munck J, Nagakane K, Suzuki K, Sano H, Van Meerbeek B. Hydrolytic stability of self-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res*, 2005. **84**(12): p. 1160-4.
107. Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Yoshioka M, Snauwaert J, Abe Y, Lambrechts P, Vanherle G, Okazaki M. Adhesion to and decalcification of hydroxyapatite by carboxylic acids. *J Dent Res*, 2001. **80**(6): p. 1565-9.

108. Yoshioka M, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Vanherle G, Nomura Y, Okazaki M, Shintani H, Van Meerbeek B. Adhesion/decalcification mechanisms of acid interactions with human hard tissues. *J Biomed Mater Res*, 2002. **59**(1): p. 56-62.
109. Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent*, 2014. **42**(7): p. 800-7.
110. Wang Y, Spencer P. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. *Eur J Oral Sci*, 2004. **112**(3): p. 293-9.
111. Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosa M, Cadenaro M, Di Lenarda R, Pashley DH, Tay F, Breschi L. Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. *J Dent*, 2014. **42**(5): p. 603-12.
112. Munoz MA, Luque-Martinez I, Malaquias P, Hass V, Reis A, Campanha NH, Loguercio AD. In vitro longevity of bonding properties of universal adhesives to dentin. *Oper Dent*, 2015. **40**(3): p. 282-92.
113. Perdigao J, Kose C, Mena-Serrano AP, De Paula EA, Tay LY, Reis A, Loguercio AD. A new universal simplified adhesive: 18-month clinical evaluation. *Oper Dent*, 2014. **39**(2): p. 113-27.
114. Sofan E, Sofan A, Palaia G, Tenore G, Romeo U, Migliaiu G. Classification review of dental adhesive systems: from the IV generation to the universal type. *Ann Stomatol (Roma)*, 2017. **8**(1): p. 1-17.
115. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials* 2003. **24**: p. 3795-803.
116. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res*, 2003. **82**: p. 141-5.
117. Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc*, 2003. **69**(11): p. 726-31.
118. Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, Yoshida Y, Inoue S, Suzuki K. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J*, 2005. **24**(1): p. 1-13.
119. Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*, 2002. **81**(7): p. 472-6.

120. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent*, 2002. **30**(7-8): p. 371-82.
121. Jacobsen T, Söderholm KJ. Some effects of water on dentinbonding. *Dent Mater* 2017, 1995. **11**: p. 132-6.
122. Mazzoni A, Papa V, Nato F, Carrilho M, Tjaderhane L, Ruggeri Jr. A, Gobbi P, Mazzotti G, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Immunohistochemical and biochemical assay of MMP-3 in human dentine. *J Dent*, 2011. **39**(3): p. 231-7.
123. Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, Biasotto M, Contardo L, Breschi L. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci*, 2005. **113**(6): p. 525-30.
124. Paul SJ, Leach M, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effect of water content on the physical properties of model dentine primer and bonding resins. *J Dent*, 1999. **27**(3): p. 209-14.
125. Cadenaro M, Breschi L, Antonioli F, Navarra CO, Mazzoni A, Tay FR, Di Lenarda R, Pashley DH. Degree of conversion of resin blends in relation to ethanol content and hydrophilicity. *Dent Mater*, 2008. **24**(9): p. 1194-200.
126. Anseth KS, Kline LM, Walker TA, Anderson KJ, Bowman CN. Reaction kinetics and volume relaxation during polymerizations of multiethylene glycol dimethacrylates. *Macromolecules* 1995. **28**: p. 2491-9.
127. Shobha HK, Sankarapandian M, Sun Y, Kalachandra S, McGrath JE, Taylor DF. Effect of dilution on the kinetics of cross-linking thermal polymerization of dental composite matrix resins. *J Mater Sci Mater Med*, 1997. **8**: p. 583-6.
128. Cadenaro M, Breschi L, Rueggeberg FA, Suchko M, Grodin E, Agee K, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH. Effects of residual ethanol on the rate and degree of conversion of five experimental resins. *Dent Mater*, 2009. **25**(5): p. 621-8.
129. Malacarne-Zanon J, Pashley DH, Agee KA, Foulger S, Alves MC, Breschi L, Cadenaro M, Garcia FP, Carrilho MR. Effects of ethanol addition on the water sorption/solubility and percent conversion of comonomers in model dental adhesives. *Dent Mater*, 2009. **25**(10): p. 1275-84.
130. Ye Q, Spencer P, Wang Y. Nanoscale Patterning in Crosslinked Methacrylate Copolymer Networks: An Atomic Force Microscopy Study. *J Appl Polym Sci Symp*, 2007. **106**(6): p. 3843-3851.

131. Ye Q, Park JG, Topp E, Wang Y, Misra A, Spencer P. In vitro performance of nano-heterogeneous dentin adhesive. *J Dent Res*, 2008. **87**(9): p. 829-33.
132. Wang Y, Spencer P, Yao X, Ye Q. Effect of coinitiator and water on the photoreactivity and photopolymerization of HEMA/camphoquinone-based reactant mixtures. *J Biomed Mater Res A*, 2006. **78**(4): p. 721-8.
133. Ilie N, Hickel R. Can CQ be completely replaced by alternative initiators in dental adhesives? *Dent Mater J*, 2008. **27**(2): p. 221-8.
134. Cadenaro M, Antonioli F, Codan B, Agee K, Tay FR, Dorigo Ede S, Pashley DH, Breschi L. Influence of different initiators on the degree of conversion of experimental adhesive blends in relation to their hydrophilicity and solvent content. *Dent Mater*, 2010. **26**(4): p. 288-94.
135. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent*, 1999. **27**(2): p. 89-99.
136. Yoshida E, Uno S, Nodasaka Y, Kaga M, Hirano S. Relationship between water status in dentin and interfacial morphology in all-in-one adhesives. *Dent Mater*, 2007. **23**(5): p. 556-60.
137. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjaderhane L, Toledano M, Pashley EL, Tay FR. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials*, 2006. **27**(25): p. 4470-6.
138. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Uchiyama T, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Thompson JM, McCracken CE, Looney SW, Tay FR, Pashley DH. Inhibition of MMPs by alcohols. *Dent Mater*, 2011. **27**(9): p. 926-33.
139. Bella J, Brodsky B, Berman HM. Hydration structure of a collagen peptide. *Structure*, 1995. **3**(9): p. 893-906.
140. Tjaderhane L, Haapasalo M. Dentin-pulp border: dynamic interface between hard and soft tissues. *Endo Topic*, 2012. **20**: p. 52-84.
141. Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM, Rueggeberg FA, Agee KA, Carrilho M. From dry bonding to waterwet bonding to ethanol-wet bonding. A review of the interactions between dentin matrix and solvated resins using a macromodel of the hybrid layer. *Am J Dent* 2007. **20**: p. 7-21.

142. Wang Y, Spencer P. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. *Eur J Oral Sci*, 2004. **112**(3): p. 293-9.
143. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Monticelli F, Osorio R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin. *J Endod*, 2006. **32**(9): p. 862-8.
144. Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzotti G, Di Lenarda R, Pashley DH, Breschi L. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res*, 2007. **86**(5): p. 436-40.
145. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater*, 1995. **11**(2): p. 117-25.
146. Perdigao J, Swift E. 2006. Fundamental Concepts of Enamel and Dentin Adhesion. In: *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry*. Eds: Roberson TM, St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier.
147. Van Noort R, Noroozi S, Howard IC, Cardew G. A critique of bond strength measurements. *J Dent*, 1989. **17**(2): p. 61-7.
148. Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. The influence of cross-sectional shape and surface area on the microtensile bond test. *Dent Mater*, 1998. **14**(3): p. 212-21.
149. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*, 2005. **84**(2): p. 118-32.
150. Yazici AR, Celik C, Ozgunaltay G, Dayangac B. Bond strength of different adhesive systems to dental hard tissues. *Oper Dent*, 2007. **32**(2): p. 166-72.
151. Proenca JP, Polido M, Osorio E, Erhardt MC, Aguilera FS, Garcia-Godoy F, Osorio R, Toledano M. Dentin regional bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems. *Dent Mater*, 2007. **23**(12): p. 1542-8.
152. Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LH, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater*, 2010. **26**(2): p. e50-62.
153. Ogata M, Nakajima M, Sano H, Tagami J. Effect of dentin primer application on regional bond strength to cervical wedge-shaped cavity walls. *Oper Dent* 1999; **24**: 81-8.

154. Phrukkanon S, Burrow M, Tyas MJ. The effect of dentin location and tubule orientation on the bond strengths between resin and dentine. *J Dent* 1999; 27: 265-74.
155. Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, Fernandes CA, Tay F. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent*, 1999. 1(4): p. 299-309.
156. De Munck J, Van Landuyt KL, Coutinho E, Poitevin A, Peumans M, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. Fatigue resistance of dentin/composite interfaces with an additional intermediate elastic layer. *Eur J Oral Sci*, 2005. 113(1): p. 77-82.
157. Guzman-Armstrong, S, Armstrong SR, Qian F. Relationship between nanoleakage and microtensile bond strength at the resin-dentin interface. *Oper Dent*, 2003. 28(1): p. 60-6.
158. Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dent Mater*, 2010. 26(2): p. e78-93.
159. Salz U, Bock T. Testing adhesion of direct restoratives to dental hard tissue - a review. *J Adhes Dent*, 2010. 12(5): p. 343-71.
160. Usanmaz D, 2005. STM/AFM İle Yüzey Karakterizasyonu, Yüksek lisans Tezi, Gazi üniversitesi, Ankara.
161. Winter A. Professional product review online bonding agents: laboratory testing methods, 2007: ADA.
162. Singh P, Nagpal R, Singh UP. Effect of dentin biomodifiers on the immediate and long-term bond strengths of a simplified etch and rinse adhesive to dentin. *Restor Dent Endod*, 2017. 42(3): p. 188-199.
163. Ekambaram M, Yiu CK, Matinlinna JP. Effect of Solvents on Dentin Collagen Cross-linking Potential of Carbodiimide. *J Adhes Dent*, 2015. 17(3): p. 219-26.
164. Blake-Haskins JC, Mellberg JR, Snyder C. Effect of calcium in model plaque on the anticaries activity of fluoride in vitro. *J Dent Res*, 1992. 71(8): p. 1482-6.
165. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Carrilho M, Breschi L, Tjaderhane L, Nishitani Y, Carvalho RM, Looney S, Tay FR, Pashley DH. The requirement of zinc and calcium ions for functional MMP activity in demineralized dentin matrices. *Dent Mater*, 2010. 26(11): p. 1059-67.

166. Mazzoni A, Angeloni V, Apolonio FM, Scotti N, Tjaderhane L, Tezvergil-Mutluay A, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Effect of carbodiimide (EDC) on the bond stability of etch-and-rinse adhesive systems. *Dent Mater*, 2013. **29**(10): p. 1040-7.
167. Woronko Jr. GA, St Germain Jr. HA, Meiers J.C. Effect of dentin primer on the shear bond strength between composite resin and enamel. *Oper Dent*, 1996. **21**(3): p. 116-21.
168. West NX, Davies M, Amaechi BT. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. *Caries Res*, 2011. **45 Suppl 1**: p. 43-52.
169. Öztürk B. Farklı Adeziv Sistemlerin Bağlanma Dayanımlarının, Mikrosızıntılarının ve Rezin-Dentin Bağlanma Arayüzlerinin Pulpa Odası Duvarında Değerlendirilmesi, 2002, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
170. Mason PN, Ferrari M, Cagidiaco MC, Davidson CL. Shear bond strength of four dentinal adhesives applied in vivo and in vitro. *J Dent*, 1996. **24**(3): p. 217-22.
171. Tosun G, Şener Y, Şengün A. Kompozit rezinin mineye bağlanma dayanımı üzerine farklı saklama solüsyonlarının etkisi. *Haccetepe Üniv Dışhek. Fak. Derg*, 2005. **29**: p. 2-6.
172. Mazzoni A, Scaffa P, Carrilho M, Tjaderhane L, Di Lenarda R, Polimeni A, Tezvergil-Mutluay A, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin MMP-2 and MMP-9. *J Dent Res*, 2013. **92**(1): p. 82-6.
173. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*, 2011. **27**(1): p. 1-16.
174. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjaderhane L, Ruggeri Jr. A, Tay FR, Dorigo Ede S, Pashley DH. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. *Dent Mater*, 2010. **26**(4): p. 320-5.
175. Scaffa PM, Vidal CM, Barros N, Gesteira TF, Carmona AK, Breschi L, Pashley DH, Tjaderhane L, Tersariol IL, Nascimento FD, Carrilho MR. Chlorhexidine inhibits the activity of dental cysteine cathepsins. *J Dent Res*, 2012. **91**(4): p. 420-5.

176. Sadek FT, Braga RR, Muench A, Liu Y, Pashley DH, Tay FR. Ethanol wet-bonding challenges current anti-degradation strategy. *J Dent Res*, 2010. **89**(12): p. 1499-504.
177. Ricci HA, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci*, 2010. **118**(4): p. 411-6.
178. Cova A, Breschi L, Nato F, Ruggeri Jr. A, Carrilho M, Tjaderhane L, Prati C, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH, Mazzoni A. Effect of UVA-activated riboflavin on dentin bonding. *J Dent Res*, 2011. **90**(12): p. 1439-45.
179. Bedran-Russo AK, Pashley DH, Agee K, Drummond JL, Miescke KJ. Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2008. **86**(2): p. 330-4.
180. De Munck J, Mine A, Poitevin A, Van Ende A, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Peumans M, Van Meerbeek B. Meta-analytical review of parameters involved in dentin bonding. *J Dent Res*, 2012. **91**(4): p. 351-7.
181. Chung L, Dinakarandian D, Yoshida N, Lauer-Fields JL, Fields GB, Visse R, Nagase H. Collagenase unwinds triple-helical collagen prior to peptide bond hydrolysis. *EMBO J*, 2004. **23**(15): p. 3020-30.
182. Scheffel DL, Hebling J, Scheffel RH, Agee KA, Cadenaro M, Turco G, Breschi L, Mazzoni A, Costa CA, Pashley DH. Stabilization of dentin matrix after cross-linking treatments, in vitro. *Dent Mater*, 2014. **30**(2): p. 227-33.
183. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, Coutinho E, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 2007. **28**(26): p. 3757-85.
184. Gilles MA, Hudson AQ, Borders Jr. CL. Stability of water-soluble carbodiimides in aqueous solution. *Anal Biochem*, 1990. **184**(2): p. 244-8.
185. Cadenaro M, Fontanive L, Navarra CO, Gobbi P, Mazzoni A, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Effect of carbodiimide on thermal denaturation temperature of dentin collagen. *Dent Mater*, 2016. **32**(4): p. 492-8.
186. Mazzoni A, Angeloni V, Apolonio FM, Scotti N, Tjaderhane L, Tezvergil-Mutluay A, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Effect of carbodiimide

- (EDC) on the bond stability of etch-and-rinse adhesive systems. *Dental Materials*, 2013. **29**(10): p. 1040-1047.
187. Bedran-Russo AKB, Vidal CM, Dos Santos PH, Castellan CS. Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials*, 2010. **94B**(1): p. 250-255.
188. Singh S, Nagpal R, Tyagi SP, Manuja N. Effect of EDTA Conditioning and Carbodiimide Pretreatment on the Bonding Performance of All-in-One Self-Etch Adhesives. *Int J Dent*, 2015. **2015**: p. 141890.
189. Zhang Z, Beitzel D, Majd H, Mutluay M, Tezvergil-Mutluay A, Tay FR, Pashley DH, Arola D. Fatigue resistance of dentin bonds prepared with two- vs. three-step adhesives: Effect of carbodiimide. *Dent Mater*, 2017. **33**(12): p. 1340-1350.
190. Munoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent*, 2013. **41**(5): p. 404-11.
191. Pashaev D, Demirci M, Tekce N, Tuncer S, Baydemir C. The effect of double-coating and times on the immediate and 6-month dentin bonding of universal adhesives. *Biomed Mater Eng*, 2017. **28**(2): p. 169-185.
192. Chen C, Niu LN, Xie H, Zhang ZY, Zhou LQ, Jiao K, Chen JH, Pashley DH, Tay FR. Bonding of universal adhesives to dentine--Old wine in new bottles? *J Dent*, 2015. **43**(5): p. 525-36.
193. McLean DE, Meyers EJ, Guillory VL, Vandewalle KS. Enamel Bond Strength of New Universal Adhesive Bonding Agents. *Oper Dent*, 2015. **40**(4): p. 410-7.
194. Yoshida Y, Yoshihara K, Nagaoka N, Hayakawa S, Torii Y, Ogawa T, Osaka A, Meerbeek BV. Self-assembled Nano-layering at the Adhesive interface. *J Dent Res*, 2012. **91**(4): p. 376-81.
195. Mitra SB, Lee CY, Bui HT, Tantbirojn D, Rusin RP. Long-term adhesion and mechanism of bonding of a paste-liquid resin-modified glass-ionomer. *Dent Mater*, 2009. **25**(4): p. 459-66.
196. Mena-Serrano A, Kose C, De Paula EA, Tay LY, Reis A, Loguercio AD, Perdigao J. A new universal simplified adhesive: 6-month clinical evaluation. *J Esthet Restor Dent*, 2013. **25**(1): p. 55-69.

197. Loguercio AD, de Paula EA, Hass V, Luque-Martinez I, Reis A, Perdigao J. A new universal simplified adhesive: 36-Month randomized double-blind clinical trial. *J Dent*, 2015. **43**(9): p. 1083-1092.
198. Tekce N, Tuncer S, Demirci M, Balci S. Do matrix metalloproteinase inhibitors improve the bond durability of universal dental adhesives? *Scanning*, 2016. **38**: p. 535-44.
199. Rosa WL, Piva E, Silva AF. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent*, 2015. **43**(7): p. 765-76.
200. Goracci C, Rengo C, Eusepi L, Juloski J, Vichi A, Ferrari M. Influence of selective enamel etching on the bonding effectiveness of a new "all-in-one" adhesive. *Am J Dent*, 2013. **26**(2): p. 99-104.
201. El-Safty S, Silikas N, Watts DC. Creep deformation of restorative resin-composites intended for bulk-fill placement. *Dent Mater*, 2012. **28**(8): p. 928-35.
202. Cara RR, Fleming GJ, Palin WM, Walmsley AD, Burke FJ. Cuspal deflection and microleakage in premolar teeth restored with resin-based composites with and without an intermediary flowable layer. *J Dent*, 2007. **35**(6): p. 482-9.
203. Czasch P, Ilie N. In vitro comparison of mechanical properties and degree of cure of bulk fill composites. *Clin Oral Investig*, 2013. **17**(1): p. 227-35.
204. Mobarak EH. Effect of chlorhexidine pretreatment on bond strength durability of caries-affected dentin over 2-year aging in artificial saliva and under simulated intrapulpal pressure. *Oper Dent*, 2011. **36**(6): p. 649-60.
205. Montagner AF, Sarkis-Onofre R, Pereira-Cenci T, Cenci MS. MMP Inhibitors on Dentin Stability: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res*, 2014. **93**(8): p. 733-43.
206. Sauro S, Mannocci F, Toledano M, Osorio R, Pashley DH, Watson TF. EDTA or H3PO4/NaOCl dentine treatments may increase hybrid layers' resistance to degradation: a microtensile bond strength and confocal-micropermeability study. *J Dent*, 2009. **37**(4): p. 279-88.
207. Li H, Burrow MF, Tyas MJ. The effect of thermocycling regimens on the nanoleakage of dentin bonding systems. *Dent Mater*, 2002. **18**(3): p. 189-96.
208. Dos Santos PA, Garcia PP, Palma-Dibb RG. Shear bond strength of adhesive systems to enamel and dentin. Thermocycling influence. *J Mater Sci Mater Med*, 2005. **16**(8): p. 727-32.

209. Heitze SD. Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. *Dent Mater*, 2013. **29(1)**: p. 59-84.
210. Bedran-De-Castro AK, Pereira PN, Pimenta LA. Long-term bond strength of restorations subjected to thermo-mechanical stresses over time. *Am J Dent*, 2004. **17(5)**: p. 337-41.
211. Amaral FL, Colucci V, Palma-Dibb RG, Corona SA. Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review. *J Esthet Restor Dent*, 2007. **19(6)**: p. 340-53; discussion 354.
212. Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J, Pashley DH. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res*, 1999. **78(4)**: p. 906-11.
213. Shono Y, Terashita M, Shimada J, Kozono Y, Carvalho RM, Russell CM, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds. *J Adhes Dent*, 1999. **1(3)**: p. 211-8.
214. Osorio R, Pisani-Proenca J, Erhardt MC, Osorio E, Aguilera FS, Tay FR, Toledano M. Resistance of ten contemporary adhesives to resin-dentine bond degradation. *J Dent*, 2008. **36(2)**: p. 163-9.
215. Hashimoto, M., et al., Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 year of water storage. *J Biomed Mater Res*, 2002. **63(3)**: p. 306-11.
216. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Tay FR, Kaga M, Kudou Y, Oguchi H, Araki Y, Kubota M. Ten-years degradation of resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci*, 2010. **118(4)**: p. 404-10.
217. Sudsangiam S, van Noort R. Do dentin bond strength tests serve a useful purpose? *J Adhes Dent*, 1999. **1(1)**: p. 57-67.
218. Schreiner RF, Chappell RP, Glaros AG, Eick JD. Microtensile testing of dentin adhesives. *Dent Mater*, 1998. **14(3)**: p. 194-201.
219. Armstrong SR, Boyer DB, Keller JC. Microtensile bond strength testing and failure analysis of two dentin adhesives. *Dent Mater*, 1998. **14(1)**: p. 44-50.
220. Luhrs AK, Pongprueksa P, De Munck J, Geurtsen W, Van Meerbeek B. Curing mode affects bond strength of adhesively luted composite CAD/CAM restorations to dentin. *Dent Mater*, 2014. **30(3)**: p. 281-91.
221. Atsu SS, Kilicarslan MA, Kucukesmen HC, Aka PS. Effect of zirconium-oxide ceramic surface treatments on the bond strength to adhesive resin. *J Prosthet Dent*, 2006. **95(6)**: p. 430-6.

222. Macedo de Lima JF, Yamauchi M, Bedran-Russo AK. Effect of adhesive mode and chlorhexidine on microtensile strength of universal bonding agent to sound and caries-affected dentins. *Eur J Dent*, 2018. **12**(4): p. 553-558.



EKLER

EK-A:ETİK KURUL ONAYI

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU (2011 - KAER-80)

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Carbodiimide'nin universal adeziv sistemlerin dentin bağlanma dayanımı üzerine etkisinin mikrogerilim test yöntemiyle incelenmesi				
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU						
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	BELGE ADI	Açıklama				
	SIGORTA					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ					
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU					
	ILAN					
	YILLIK BİLDİRİM					
	SONUÇ RAPORU					
	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ					
DİĞER						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No :	2017/534	Tarih :	24.11.2017		
	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.					

Funda HANCIZMECİ
Etik Kurul Sekreteri

KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI						
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI		Prof. Dr. Sami Aydoğan				
Unvanı / Adı Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	Araştırma ile İlişki	Katılım (*)	İmza
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK	Halk Sağlığı	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Kemal DENİZ	Patoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Aydın ÜNAL	İç Hastalıklar	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Güven KAHRIMAN	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Kemal ÖZYURT	Dermatoloji	Kayseri Eğitim Hast.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Emin Murat CANGER	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	E.Ü. Diş Hek. Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Cihangir BIÇER	Anest. ve Rean.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Fatih KARDAŞ	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Serpil TAHERİ	Tıbbi Biyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yard. Doç. Dr. Zafer SEZER	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Yard. Doç. Dr. Gökmen ZARARSIZ	Biyostatistik	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Av. Serhat ÜSTÜNEL	Avukat	HUKUK MÜŞAVİRİ	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Şükran TERZİ	Eczacı	Serbest Eczacı	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Sevta Koçer	Sivil Üye	Serbest	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

* Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN
İmza:

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

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU (2011 - KAEK-80)

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Carbodiimide'nin universal adeziv sistemlerin dentin bağlanma dayanımı üzerine etkisinin mikrogerilim test yöntemiyle incelenmesi		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU				
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	ERCIYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
	AÇIK ADRES	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı/KAYSERİ		
	TELEFON	0 352 437 49 10 - 11		
	FAKS	0 352 437 52 85		
	E-POSTA	sukriye@erciyes.edu.tr		
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI / ADI / SOYADI	Yrd.Doç.Dr.Kanşad Pala		
	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Restoratif Diş Tedavisi		
	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi A.B.D, Kayseri		
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ ADI SOYADI			
	DESTEKLEYİCİ			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMCİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>	
FAZ 4		<input type="checkbox"/>		
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>		
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>		
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>	x	
Diğer ise belirtiniz		<input type="checkbox"/>	Uzmanlık Tezi	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOKMERKEZ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/> ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Ünvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN
İmza:

(Handwritten signature)



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

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ayşe Nur DOĞAN

Doğum Tarihi: 05.04.1992

Yabancı Dil: İngilizce

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi
ABD, Kayseri

Telefon: 0534 301 1118

E-mail: dtaysenurdmrplt@gmail.com

Ünvanı: Araştırma görevlisi

EĞİTİM

Derece	Bölüm/Program	Kurum	Yıl
Temel Eğitim	İlkokul	Gazi İlköğretim Okulu	1998-2005
Orta Öğretim	Lise	Çubuk Bey Anadolu Lisesi	2005-2009
Lisans/Y.Lisans	Diş Hekimliği Fakültesi	Erciyes Üniversitesi	2009-2014
Uzmanlık	Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı	Erciyes Üniversitesi	2016-2019