

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RESTORASYONLARIN DENTİNE BAĞLANMA
KUVVETİ ÜZERİNE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ İNHİBİTÖRÜ OLAN KAFEİK
ASİT FENİL ESTERİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Diş Hekimi
Nazan KARA

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nesrin ERONAT

İZMİR
2015

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RESTORASYONLARIN DENTİNE BAĞLANMA
KUVVETİ ÜZERİNE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ İNHİBİTÖRÜ OLAN KAFEİK
ASİT FENİL ESTERİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Diş Hekimi
Nazan KARA

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nesrin ERONAT

İZMİR
2015

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan : Prof. Dr. Nesrin ERONAT
(Danışman)

Üye : Prof. Dr. Cemal ERONAT

Üye : Prof. Dr. Mine DÜNDAR ÇÖMLEKOĞLU

Üye : Prof. Dr. Mutlu ÖZCAN

Üye : Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ

Doktora tezinin kabul edildiği tarih:

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince ve tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nesrin ERONAT'a emekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmam sırasında gösterdiği ilgi, destek ve yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Cemal ERONAT'a, Sayın Prof. Dr. Mine DÜNDAR ÇÖMLEKOĞLU'na ve değerli fikirleriyle tezimin her aşamasında bana katkıda bulunan Sayın Prof. Dr. Mutlu ÖZCAN'a,

SEM çalışmaları sırasında her türlü desteği sağlayan Dr. Tuğba TÜRK'e, istatistiksel analizlerde destek olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Timur KÖSE'ye,

Bilimsel alanda bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve her konuda manevi desteğini hissettiren Doç. Dr. Arzu AYKUT YETKİNER'e ve Doç. Dr. Enver YETKİNER'e,

Doktora çalışmalarım sırasında bilgi ve desteklerini esirgemeyen Pedodonti Anabilim Dalı değerli öğretim üyelerine, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize ve bölümümüz çalışanlarına,

Sonsuz emek, sevgi ve sabırları ile beni bugünlere getiren, hayatımın her alanında olduğu gibi doktora eğitimim sırasında da beni hep destekleyen, her zaman yanımda olan canım anneme, canım babama ve varlıklarından büyük mutluluk ve gurur duyduğum biricik kardeşlerime, sevgi ve desteğini hep yanımda hissettiğim meslektaşım ve canım dostum İsmigül ALPTEKİN'e

Tüm kalbimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İzmir-2015

Dt. Nazan KARA

ÖZET

Restorasyonların Dentine Bağlanma Kuvveti Üzerine Matriks Metalloproteinaz İnhibitörü Olan Kafeik Asit Fenil Esterin Etkisinin İncelenmesi

Bu çalışmanın amacı; dentinde matriks metalloproteinaz (MMP) enzimlerinin aktivitesini inhibe ettiği bildirilen kafeik asit fenil esterinin (CAPE), total-etch veya self-etch adeziv sistemler öncesi uygulanmasının, rezin restorasyonların dentine olan mikrogerilim bağlanma dayanımı (MTBS) üzerine etkisinin araştırılması ve rezin-dentin ara yüzünün taramalı elektron mikroskopunda (SEM) incelenmesidir.

Çalışmaya ortodontik tedavi amacıyla premolar dişleri çekilecek olan 12-18 yaş grubunda 10 hasta dahil edildi. Dişlerin okluzal yüzünde dentini içine alan standart iki adet kavite açıldı. Her hastada hazırlanan dört kavite rastgele dört uygulama grubuna ayrıldı (n=10); Grup TC: Asitleme, sonrasında 60 sn CAPE ve total-etch adeziv (Syntac; Ivoclar Vivadent AG), Grup T: Total-etch adeziv (kontrol), Grup SC: 60 sn CAPE ve self-etch adeziv (AdheSE; Ivoclar Vivadent AG), Grup S: Self-etch adeziv (kontrol) uygulamaları yapıldı. Daha sonra tüm kaviteler nanohibrit yapıda rezin kompozit materyali (Tetric N-Ceram; Ivoclar Vivadent AG) ile restore edildi. Kullanılan materyaller üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulandı. Uygulamalardan üç ay sonra dişler çekildi. Çekilen dişler akrilik bloklara gömülerek dişlerden önce 1 mm'lik kesitler alındı (Isomet; Buehler, Lake Bluff, IL, USA). Daha sonra kesitlere dik yönde kesimler yapılarak 1.00±0.03 mm²'lik dentin-kompozit çubukları elde edildi. Hazırlanan örneklere MTBS testi (EZ-Test-500 N Shimadzu, Kyoto, Japan) uygulandı. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Repeated Measure Anova Testi kullanıldı. Ayrıca her gruptan seçilen dentin-kompozit çubuk örneklerin, rezin-dentin bağlanma ara yüzü ve kopma yüzeyleri Fe-SEM ve SEM ile incelendi.

Mikrogerilim bağlanma dayanım testi sonuçlarına göre, total-etch ve self-etch adeziv öncesinde MMP inhibitörü olarak CAPE'in dentine uygulanmasının (Grup

TC ve SC), rezin restorasyonların bağlanma dayanımı değerlerini her iki kontrol grubuna (Grup T ve S) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı saptandı ($p < 0,05$). Total-etch ve self-etch adezivlerin CAPE ön uygulaması ile birlikte kullanıldığı grupların (Grup TC ve SC) bağlanma dayanım değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0,05$). Total-etch ve self-etch adeziv uygulanan kontrol gruplarının (Grup T ve S) bağlanma değerleri arasında da anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı ($p > 0,05$). Örneklerin SEM incelemesi sonucunda, CAPE ön uygulaması yapılan total-etch ve self-etch adeziv gruplarında hibrit tabakanın bütünlüğünü koruduğu ve rezin-dentin ara yüzünde sıkı bir bağlantının olduğu gözlemlendi. Her iki kontrol grubunda benzer şekilde hibrit tabaka düzenli bir şekilde izlendi.

Sonuç olarak bu çalışmada rezin restorasyonlarda, total-etch ve self-etch adeziv uygulaması öncesinde dentine CAPE uygulanmasının, restorasyonların bağlanma dayanımını arttırdığı belirlendi. CAPE'in rezin restorasyonlarda MMP inhibitörü olarak kullanılabileceği, konu ile ilgili daha fazla klinik ve laboratuvar çalışmalarına gerek olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Matriks metalloproteinaz inhibitörü; Kafeik asit fenil ester; Mikrogerilim bağlanma dayanım testi; Hibrit tabaka; Dentin

ABSTRACT

Effect of caffeic acid phenethyl ester as a matrix metalloproteinase inhibitor on bond strength of restorations to dentin

The aim of this study was to evaluate the effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) pretreatment used as matrix metalloproteinase (MMP) inhibitor on microtensile bond strength (MTBS) of resin restorations applied either with total-etch or self-etch adhesive systems. Scanning electron microscope (SEM) evaluation of resin-dentin interface was also performed on the prepared specimens.

Ten patients aged between 12-18 who have pairs of caries-free contralateral premolars which were planned to be extracted for orthodontic treatment enrolled in the study. Standard two cavities were prepared on the occlusal surfaces of premolars. Totally four cavities in each patient were randomly assigned into four treatment groups (n=10); Group TC: After acid etching, 60 s CAPE and then total-etch adhesive (Syntac; Ivoclar Vivadent AG), Group T: Total-etch adhesive (control), Group SC: 60 s CAPE and self-etch adhesive (AdheSE; Ivoclar Vivadent AG), Group S: Self-etch adhesive (control) were applied on dentin surfaces. All cavities were restored with a nanohybrid resin composite (Tetric N-Ceram; Ivoclar Vivadent AG). Materials were applied according to the manufacturers' instructions. After three months of intra-oral functioning, the teeth were extracted. The extracted teeth were embedded into acrylic blocks and 1 mm² dentin-composite sticks were obtained from each restoration (Isomet; Buehler, Lake Bluff, IL, USA) in purpose of using for MTBS test (EZ-Test-500 N Shimadzu, Kyoto, Japan). Data were analyzed statistically using Repeated Measure Anova test. Failure surfaces and resin-dentin interface of dentin-composite sticks selected from each group were evaluated under Fe-SEM and SEM.

According to the results of MTBS test, higher bond strength values were observed when CAPE pretreatment was applied in both adhesive groups (Group TC

and SC) compared to control groups (Group T and S) statistically ($p < 0.05$). There was no significant difference between Groups TC and SC. Also no difference was found between the bond strength values of total-etch and self-etch control groups. SEM results showed that, the integrity of hybrid layer was preserved and tight attachment was observed in resin-dentin interface when CAPE pretreatment was applied in both Groups TC and SC. In control groups regular and intact hybrid layer was observed as well.

In this study it is concluded that since CAPE pretreatment on dentin surfaces significantly increased the MTBS of resin restorations applied with either total-etch or self-etch adhesive system it can be used as MMP inhibitor. Further laboratory and clinical studies of the effect of CAPE pretreatment on the long-term bond strength of resin restorations is needed.

Key words: Matrix metalloproteinase inhibitor; Caffeic acid phenethyl ester; Microtensile bond strength test; Hybrid layer; Dentin

İÇİNDEKİLER

TEZ DEĞERLENDİRME KURULU SAYFASI	I
ÖNSÖZ	II
ÖZET	III
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VII
TABLolar DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
RESİMLER DİZİNİ	XIII
GRAFİKLER DİZİNİ	XVI
KISALTMALAR LİSTESİ	XVII
BÖLÜM I	
GİRİŞ	1
BÖLÜM II	
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Diş Sert Dokularına Bağlanma (Adezyon)	4
2.1.1. Adezyon Mekanizmaları	5
2.1.2. Diş Dokularına Adezyonu Etkileyen Faktörler	6
2.1.3. Mine ve Dentin Dokusuna Adezyon	7
2.1.3.1. Mine Dokusunun Özellikleri	7

2.1.3.2. Mine Dokusuna Adezyon	8
2.1.3.3. Dentin Dokusunun Özellikleri	10
2.1.3.4. Dentin Dokusuna Adezyon	13
2.2. Diş Hekimliğinde Kullanılan Adeziv Sistemler	17
2.2.1. Adeziv Sistemlerin Kronolojik Sınıflandırılması	17
2.2.2. Adeziv Sistemlerin Güncel Sınıflandırılması	20
2.2.2.1. Tolal-etch Adezivler	21
2.2.2.2. Self-etch Adezivler	28
2.2.2.3. Cam İyonomer Adezivler	33
2.3. Adeziv Sistemlerin Laboratuvarda Test Edilmesi	34
2.3.1. Bağlanma Dayanımı Testleri	35
2.3.1.1. Mikrogerilim Bağlanma Dayanımı (MTBS) Testi	36
2.4. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)	38
2.4.1. Matriks Metalloproteinaz Enzimlerinin Genel Özellikleri ve Fizyolojik Fonksiyonları	38
2.4.1.1. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması	39
2.4.1.2. Matriks Metalloproteinazların Moleküler Yapıları	45
2.4.1.3. Matriks Metalloproteinazların Aktive Edilmesi	47
2.4.1.4. Matriks Metalloproteinazların İnhibe Edilmesi	48
2.4.1.4.1. Matriks Metalloproteinazların Sentetik İnhibitörleri	49
2.4.2. Diş Hekimliğinde Matriks Metalloproteinaz Enzimleri	49
2.4.2.1. Mine ve Dentin Yapısında Matriks Metalloproteinazlar	50
2.4.2.2. Çürük Oluşumunda Matriks Metalloproteinazların Rolü ...	51

2.4.2.3. Rezin Restorasyonların Dentine Bağlanması ile Matriks Metalloproteinazların İlişkisi	52
2.4.2.3.1. Periodontal Dokular ve Matriks Metalloproteinazların İlişkisi	54
2.4.2.4. Diş Hekimliğinde Matriks Metalloproteinaz İnhibitörü Ajanlar ve Dentine Bağlanmaya Etkileri	54
2.4.2.4.1. Klorheksidin (CHX)	55
2.4.2.4.2. Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA)	57
2.4.2.4.3. Galardin	58
2.4.2.4.4. Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE)	58
BÖLÜM III	
GEREÇ VE YÖNTEM	62
3.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta ve Dişlerin Seçimi	62
3.2. Çalışmada Kullanılan Materyaller	63
3.3. Kavitelerin Hazırlanması ve Materyallerin Uygulanması	66
3.4. Mikrogerilim Bağlanma Dayanım Testi için Örneklerin Hazırlanması	72
3.5. Mikrogerilim Bağlanma Dayanım Testinin Uygulanması	74
3.6. Mikrogerilim Bağlanma Dayanım Testi Uygulanan Örneklerin Kırılma Tipinin Belirlenmesi	76
3.7. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi için Örneklerin Hazırlanması	76
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	77
BÖLÜM IV	
BULGULAR	78

4.1. Mikrogerilim Bağlanma Dayanımı Testi Bulguları	78
4.2. Kırılma Tipi Bulguları	82
4.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Bulguları	83
4.3.1. Rezin-Dentin Arayüzü ve Hibrit Tabakanın SEM Bulguları	83
4.3.2. Örneklerin Kırılma Yüzeylerine ait SEM Görüntüleri	90
BÖLÜM V	
TARTIŞMA	96
BÖLÜM VI	
SONUÇ ve ÖNERİLER	111
BÖLÜM VII	
KAYNAKLAR	113
EK 1	131
EK 2	133
ÖZGEÇMİŞ	135

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1	: Matriks metalloproteinazların altı ana grupta sınıflandırılması	41
Tablo 2	: Yapı ve gruplarına göre MMP'lerin hücrel kaynağı ve etki ettikleri matriks substratları	42
Tablo 3	: Çalışmada kullanılan materyallerin kimyasal içerikleri ve üretici firmaları	65
Tablo 4	: Çalışma grupları ve her grupta uygulanan işlem basamakları	68
Tablo 5	: Mikrogerilim bağlanma dayanım testi için kullanılacak ve dört ayrı uygulama grubunda yer alacak premolar dişler ve okluzal yüzeylerine açılan kavitelelerin randomizasyon tablosu	69
Tablo 6	: Çalışmadaki gruplara ait mikrogerilim bağlanma dayanımı testi minimum (min), maksimum (max) ve ortalama \pm standart sapma (ort \pm SS), değerleri (MPa)	79
Tablo 7	: Adeziv sistem ve CAPE uygulanmasının bağlanma dayanımı üzerine etkisini değerlendirmede kullanılan istatistiksel analiz (Repeated Measure ANOVA) sonuçları	81
Tablo 8	: Mikrogerilim bağlanma dayanım testi sonucu gruplarda oluşan kırılma tipleri ve dağılımı	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1	: Minenin kimyasal olarak a) hacimce ve b) ağırlıkça oranları	8
Şekil 2	: Kron kök dentininin farklı derinliklerinde kanal çaplarının genişliği; A) Yüzeysel dentin B) Derin dentin C) Kök bölgesindeki yüzeysel dentin D) Kök bölgesindeki derin dentin	11
Şekil 3	: Dentinin kimyasal olarak a) hacimce ve b) ağırlıkça oranları	12
Şekil 4	: Güncel sınıflandırmaya göre adeziv sistemler	21
Şekil 5	: Matriks metalloproteinazların moleküler yapısı	47
Şekil 6	: Klorheksidinin moleküler yapısı ($C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$)	56
Şekil 7	: Kafeik asit fenitil esterinin moleküler yapısı ($C_{17}H_{16}O_4$)	60
Şekil 8	: Çalışma gruplarının şematik olarak gösterilmesi	67

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 1	: Çalışmada kullanılan materyaller; a) Total-etch adeziv sistem (Syntac), b) Self-etch adeziv sistem (AdheSE), c) Kompozit rezin (Tetric N-Ceram)	64
Resim 2	: a) Alt çenede simetrik olarak ikinci premolar dişlerde hazırlanan kaviteler, b) Hazırlanan kavitelerin yakından görünümü	66
Resim 3	: Çekilen dişlerin distile suda saklanması	71
Resim 4	: a) Akril bloklara gömülen premolar diş örnekleri	72
Resim 5	: a) İso met kesme cihazı, b) İso met kesme cihazı ile dişlerden kesit alınması	73
Resim 6	: a) Akril bloğa gömülü dişlerde vertikal yönde kesim yapılması, b) Akril blokların 90° döndürülerek yeniden kesim yapılması, c) Kare kesitli dentin-kompozit çubuklarının elde edilmesi, d) Dentin-kompozit çubuk örneği	73
Resim 7	: Mikrogerilim test cihazı	74
Resim 8	: Test cihazına iki ucundan yapıştırılan test çubuğu	74
Resim 9	: Test cihazına yerleştirilen örnekte kırılma meydana gelmesi	75
Resim 10	: Dijital mikrometre ile örneklerin uzunluklarının ölçülmesi	75
Resim 11	: a) Total-etch adeziv grubuna (Grup T) ait örnekte rezin-dentin ara yüzünün SEM görüntüsü (X1000), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500)	84

- Resim 12 : A) CAPE+Total-etch grubuna (Grup TC) ait örnekte rezin-dentin ara yüzünün SEM görüntüsü (X1000), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500) 84
- Resim 13 : Total-etch adeziv grubuna (Grup T) ait örneğin SEM görüntüsü; hibrit tabakada dentin tübülleri içerisinde uzanan rezin uzantılarının farklı büyütmelerdeki görüntüleri (X500, X750, X2000) 85
- Resim 14 : a) Total-etch adeziv grubuna (Grup T) ait örneğin SEM görüntüsü; hibrit tabakada dentin tübülleri içine uzanan rezin uzantıları (X200), b) Okla gösterilen bölgede rezin uzantılarının daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X500) 86
- Resim 15 : CAPE+Total-etch adeziv grubuna (Grup TC) ait örneğin SEM görüntüsü; hibrit tabakada dentin tübülleri içine uzanan rezin uzantıları (X500), b) Okla gösterilen bölgede rezin uzantılarının daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X1000) 86
- Resim 16 : a) Self-etch adeziv grubuna (Grup S) ait örnekte rezin-dentin ara yüzünün SEM görüntüsü (X1000), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500) 87
- Resim 17 : a) CAPE+Self-etch adeziv grubuna (Grup SC) ait örneğin rezin-dentin ara yüzünün SEM görüntüsü (X1000), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500) 88
- Resim 18 : Self-etch adeziv grubuna (Grup S) ait örnekte hibrit tabakada dentin tübülleri içerisindeki rezin uzantılarının görüntüsü oklarla gösterilmektedir (X500) 88
- Resim 19 : CAPE+Self-etch adeziv grubuna (Grup SC) ait örnekte hibrit tabakada dentin tübülleri içerisindeki rezin uzantılarının görüntüsü okla gösterilmektedir (X500), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X150) 89
- Resim 20 : Total-etch adeziv kontrol grubuna (Grup T) ait adeziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X75) 90

- Resim 21 : a) Total-etch adeziv grubuna (Grup T) ait dentin-kompozit çubuğu örneğinin SEM görüntüsü; kompozit içinde koheziv kırılma görülmektedir (X75), b,c,d) Aynı örneğe ait okla gösterilen dentin-kompozit bağlanma bölgesinin daha büyük büyütmelelerdeki görüntüleri (X500, X1000, X2500) 91
- Resim 22 : a) CAPE + Total-etch adeziv grubuna (Grup TC) ait adeziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X75), b,c) Adeziv kırılma görülen aynı örnekte dentin yüzeyinin farklı büyütmelelerdeki SEM görüntüsü (X500, X1000), d) Okla gösterilen bölgenin büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500) 92
- Resim 23 : a) CAPE + Total-etch adeziv grubuna ait örnekte (Grup TC) miks kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X100) Kırılmanın bir kısmının rezin bir kısmının ise dentinde gerçekleştiği gözlenmektedir. b) Resin parçanın koştığı dentin yüzeyinde hibrit tabakanın yer yer bozulduğu, okla gösterilen bölgede ise daha düzenli olduğu izlenmektedir (X150) 93
- Resim 24 : CAPE + Total-etch adeziv uygulanan gruba (Grup TC) ait örnekte, kompozit içinde koheziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X75) 93
- Resim 25 : Self-etch adeziv grubuna (Grup S) ait örnekte adeziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X150) 94
- Resim 26 : a) CAPE+Self-etch adeziv grubuna (Grup SC) ait örnekte miks kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X250), b) Aynı örneğin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X500) 94
- Resim 27 : a) CAPE+Self-etch adeziv grubuna ait örnekte (Grup SC) kompozit içinde koheziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X75), b) Aynı örneğe ait dentin-kompozit bağlanma bölgesinin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X1000) 95

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

- Grafik 1 : Dört uygulama grubuna ait MTBS testi ortalama değerlerinin (Mpa) grafik ile gösterilmesi 79
- Grafik 2 : CAPE ön uygulaması yapılan ve yapılmayan (kontrol) total-etch ve self-etch adeziv gruplarında mikrogerilim bağlanma dayanım değerlerinin grafik ile gösterilmesi 81
- Grafik 3 : Mikrogerilim bağlanma dayanım testi sonucu dört grupta gözlenen kırılma tipi dağılımının grafik ile gösterilmesi 82

KISALTMALAR LİSTESİ

MMP	: Matriks Metalloproteinaz
CAPE	: Kafeik Asit Fenil Ester (Caffeic Acid Phenethyl Ester)
CHX	: Klorheksidin
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik asit
MTBS	: Mikrogerilim Bağlanma Dayanımı (Microtensile Bond Strength)
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopu (Scanning Electron Microscope)
Fe-SEM	: Field Emission Scanning Electron Microscope
Sn	: Saniye
mm	: Milimetre
μm	: Mikrometre
mm-Hg	: Milimetre civa
NPG-GMA	: N-Fenilglisin-Glisidil Metakrilat
MPa	: Megapaskal
Bis-GMA	: Bisfenol Glisidil Metakrilat
4-META	: 4-Metakriloksietil Trimellitat Anhidrit
HEMA	: Hidroksi Etil Metakrilat
Fenil-P	: Fenil Hidrojen Fosfat
UDMA	: Üretan Dimetakrilat
TEGDMA	: Trietilen Glikol Dimetakrilat
MDP	: Metakriloksidesil Dihidrojen Fosfat

Zn	: Çinko
Ca	: Kalsiyum
TIMP	: Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü (Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase)
MT-MMP	: Membran Tipi Matriks Metalloproteinaz
HOCl	: Hipokloröz asit
CMT	: Kimyasal Modifiye Tetrasiklinler
SIBLING	: Small Integrin Binding Ligand N-linked Glycoproteins
BSP	: Kemik Sialoprotein (Bone Sialoprotein)
OPN	: Osteoprotein
DMP 1	: Dentin Matriks Proteini 1
DOS	: Dişeti Oluğu Sıvısı
DMSO	: Dimetilsülfoksit
NF-kappaB	: Nükleer Transkripsiyon Faktörü
ml	: Mililitre
LED	: Işık Yayan Diyot (Light Emitting Diode)
ANOVA	: Varyans Analizi (Analysis of Variance)
ISO	: Uluslararası Standartlar Organizasyonu (International Organization for Standardization)
TEM	: Geçirmeli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscope)

BÖLÜM I

GİRİŞ

Diş çürüğü, çocukluk çağlarından itibaren bireyleri etkileyen, diş sert dokularının mikroorganizmalar tarafından yıkımı sonucu ortaya çıkan kronik, enfeksiyöz bir hastalıktır (1). Çürük dişler, doğal diş dokuları ile estetik, fiziksel, mekanik ve biyolojik olarak uyumlu materyaller ile restore edilmektedir. Son yıllarda çocuklarda ve yetişkinlerde estetiğe verilen önemin artması ve minimal invaziv teknikler, gerek ön gerekse arka dişlerde rezin esaslı restoratif materyallerin kullanımını yaygınlaştırmıştır. Diş rengindeki ve rezin yapıdaki bu restoratif materyaller, diş dokuları ile iyi bir bağlanma sağlanması ve polimerizasyon büzülmesi sonucu ortaya çıkan mikrosızıntının önlenmesi amacıyla, adeziv sistemler ile birlikte kullanılmaktadır. Adeziv sistemler başlıca; diş dokularının fosforik asit ile pürüzlendirilmesinden sonra bağlayıcı rezinin uygulandığı “total-etch” sistemler ve kendinden asitli olan “self-etch” sistemler olarak iki ana grupta sınıflandırılmaktadır (2).

Günümüzde rezin-dentin arasındaki bağlanma dayanıklılığını artırmak için adezivlerin kimyasal ve teknik özelliklerinin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalara devam edilmektedir. Resin esaslı restoratif materyallerin dentin dokusuna iyi bir şekilde bağlanması, rezin-dentin arasında varlığı saptanmış olan hibrit tabakanın kalitesi ve devamlılığına bağlıdır (2). Yapılan birçok çalışmada, restorasyonların dentine bağlanmasında zamanla bozulma olduğu gösterilmiştir (3,4). Adezivlerin uygulandığı mine ve dentin dokusunun yapısal özellikleri, farklı yüzey hazırlama teknikleri, adezivlerin yapısında ve uygulama yöntemlerindeki farklılıklar, restorasyonların klinik başarısını etkilemektedir (5).

Matriks metalloproteinazlar (MMP) kalsiyum ve çinkoya bağlı konak kaynaklı endojen enzimlerdir. Bu proteinazlar gelişim, doku şekillenmesi, angiogenez, dentinogenez gibi bazı fizyolojik olaylarda önemli rol oynarlar. Ayrıca tümör gelişimi gibi patolojik olaylarda etkili oldukları saptanmıştır. Bu enzimlerin dentin

dokusu içerisinde bulunan kollajen fibrillerin yapısında da buldukları gösterilmiştir ve ekstrasellüler matriksin bozulmaya uğramasından sorumludurlar. (6).

Son yıllarda MMP'lerin, diş çürüğü ve periodontal hastalıkların patojenezinde gözlenen kollajen parçalanmasında rol oynadığı gösterilmiştir. Çalışmalar en çok MMP-2, -8 ve -9 üzerinde yoğunlaşmış ve bu enzimlerin hibrit tabakanın yapısının bozulmasında da etkili oldukları bildirilmiştir (7,8,9). Yapılan çalışmalarda adeziv sistemlerin asidik özellikleri nedeniyle, MMP'lerin aktive olması sonucu ortaya çıkan hidrolitik bozulmanın, rezin-dentin arasındaki bağlanmayı zayıflattığı belirlenmiştir (8,9).

Yakın zamanlarda yapılan çalışmalar dentinde bu enzimlerin yol açtığı kollajenolitik ve jelatinolitik aktivitelerin, proteaz inhibitörleri ile baskılanabildiğini ortaya koymuştur (10,11). Bu çalışmalarda, dentin yüzeyine adeziv uygulaması öncesinde MMP inhibitörü ajanların uygulanması ile rezin-dentin bağlantısının uzun süre bozulmadan kalmasının sağlanabileceği ileri sürülmüştür. Bu amaçla matriks metalloproteinaz inhibitörü olarak; klorheksidin, galardin, etilen diamintetraasetik asit (EDTA), polivinil fosfonik asit gibi ajanların kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır. Özellikle klorheksidinin, birçok çalışmada, MMP enzimlerinin aktivitelerinin baskılanmasında etkili olduğu bildirilmiştir (7,12). Günümüzde dentindeki MMP enzim aktivitesini önlemek amacıyla yeni ajan arayışı devam etmektedir. Bununla ilgili olarak; yeşil çay, avokado, soya fasulyesi gibi doğal maddelerin de MMP enzimlerini inhibe ettiği rapor edilmiştir (12).

Propolis bal arılarının ürettiği doğal bir maddedir ve tıp ve diş hekimliği alanlarında özellikle antiinflamatuar, antiseptik özellikleri ile kullanımı gündemdedir. Kafeik asit fenil ester (CAPE) ise, propolisin biyolojik olarak aktif bir bileşendir ve antioksidan, antiinflamatuar, antiviral, immun uyarıcı, karsinostatik ve antimetastatik özellikleri olduğu rapor edilmiştir (13). Tıp alanında yapılan birçok çalışmada, CAPE'in MMP enzimlerini inhibe ederek karsinostatik ve antimetastatik etki oluşturduğu bildirilmiştir (14,15). Diş hekimliğinde ise CAPE ile ilgili yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan *in vitro* bir çalışmada CAPE ilk kez dentinde MMP enzim aktivitesini önlemek amacıyla kullanılmış ve rezin restorasyon yapıldıktan sonra zaman içinde hibrit tabakada meydana gelen bozulma ve bunun sonucu oluşan nanosızıntıda azalma olduğu bildirilmiştir (16).

Bu çalışmanın amacı; MMP inhibitörü olarak kullanılan % 5'lik CAPE solüsyonunun, kaviteye total-etch ve self-etch adeziv sistemler öncesinde uygulanmasının, rezin içerikli restorasyonun dentine olan bağlanma dayanıklılığı üzerine etkisinin araştırılması ve rezin-dentin ara yüzünün taramalı elektron mikroskopunda (SEM) incelenmesidir.



BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1. Diş Sert Dokularına Bağlanma (Adezyon)

Restoratif diş hekimliğinde rezin restorasyonların dişe adezyonunun sağlanması için atılan ilk adım, 1955 yılında Buonocore'nin ileri sürdüğü asitle pürüzlendirme yöntemidir (17). Daha sonra adeziv sistemler geliştirilmiş ve günümüzde “adeziv diş hekimliği” adı verilen kavram ortaya çıkmıştır. Dentin ile rezin arasındaki bağlantının temel amacı, demineralize dentin dokusunda meydana gelen porözitelere restoratif materyalin adezyonudur (2). Bu bağlantının nasıl oluştuğu ve uzun süre bozulmadan kalmasını sağlayabilecek faktörlerin bilinmesi, restorasyonların klinik başarılarının artırılmasında önemlidir.

Adezyon (bağlanma), iki yüzeyin birleşmesi ile oluşan bağlantı veya farklı moleküller arasındaki çekim kuvveti olarak tanımlanabilir. İki yüzeyin birbirine tutunmasını sağlayan materyale “adeziv”, adezivin uygulandığı yüzeye “adherent”, adherentlerin adeziv ile birleştiği bölgeye ise “ara yüz” adı verilir. Adeziv genellikle, iki substratı bağlayan ve kuvveti bir yüzeyden diğerine aktarabilen visköz bir likittir. Adezyonun sağlanabilmesi için adeziv ile adherent arasında tam bir temas olması gerekir (2,18).

“Adeziv sistemler (bağlayıcı ajanlar)” uygulandıkları yüzeyleri birleştiren, ayrılmalarına karşı koyan ve bağlanma yüzeyi boyunca kuvvetleri ileten materyaller olarak tanımlanırlar (3).

Diş sert dokularına bağlanmanın temel prensibi, kalsiyum ve fosfat mineralleri ile rezinin karşılıklı yer değiştirmesine dayanmaktadır. Bu durum iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşama; uygulanan asitin etkisiyle mine ve dentin yüzeyinden kalsiyum fosfatların uzaklaşması ve bunun sonucunda mikroporözitelerin oluşmasıdır. İkinci aşama ise, bu poröz yüzeye rezinin infiltrasyonu ve

polimerizasyonunun oluşmasıdır. Sonuç olarak adezivin diş sert dokularına yayılması temeline dayanan, mikromekanik bir kilitlenme meydana gelir (4).

2.1.1. Adezyon Mekanizmaları

Diş sert dokularına bağlanma; fiziksel, kimyasal ve mekanik olarak sınıflandırılabilir (20);

Fiziksel adezyon; Hidrojen bağları, Van der Waals kuvvetleri veya diğer elektrostatik etkileşimler sonucu, farklı yapıdaki düz yüzeyler arasında gerçekleşen oldukça zayıf bir bağlanmadır (19).

Kimyasal adezyon; farklı yapıdaki atomların yüzeyleri arasında oluşan zayıf bir bağlanmadır. İyonik, kovalent, metalik bağlar gibi primer kimyasal bağların etkisi ile oluşur. Adeziv ile adherent arasında oluşan kimyasal bağlanmaya “*adsorpsiyon adezyonu*” da denir (19).

Mekanik adezyon; girintili çıkıntılı düzensiz yüzeyler ile materyal arasındaki güçlü kilitlenmedir ve başarılı bir adeziv ilişkinin temelini oluşturur. Bu bağlanmada adeziv ve substrat arasında bir çekim meydana gelmez. Adeziv, adherentin yüzey düzensizliklerinin içine penetre olur ve mekanik kilitlenme oluşur. Diş sert dokularının yüzeyinde preparasyon sırasında düzensizlikler oluşturularak tutuculuğun sağlanması, mekanik adezyona bir örnektir (19).

Diş hekimliğinde diş dokularına bağlanma, en çok mekanik yolla gerçekleşmekte olup diğer bağlanma çeşitlerinin katkısı sınırlıdır (4,20).

Rezin monomerlerin, asitle pürüzlendirilmiş mine ve dentin yüzeylerine penetrasyonu *mekanik adezyon*, dentin tübüllerine penetrasyonu ile rezin uzantılarının oluşumu *difüzyon adezyonu*, dişin inorganik ve organik yapısı ile kimyasal etkileşimi ise *adsorpsiyon adezyonu* (kimyasal adezyon) olarak tanımlanır (18).

2.1.2. Diş Dokularına Adezyonu Etkileyen Faktörler

İyi bir adezyon için sağlanması gereken ve adeziv-adherent ilişkisini etkileyen üç önemli kavram mevcuttur. Bunlar;

- Adeziv materyalin kritik yüzey gerilim değeri
- Adezivin, adherenti ıslatabilirliği
- Adeziv materyalin adherent yüzeyle yaptığı değim açısıdır (20).

Ayrıca adezivin fiziksel ve kimyasal özellikleri, viskozitesi, adherentin heterojen yapıdaki dokusal özellikleri, yüzey pürüzlülüğü, kavite preparasyonu süresince diş yüzeyinde oluşan kontaminasyon, smear tabakası, bağlanmaya karşı koyan eksternal streslerin gelişmesi, birleşim yüzeyindeki yüklerin dağılımı, nem, fiziksel stresler, sıcaklık değişimleri, pH, beslenme ve çiğneme alışkanlıkları gibi ağız içi koşullar da bağlanmanın başarısını etkilemektedir (18,20).

Adezyonun temel prensibi; bağlanacak iki materyalin birbirleri ile yeterli ve son derece yakın bir temasta olmasıdır. Ayrıca yüzeylerin temiz olması gerekir. Diş yüzeylerinde plak ve debris varlığı, kaide maddesi bulunması, dişe daha önce uygulanmış olan geçici simanlar, diş yüzeylerinin tükürük ve kan ile kontaminasyonu, hava, su spreyi ile nem ve yağ kontaminasyonu, adezyonu olumsuz etkiler (19).

Başarılı bir bağlanma gerçekleşebilmesi için adeziv ajanın, yüzeyi yeterli ve iyi bir şekilde ıslatması, adeziv sistemin kritik yüzey gerilim değerinin, adherentin kritik yüzey gerilim değerine eşit veya daha az olması gerekir (21).

Minenin serbest yüzey enerjisi, dentininkinden daha yüksek olduğu için dentine olan bağlanma, mineye bağlanmaya göre daha zordur. Ayrıca kavite preparasyonu sırasında dentinde oluşan smear tabakası, dişin yüzey enerjisini düşürür. Bu nedenle yüzey enerjisini artırmak için kavite ve özellikle dentin yüzeyleri tamamen temizlenmelidir (22).

Adezivin adherente kolayca yayılabilmesi, iyi bir bağlanma için önemlidir. Adezivin akışkanlığı ise onun viskozitesi ile ilgilidir. Adezivin viskozitesi, katı yüzeyi yeterince ıslatabilmesi ve mikroporozitelere penetre olabilmesi için yeterli derecede düşük olmalıdır (22).

Yüzeyin ıslanabilirliği, sıvının uygulandığı yüzeye temas ettiği açı (değim açısı) ile belirlenmektedir. Adherent yüzeyine damlatılan adeziv oluşturduğu küre parçasına her iki maddenin birleştiği yerden çizilen teğet ile adherent yüzeyi arasında oluşan açı 'kontakt açısı' ya da 'değim açısı' olarak ifade edilir. İdeal bir ıslanma için değim açısının sıfır dereceye yakın olması gerekmektedir. Adeziv yüzey gerilimi ne kadar düşükse, değme açısı da o kadar azalacak ve daha güçlü bir adezyon oluşacaktır. Adeziv, adherent yüzeyine ne kadar iyi akar ve yüzeyi ne kadar iyi ıslatırsa o kadar güçlü bir bağlanma oluşur. Yüzeylerin ıslanabilirliğinin artması kimyasal ve mikromekanik bağlanmayı kolaylaştırır (22).

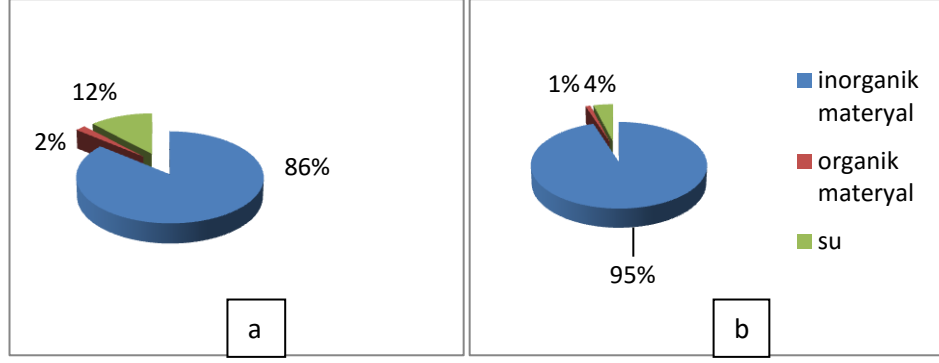
Adherentin yüzey pürüzlülüğü, bağlanmanın başarısını etkileyen faktörlerden biridir. Pürüzlü yüzeyin yüzey alanı, düz yüzeye göre daha fazla olduğu için bu yüzeylerde daha iyi bir kimyasal bağlanma oluşur. Ayrıca yüzeydeki düzensizlikler belirli bir morfolojide ise mikromekanik bağlanma da kuvvetlenir. Bunun yanında yüzey pürüzlülüğü ıslanabilirliği de artırır. Diş dokusuna asit uygulanması sonucunda smear tabakası uzaklaştırılır, yüzey pürüzlülüğü artırılır. Islanabilirliği artan dokuya, adeziv penetrasyonu da artar. Bunun sonucunda mikromekanik bağlanma sağlanır Ancak pürüzlülük, aynı zamanda ara yüzde hava kalmasına neden olabilir. Yüksek vizkoziteye sahip adezivler, ara yüzde havayı hapsederek pürüzlere yayılamayabilirler. Bu durum da bağlanmayı zayıflatabilir (23).

2.1.3. Mine ve Dentin Dokusuna Adezyon

Diş mine ve dentininin, yapısal özellikleri birbirinden farklı olduğu için bu dokulara olan bağlanma da birbirinden farklıdır.

2.1.3.1. Mine Dokusunun Özellikleri

Mine dokusu, inorganik içeriği fazla olan yüksek oranda mineralize bir yapıdır. Minenin kimyasal içeriğini ağırlıkça % 95 inorganik , % 4 su ve % 1 organik yapı oluşturur. Hacim bakımından ise % 86 inorganik , % 12 su ve % 2 organik yapıdan oluşmuştur (Şekil 1). Adezyonda, dişin yapısal bileşenlerinin hacimsel oranları daha etkilidir (23,24).



Şekil 1: Minenin kimyasal olarak a) hacimce ve b) ağırlıkça oranları.

Minenin inorganik yapısının ana bileşenini hidroksiapatit kristalleri oluşturur. Bu kristallerin birbirleriyle üç boyutlu sıralanıp, ardı ardına dizilmesiyle minenin ana yapısını oluşturan mine prizmaları meydana gelir. Bu dizilim bir devamlılık ve bütünlük gösterir. Prizmaların direncini kristallerin dizilim şekli verir. Her hidroksiapatit kristali binlerce atomdan oluşur ve bu atomlar hegzagonal şekil meydana getirir (25). Birbirlerinden 1 µm aralıklarla sıralanan 4-6 µm çapındaki bu mine prizmaları, mine-dentin sınırından yüzeye doğru uzanırlar. Mine yüzeyi pürüzsüzdür. Prizmaların uçları açıktadır ve birbirleri ile anahtar kilidi şeklinde karmaşık bir yapı oluşturur. Prizmalar arası boşluğu, interprizmatik substans adını alan materyal doldurur (26). Organik yapı ise, çözünebilir ve çözünemez proteinler ile bir miktar karbonhidrat ve lipitten oluşmuştur. Organik yapı ve su, hidroksiapatit kristalleri arasında dağılmış olarak bulunur (27).

Mine dokusu, hidroksiapatit kristallerinin birbirine paralel ve yüzeye dik seyrettiği minenin dış bölgesindeki bazı prizmasız bölgeler hariç, yapısal olarak homojendir (18).

2.1.3.2. Mine Dokusuna Adezyon

Mine dokusu, sahip olduğu yüksek yüzey enerjisinden dolayı adeziv sistemlerin bağlanmasına elverişlidir. Restorasyon materyallerinin düzgün mine yüzeyine adeziv sistemlerle bağlanması, mine yüzeyinin asitle pürüzlendirilmesiyle mine yapısında mikroporoziteler oluşturulması ve bu porözitelere infiltre olan rezin uzantıları sayesinde gerçekleşmektedir (2).

Minenin asitle pürüzlendirme işlemi ilk olarak Buonocore tarafından 1955'te geliştirilmiştir (17). Asitleme sonrasında prizmatik ve interprizmatik mine kristallerinin çözünmesi sonucu, mine yüzeyinden ortalama 10 µm doku kaldırılır ve 5-50 µm kalınlığında poröz bir tabaka oluşur. Böylece minenin ıslanabilirliği, serbest yüzey enerjisi ve bağlanma alanı artar (28). Asitleme sonrası uygulanan rezin içerikli bağlayıcı ajan, kapiller etki ile mikroporoziteler arasında infiltre olur. Resin içindeki monomerin polimerizasyonu ile resinin mine ile bağlantısı gerçekleşir (4). Mineye olan bağlantıyı, retantif resin uzantıları (taglar) oluşturur. Mine prizmaları arasında oluşan resin uzantıları, "makro tag" olarak ifade edilirken, her prizmanın sonunda oluşan çok sayıdaki resin uzantıları ise "mikro tag" olarak adlandırılmaktadır. Mikro tagların daha fazla yüzey kontak alanına sahip olması nedeniyle, mineye bağlanmada daha çok katkı sağladıkları düşünülmektedir (4,20).

Asitleme işlemi sıklıkla % 35-37'lik ortofosforik asitle yapılır. Fosforik asitin diğer asitlerle karşılaştırıldığında, resinin daha derine penetrasyonunu sağladığı görülmüştür (29). Son yıllarda yapılan çalışmalar, minenin 15-20 sn asitlenmesinin ardından, 10-20 sn su ile yıkanmasının bağlanma için yeterli olduğunu göstermiştir (28). Asitleme sonrası mine yüzeyinde mat tebeşirimsi beyaz bir görüntü ortaya çıkmaktadır. Dentinde daha etkili olduğu bulunan % 10'luk maleik asit, % 10'luk sitrik asit, % 2,5'luk oksalik asit ve % 2,5'luk nitrik asit gibi daha zayıf asitlerin minede kullanılması sonucunda, bu mat tebeşirimsi görüntünün olmadığı gözlenmiştir (2).

Kullanılan asidin tipi, konsantrasyonu, asitleme süresi, formu (jel-solüsyon), asidi yıkama süresi, minenin kimyasal yapısı, süt ya da daimi dişe uygulama yapılması, mineralize mine olup olmaması gibi faktörler, uygulanan asidin mine yüzeyine olan etkisini değiştirir (18,31).

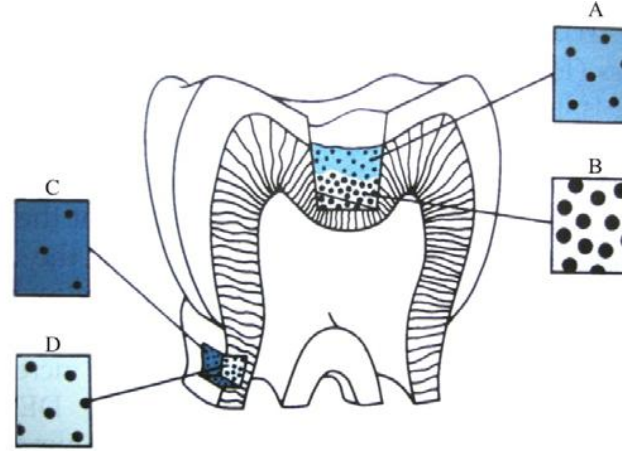
Mineye daha güçlü bir bağlanma için, asitleme işleminden sonra ortamdaki asidin uzaklaştırılması, yüzeyin nemden ve tükürükten korunması çok önemlidir. Asitlenmiş mine yüzeyine temas eden tükürükteki kalsiyum ve fosfor, pürüzlendirmeyi olumsuz yönde etkiler. Bu nedenle tükürük kontaminasyonu olduğu durumlarda, asitle pürüzlendirme işlemi tekrarlanmalıdır. Ayrıca minenin uzun süre asitle pürüzlendirilmesi de bağlanma dayanıklılığında azalmaya sebep olmaktadır (31).

2.1.3.3. Dentin Dokusunun Özellikleri

Dentin ektomezeleşim kökenlidir ve pulpa dokusunun en dış tabakasında tek sıra halinde dizilmiş bulunan odontoblast hücrelerinin sentezlediği kollajen ağ üzerine hidroksiapatit kristallerinin birikmesi sonucunda oluşur. Odontoblast hücrelerinin çekirdekleri, dentin dokusunun mineralizasyonu ile pulpaya doğru yer değiştirir ve her gün ortalama 4 µm primer dentin yapımı gerçekleşir. Böylece dentin, ana yapı olarak pulpadan başlayarak mine-dentin sınırına dek uzanan, içi sıvı dolu, çok sayıda ve her yönde birbirleri ile bağlantılı olan dentin tübüllerinden oluşur (32).

Dentinin ana histolojik yapılarını; dentin tübüleri, odontoblast uzantıları, peritübüler dentin ve intertübüler dentin oluşturur. Kronda minenin, kökte sementin altında bulunan dentin dokusu, mat sarı renklidir ve yüksek elastisiteye sahiptir (32).

Dentin tübüllerinin içinde, pulpa ile direk bağlantı halinde olan odontoblast uzantıları yer alır. Bunlara “Thomes Lifleri” adı verilir. Bu liflerden arta kalan boşluğu ise dentin sıvısı doldurur (33). Odontoblast uzantıları, köken aldıkları odontoblast hücrelerine en yakın oldukları bölgede en kalın çapta iken, dentin yüzeyine doğru ilerledikçe çapları daralır ve en uçta dallanarak sonlanırlar. Odontoblast uzantıları seyirleri boyunca ince yan dallar verirler ve bunlar komşu tübüllerdeki odontoblast uzantılarının yan dallarıyla anastomoz yaparlar. Dentin tübüleri, kronda mine-dentin sınırından pulpaya doğru, kökte ise sementten pulpaya doğru birbirlerine yaklaşacak şekilde kıvrılarak ilerlerler (34). Dentin tübüllerinin çapları mine-dentin sınırında ~0,5-1 µm, pulpaya yakın kısımda ise ~2-4 µm'dir (Şekil 2). Yaşlanmayla birlikte dentin tübüleri daralmaktadır. Tübül sayısı pulpa yakınlarında mm²'de ~45.000-65.000, mine-dentin birleşimine yakın bölgelerde ~15.000-20.000, orta kısımlarda ~30.000-35.000'dir. Dentin tübüllerinin varlığı dentini, pulpaya zarar veren kimyasallara ve toksinlere karşı geçirgen bir yapı haline getirir (18, 34).



Şekil 2: Kron kök dentininin farklı derinliklerinde kanal çaplarının genişliği;

A) Yüzeyel dentin B) Derin dentin C) Kök bölgesindeki yüzeyel dentin D) Kök bölgesindeki derin dentin.

Dentin tübüleri içerisinde bulunan dentin sıvısı (dentin lenfi), pulpa içindeki kapiller damarlardan kaynaklanan plazma sıvısıdır. Bu sıvı kalsiyum ve fosfat iyonlarıyla satüre bir formdadır. Dentin sıvısı 25-30 mm/Hg'lik intrapulpal basınç nedeni ile dentin tübüleri boyunca devamlı olarak dışarıya doğru akış halindedir (32).

Dentin tübüleri, iyi mineralize olmuş, peritübüler bir halka ile sarılmıştır. Tübüller arasında, kollajen ağı bulunmadığı hipermineralize yapıda olan bu kısma “peritübüler dentin” adı verilir. İntratübüler ya da peritübüler dentin, tübül duvarının iç yüzeyinde, daha yoğun ve homojen mineralize yapıda olan, sekonder olarak birikmiş dentindir. Bir tübül periferal olarak izlendiğinde, intratübüler zonun genişliğindeki artışa bağlı olarak tübül lümeninin giderek daraldığı görülür. Peritübüler dentin, intertübüler dentinden daha mineralize yapıda olup, tübül çapını yüzeyel dentinde 0,6-0,8 μm 'ye kadar daraltabilir. Peritübüler dentin yapımı çok yavaş bir süreçtir. Pulpadan uzaklaşıldıkça içten dışa doğru sayıca azalan dentin tübüleri peritübüler dentinle sarıldığı için pulpal bölgede, mine-dentin sınırına göre daha fazla peritübüler dentin yer alır (19,22).

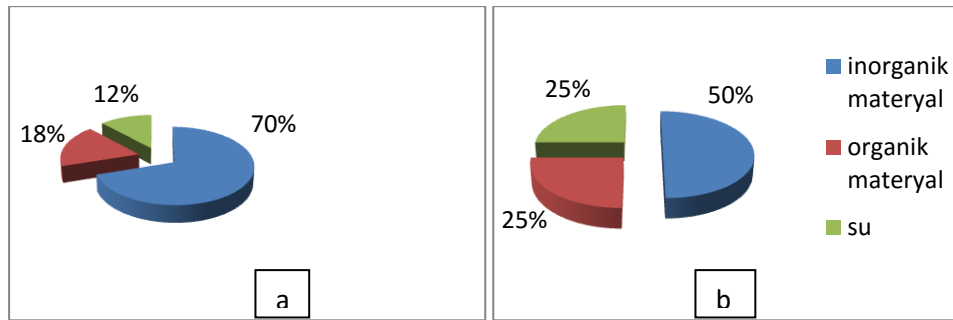
Organik yapıyı oluşturan kollajen ağ üzerine çökelmiş olan hidroksiapatit kristallerinin oluşturduğu dentin, “intertübüler dentin” olarak adlandırılır. Tübüller

arasında bulunan, daha az mineralize ve kollajenden zengin olan intertübüler dentin, tüm dentin dokusunun esas gövde kısmını oluşturur (22).

İntertübüler dentin, hibrit tabakası oluşumunda esas rol oynayan kısımdır. Kollajenden zengin intertübüler dentin, mine-dentin sınırından pulpaya doğru miktar olarak azalma gösterse de, dentinin mineralizasyon derecesi büyük oranda farklılık göstermez. Bunun sebebi, derinlere inildikçe intertübüler dentin oranı azalırken, hipermineralize peritübüler dentinin aynı oranda artmasıdır. Böylelikle yüzeysel ve derin dentinde ortalama mineralizasyon eşit kalmış olur. Dentinde, yüzeysel derine doğru inildikçe kollajen miktarı da azalır. Bunun sebebi, derin dentinin yüzeysel dentine göre daha geniş kanal çapına sahip olmasıdır. Böylece derin dentin yüzeysel dentine göre daha az intertübüler kollajen içerir (32,36).

Yüzeysel dentin % 96 intertübüler dentin, % 3 peritübüler dentin ve % 1'i dentin sıvısından oluşur. Pulpaya yakın derin dentin bölgesi ise, % 66 peritübüler dentin, % 22 dentin sıvısı ve % 12 intertübüler dentinden oluşur (32).

Dentin kimyasal olarak ağırlıkça % 70 inorganik, % 18 organik materyal ve % 12 su içerir. Hacim olarak ise % 50 inorganik, % 25 organik materyal ve % 25 su içerir (Şekil 3). Dolayısıyla mineye göre daha yüksek oranda organik doku ve su içerir (19).



Şekil 3: Dentinin kimyasal olarak a) hacimce ve b) ağırlıkça oranları.

Dentinin organik yapısının % 93'ünü, organik ve inorganik tüm yapısının ise % 17'sini kollajen oluşturmaktadır. Kollajen yapının büyük kısmı Tip I kollajenden oluşur. Yapısında az miktarda Tip V kollajen de bulunur. Organik yapının diğer bileşenleri ise; proteinler, fosfoproteinler, asidik glikoproteinler, glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar, fosfolipitler, büyüme faktörleri ve sitokinlerdir (32).

Dentin dokusundaki organik ve inorganik yapıların ve suyun oranları, derinlik ve bölgelere göre farklılık gösterir. Derin dentin dokularında tübül sayısı ve yoğunluğu arttığından, yüzeyel dentine göre daha fazla su içerirken, mineralize doku oranları düşüktür. Aynı şekilde derin dentinde tübül çapının artması, intertübüler dentin kalınlığının azalmasına ve kollajen miktarının daha az görülmesine neden olur. Dentin dokusunun içindeki suyun büyük bir kısmı, dentin kanallarının içine dağılır. Dentin dokusundaki bu yapısal özellikler, adeziv sistemlerin başarısı üzerine etkili faktörlerdir. Derin dentin bölgelerinde, adeziv sistemlerin daha güçlü bağlandığı intertübüler dentinin daha az bulunması, tübül çaplarının ve dentin nemliliğinin artması, dentin dokusuna olan bağlanmayı zorlaştırır (18).

2.1.3.4. Dentin Dokusuna Adezyon

Mine dokusuna bağlanma oldukça başarılı olmasına rağmen, dentin dokusunun histolojik, kimyasal ve fiziksel yapısının mineye göre farklı olmasından dolayı ideal bir bağlanma sağlamak daha zordur (18,37).

Dentinin yapısı ve kimyasal içeriği, mineye asit uygulanması ile elde edilen mikromekanik tutuculuğun sağlanmasına izin vermez. Dentinin organik içeriğinin mineye oranla daha fazla olması, yüksek oranda protein içermesine bağlı olarak düşük yüzey enerjisine sahip olması, dentin lenfi içeren dentin tübüllerinin varlığı nedeniyle nemli yapısı dentine bağlanmayı güçleştirir. Ayrıca smear tabakası, yaş, dentin derinliği, kalsiyum konsantrasyonu gibi faktörler de dentine bağlanmayı olumsuz yönde etkiler (2).

Dentine bağlanmayı etkileyen en önemli etkenlerden birisi, dentinin kompleks ve heterojen yapısıdır. Hidroksiapatit kristallerinin kollajen içeren organik matriks içerisinde rastgele sıralanışı ve dentin sıvısı, restoratif materyallerin dentine bağlanmasını zorlaştırır. Ayrıca dentinin özellikleri; dişin yaşına, konumuna ve

dentinin pulpaya olan mesafesine göre de farklılıklar gösterir. Tübüller içinde bulunan dentin lenfi ve yüzeyel dentinden daha geniş tübüllerin olması nedeniyle derin dentin, yüzeyel dentinden daha nemli bir yapıya sahiptir. Tübüller içindeki sıvının, pulpadan dışarıya doğru sürekli bir akış halinde olması, kurutulduğunda bile dentin yüzeyinin intrapulpal basınç nedeniyle tekrar nemli hale gelmesine neden olur. Restoratif materyallerin, bu nemli doku ile iyi bir bağ sağlayabilmesi oldukça zordur (33,37).

Dentine bağlanmayı etkileyen en önemli etkenlerden birisi de smear tabakasının varlığıdır. Smear tabakası; döner uçlu aletler ve el aletleriyle kavite hazırlanması sırasında meydana gelen, debrisin yüzeye çökmesiyle oluşan, 0,5-5 µm kalınlığında, gözenekli ve amorf bir tabakadır. Yapısında denatüre kollajen parçacıkları, odontoblast uzantıları, kan hücreleri, bakteri ve tükürük bulunmaktadır (38). Smear tabakası, dentin tübüllerini tıkayıp, tübüller içerisindeki sıvı hareketlerini ve dentin geçirgenliğini önemli ölçüde azaltarak bir difüzyon bariyeri oluşturur ve ağız sıvılarının, bakterilerin pulpaya geçişini engeller. Ancak rezinlerin, dentin dokusuna yayılımını ve dentine olan bağlanma kuvvetini de azaltır Adezivlerin dentine bağlanabilmesi için, smear tabakasının tamamen uzaklaştırılması veya modifiye edilmesi gerekir. Smear tabakasının uzaklaştırılması amacıyla kimyasal (asit veya şelasyon yapan ajanlar), mekanik (air abrazyon) ya da termal (lazer) yöntemler kullanılabilmektedir (18,20).

Dentinin yüzey koşullarının değiştirilmesi, dentin yüzeyine fosforik asit veya EDTA uygulanarak smear tabakasının uzaklaştırılması ve demineralizasyon oluşturulması ile sağlanır. Dentinin asitlenmesi ilk kez 1960'ta Fusayama tarafından önerilmiştir. Bu işlem için farklı adeziv sistemlerde, % 10'luk fosforik asit, % 2,5'luk maleik asit, % 10'luk sitrik asit, % 2,5'luk nitrik asit kullanılmaktadır. Asit uygulanmasından sonra; smear tabakası uzaklaştırılır, peritübüler dentin ortadan kalkar, intertübüler dentinde 3-7 µm derinliğinde demineralizasyon oluşur, dentin tübüllerinin ağız genişleyip huni biçiminde açılır ve dentindeki kollajen fibriller ortaya çıkarak monomerlerin tübüllerin içine infiltrasyonu kolaylaşır (2,18).

Dentin yüzeyindeki demineralizasyon derinliği; uygulanan asidin cinsine, konsantrasyonuna ve asitleme süresine bağlıdır. Derin bölgelerde dentine adezyon, intertübüler dentin alanının azalması ve buna bağlı olarak su içeriğinin artması

nedeniyle yüzeyel dentine kıyasla çok daha güçtür. Benzer şekilde pozitif pulpa içi basıncının bağlanma sürecine zarar verdiği düşünülmektedir. Pozitif pulpa içi basınç varlığında, dentin yüzeyine sıvı çıkışı arttığı için bağlanma dayanıklılığı daha düşük olmaktadır (18).

Dentinde yaşlanma ile ortaya çıkan fizyolojik ve patolojik değişimler, dentinin mikroyapısını, içeriğini, geçirgenliğini ve dolayısıyla bağlanmayı etkilemektedir. Sklerotik veya çürükten etkilenmiş dentinin de bağlanmayı etkileyen önemli faktörler olduğu bildirilmiştir (18).

Sklerotik dentinde, tübüllerin hem içi, hem de etrafı hipermineralize durumdadır ve asitle pürüzlendirme işlemi sonucunda dentin çok az demineralize olmaktadır. Böylece sklerotik dentinde rezin uzantılarının gövdeleri mineral kristallerinden oluşup kısa, künt ve huni şeklindedir. Bu nedenle sklerotik dentinde, kimyasal bağlanma potansiyeli daha yüksek olan cam iyonomer adezivlerin kullanılmasının daha avantajlı olacağı bildirilmiştir (40).

Çürükten etkilenmiş dentin, genelde sklerotik yapıdadır ve dentin tübülleri içerisinde çok miktarda aside dirençli kalsiyum fosfat kristalleri bulunduğu bildirilmektedir (38). Çürükten etkilenmiş dentinin % 37'lik fosforik asit ile pürüzlendirilmesi ve total etch adeziv kullanımı ile, dentin tübülleri içerisindeki minerallerin daha iyi çözünmesi sağlanarak geçirgenliğinin arttığı bildirilmiştir (3). Ayrıca demineralize olan yapının, asitle daha derinlere demineralize olması ve çürük dentinin geçirgenliğinin sağlam dentine oranla daha fazla olması, çürükten etkilenmiş dentinde, normal dentine oranla daha kalın bir hibrit tabaka oluşumuna yol açar (38). Çürük dentinin yapısında intratübüler kristallerin pozisyonu ve düzensiz sklerotik dentinin birikimi ile fizyolojik yaşlanma ortaya çıkar. Yaşlanmış dentinde tübüller içindeki aside dirençli kristaller, asitleme sonucunda daha az demineralizasyon olmasına neden olarak, adeziv rezin infiltrasyonunu ve rezin uzantılarının oluşumunu engellemektedir. Yaşlanma nedeniyle dentinin geçirgenliğinin azalması, bağlanmayı olumsuz yönde etkilemektedir (38,42).

Dentinin geçirgenliği bölgelerine göre farklılık gösterir. Geçirgenlik, bir maddenin difüzyon bariyeri içine kolayca nüfuz edebilmesi ve buradan geçebilmesi olarak tanımlanır. Açığa çıkmış dentinde, tübüller içindeki sıvının pulpa sınırından dışarıya doğru olan hareketine 'transdental geçirgenlik' adı verilir. Transdental

geçirgenlik, hem dentin hassasiyetine, hem de dentin yüzeyinin sürekli nemli olmasına neden olur. Bağlayıcı rezin monomerlerin yüzeyden tübüllere infiltre olmasına ise 'intratübüler dentin geçirgenliği' denir. İnatrütübüler dentin geçirgenliğinin birkaç mikron olması bile, rezin uzantıların oluşarak tübüllerin örtülmesi ve rezinin tutuculuğu için yeterlidir. Basınç altındaki dentin sıvısının pulpadan dışarı doğru sürekli hareketi ve sklerotik dentinde tübüllerin tıkanmış olması, intratübüler dentin geçirgenliğini zorlaştıran faktörlerdir (43).

İntertübüler dentine olan rezin infiltrasyonu büyük ölçüde, asitle pürüzlendirmeden sonraki yüzey demineralizasyonuna bağlıdır. Demineralize dentin içine rezinin infiltrasyonu, genellikle asitlenmiş yüzeyden derine doğru penetre olmasıyla gerçekleşir. Ayrıca, rezin monomerlerin, asitleme sonucu açığa çıkmış peritübüler dentin ağızlarından da difüzyon yoluyla intertübüler demineralize kollajen ağ içine infiltre olması mümkündür. Derin dentinde yüzeyel dentinden çok daha iyi intertübüler rezin infiltrasyonu sağlanır. Çünkü dentin tübülleri bu bölgede birbirlerine daha yakındır. İnatrütübüler ve intertübüler geçirgenlik; rezin uzantılarının oluşturulması, düzgün ve devamlılık gösteren rezin-dentin hibrit tabakasının meydana getirilmesi; dentin yüzeyinin sızdırmaz bir şekilde kapatılması, yüksek bağlanma kuvvetinin sağlanabilmesi için önemlidir. Dentin tübülleri ve intertübüler dentinin yapısı, dentin yüzeyinden derinlere doğru gittikçe değiştiği için bu bölgelerdeki bağlanma tipi ve kuvveti de değişecektir. Yüzeyel dentinde daha az tübül ve daha çok intertübüler dentin varlığı nedeniyle, bu bölgedeki bağlanmadan büyük ölçüde intertübüler dentinin geçirgenliği sorumlu olacaktır. Derin dentin bölgelerinde ise dentin tübülleri daha fazla olduğu için, bağlantıdan büyük oranda intratübüler geçirgenlik sorumlu olacaktır (3,37,44).

Asitle pürüzlendirilmiş minenin yüzey enerjisi bağlayıcı sistemin yayılmasını kolaylaştıracak şekilde artmış olmasına karşın, asitle pürüzlendirilmiş dentin, artan intrapulpal basınçla dentin yüzeyine çıkan dentin lenfi nedeniyle hidrofilik karakterdedir (43,44). Yüzey düzenleyiciler (conditioner) ve primerler, bağlayıcı (adeziv) sisteme bağlı olarak ıslak ve kuru kollajenin yüzey enerjisini, bağlayıcı rezinin yüzey enerjisiyle uyumlu hale getirmek için kullanılır. Dentine bağlanma kuvvetinin yüksek olmasının, rezinin dentin içine penetrasyon derinliğinden daha çok, düzenli ve kaliteli bir bağlanma ara yüzeyinin sağlanmasıyla ilgili olduğu bildirilmiştir (3,44).

Adeziv sistemler ve dentin arasında iyi bir bağlanma sağlanması, rezin restorasyonların başarısı ve kalıcılığı için çok önemlidir (37,5). Dentine olan adezyondaki sorunlar, son yıllarda devamlı geliştirilen adeziv sistemlerle çözülmeye çalışılmaktadır.

2.2. Diş Hekimliğinde Kullanılan Adeziv Sistemler

Adeziv sistemler, diş dokuları ile rezin esaslı restorasyon materyalleri arasındaki bağlanmanın artırılması amacıyla kullanılmaktadır. Restorasyonların klinik başarılarının artırılması amacıyla adeziv sistemlerin kimyasal ve teknik özellikleri geliştirilmeye devam edilmektedir. Adeziv sistemler; tarihsel olarak gelişimleri, farklı uygulama basamakları, kimyasal özellikleri, dentin dokusuyla etkileşimleri ve smear tabakası üzerindeki etkileri esas alınarak farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır (2,5,45).

2.2.1. Adeziv Sistemlerin Kronolojik Sınıflandırılması

Adeziv sistemler için sık kullanılan kronolojik sınıflama, kullanılmaya başlandığı tarihler, dentine bağlanma dayanımları ve içeriklerindeki değişiklikler esas alınarak yapılmıştır (45).

Birinci Nesil Adezivler:

Dental adezivler ilk defa 1960'ların başlarında ticari olarak piyasaya sürülmüştür. Bowen tarafından 1965'te yüzey aktif monomer olan N-fenilglisin-glisidil metakrilat (NPG-GMA), mine, dentin ve rezin arasında adezyonu sağlamak amacıyla geliştirilmiştir. Bu içerikteki bağlayıcı ajana bir örnek olarak bu yıllarda kullanıma sunulan Cervident (SS White) verilebilir. Bu sistemlerde smear tabakası göz ardı edilmiştir ve asit uygulaması yer almamaktadır. Asitleme olmadığı için post operatif hassasiyet oluşmamaktadır. Buna karşın yüksek polimerizasyon büzülmesi gözlenmesi ve ağız ortamında çözünmeleri sebebiyle başarısız olmuşlardır. Hidrofobik oldukları için dentine bağlanma kuvvetleri 2-3 MPa olarak bildirilmiştir. Bu sistemlerin dezavantajları zamanla bağlanma dayanımlarının azalması ve saklanmaları sırasında içeriklerinin bozulmasıdır (45,47).

İkinci Nesil Adezivler:

Bu nesil adezivler 1980'lerin başında geliştirilmiş ve bisfenol glisidil metakrilat (Bis-GMA) rezinlerine, polimerize olabilen fosfat grupları ilave edilmiştir. Sadece minenin asitlendiği bu sistem adezivler ile smear tabakasına sınırlı ölçüde bağlanma gerçekleşir, ancak hibrit tabaka oluşturmazlar. Mineye bağlanma değerlerinin 20-30 MPa, dentine bağlanma değerlerinin ise 2-8 MPa olduğu rapor edilmiştir. Bağlanma dayanımlarının az olması sebebiyle, bu nesil adeziv sistemlerde kavite preparasyonu sırasında mekanik retansiyona gerek duyulmuştur (45,47).

Üçüncü Nesil Adezivler:

1980'li Yılların ortalarında geliştirilen bu adezivler, smear tabakasını ortadan kaldıran ya da modifiye eden ilk dentin adezivlerdir. Kimyası ikinci nesil adeziv sistemlerden daha farklıdır. Asit, primer ve adezivden oluşan çok basamaklı uygulamalar içermektedir. Adeziv sistemin uygulanmasından önce mineyle birlikte dentine de asitleme işlemi uygulanır. Kullanılan asitler smear tabakasını modifiye eder veya tamamen kaldırır. Daha sonra hidrofilik primer ve bonding sistem uygulanır (45,47).

Üçüncü nesil dentin adeziv sistemlerdeki diğer bir önemli gelişme de 4-metakriloksietil trimellitat anhidrit'in (4-META) adezivlere katılmasıdır. Hem hidrofilik hem de hidrofobik kimyasal gruplar içeren 4-META, düşük viskoziteli bir monomerdur. Bu nesil adeziv sistemlerle, dentine bağlanma kuvvetinde gelişmeler sağlanmış ve 10-14 MPa arasında bağlanma kuvvetleri elde edilmiştir (18,45). Kavite preparasyonu için retansiyona duyulan gereksinim ortadan kalkmıştır. Sadece dişe değil rezin içerikli materyallere de bağlanan ilk ajanlardır. Erozyon, abrazyon ve abfraksiyon sonucu oluşan lezyonlar, minimal preparasyonlar, bu adeziv sistemlerin uygulanması ile restore edilebilmiştir. Ancak uzun ömürlü olmamaları en büyük dezavantajlarıdır (47).

Dördüncü Nesil Adezivler:

Bu nesil adezivler 1990'ların başında geliştirilmişlerdir. Total-etch sisteminin kullanımı ve smear tabakasının tamamen kaldırılması, dördüncü kuşak dentin adeziv sistemlerin en belirgin özelliğidir. Bu adeziv sistemleri öncekilerden ayıran en önemli özellik, dentine bağlanma dayanımlarının, mineye bağlanma dayanımları

kadar güçlü olması ve nemli dentine güçlü bir şekilde bağlanabilmesidir. Ayrıca metal, porselen ve amalgam gibi farklı yapılara bağlanabilme özelliğine sahiptirler (18,20). Bu sistemlerde dentine bağlanma, demineralize dentin yüzeyinde dentin tübülleri içine rezin uzantılarının girmesi ve hibrit tabakası oluşumu esasına dayanır (21). Dördüncü nesil adeziv sistemlerde, rezin infiltrasyonu için nemli dentin yüzeyi oluşturmada, düşük molekül ağırlığındaki “primer” solüsyonu kullanılır. Son basamakta ise, düşük viskoziteli doldurucusuz ya da yarı dolduruculu bir bağlayıcı rezin uygulanır (39). Mineye bağlanma değerlerinin 20-30 MPa, dentine ise 17-25 MPa arasında olduğu bildirilmiştir. Bu nesil adeziv sistemler, ilk defa kompozitin polimerizasyon büzülmesinden daha yüksek değerlerde bağlanma dayanımı göstermiştir. Dezavantajları ise üç aşamalı olmalarıdır. Fazla zaman alan uygulama işlemlerine sahip olup, teknik hassasiyetleri yüksektir (47).

Beşinci Nesil Adezivler:

Bu nesil adezivler, uygulama aşamalarını en aza indirmek, klinik uygulamayı kolaylaştırmak ve hızlandırmak amacıyla 1990’ların sonlarında piyasaya sürülmüşlerdir. Bu sistemlerde primer ve adeziv tek şişe içerisinde birleştirilmiştir. “Self-priming adezivler” olarak adlandırılan bu sistemlerde adeziv, mine ve dentinin %35 lik fosforik asitle 15-20 saniye asitlenmesinden sonra uygulanır. Bu adeziv sistemler, dentinle adeziv arasında hibrit tabaka oluşturur ve hem mine hem de dentine yüksek bağlanma sağlar. Teknik hassasiyet azaldığı için hata yapma olasılığı da daha düşüktür. Dolayısı ile postoperatif hassasiyet dördüncü nesile göre azalmıştır. Dentine bağlanma kuvvetlerinin ortalama 21-30 MPa arasında olduğu bildirilmiştir (47).

Altıncı Nesil Adezivler:

Adeziv sistemlerdeki gelişmeler 1990’ların sonlarında hızla devam etmiş ve asit ve primer tek bir şişede birleştirilmiştir. Bunun için % 30’luk HEMA ve % 20’lik Fenil-P içeren, mine ve dentine bağlanabilen bir ajan geliştirilmiş ve bu sisteme “Self-etch sistem” adı verilmiştir. Bu sistemlerde asit ve primer uygulaması safhalarının birleştirilmesi çalışma zamanını azaltmış, asidik jelin yıkanma safhasını ve aynı zamanda kollajenlerin aşırı kurumaya bağlı çökme riskini ortadan kaldırmıştır. Araştırmacılar bu adeziv sistemlerin dentine iyi bağlanmasına rağmen, adezivin pH’ı ve uygulama süresinin mine dokusu için yetersiz olmasından dolayı,

mineye yeterli bir bağlanma oluşturmadıklarını ileri sürmüşlerdir. Dentine bağlanma kuvvetleri ortalama 20-30 MPa olarak bildirilmektedir (18, 45).

İlk üretilen self-etch sistemler iki basamakta uygulanmaktayken, daha sonra 2000'lerin başında tek basamaklı self-etch sistemler üretilmeye başlanmıştır. Bunlarda mine ve dentine adeziv sistem, tek solusyon halinde ve tek basamakta uygulanır (47,48).

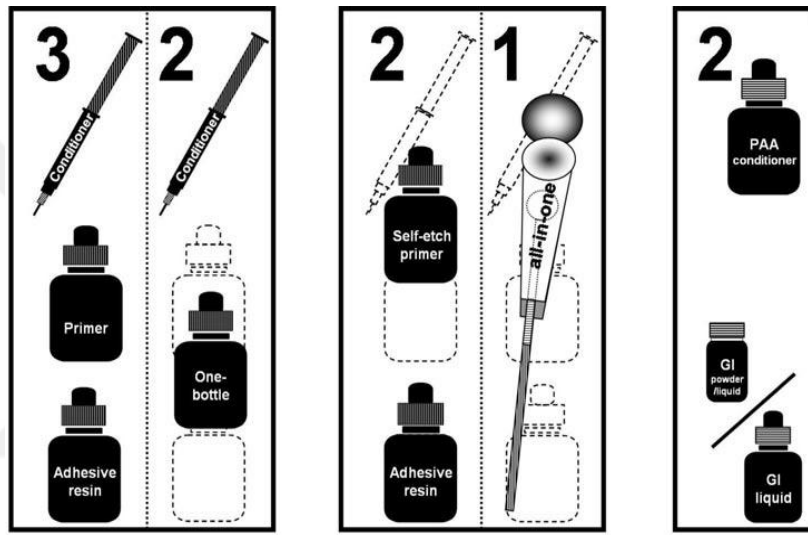
Yedinci Nesil Adezivler:

Bu sistemdeki adezivler 2002 yılının sonlarına doğru üretilmişlerdir. Altıncı nesilden farklı olarak adezive çeşitli yardımcı materyaller eklenmiştir. Bu nesil adezivlerde asit, dezenfektan, duyarlılık giderici (desensitizer), primer ve adeziv rezin tek şişe içerisinde bulunur. Bundan dolayı 'all-in-one' olarak da isimlendirilirler. İlk örneklerinden biri olan IBond (Heraeus, Kulzer), glüteraldehit ilave edilmesi ile dezenfeksiyon ve hassasiyet giderici özellikler sağlamaktadır. Uygulama tekniği hassasiyet gerektirmez. Aseton/su çözücü içerisinde üretilen dimetakrilat (UDMA) ve 4-META içerirler. Bağlanma kuvvetleri 29-30 MPa olarak rapor edilmiştir (49).

2.2.2. Adeziv Sistemlerin Güncel Sınıflandırılması

Adezivlerle uygulanan rezin yapıdaki restoratif materyallerin mine ve dentine bağlanmasındaki temel mekanizma, minenin asitle çözünmesi ile oluşan mikro boşluklara rezin monomerlerin infiltrasyonu ve bunların polimerizasyonu ile gerçekleşen mikromekanik kenetlenmedir (37). Bu nedenle adeziv sistemlerin "etki mekanizmaları" göz önüne alınarak yapılan sınıflandırmalar, son yıllarda daha çok kabul görmektedir. Van Meerbeck ve ark. (50), adeziv sistemleri, smear tabakası üzerindeki etkilerine ve uygulama basamaklarının sayısına dayanarak bir sınıflandırma yapmışlardır. Buna göre günümüzde adeziv sistemleri üç başlık altında incelemek mümkündür;

- Total– Etch Adeziv Sistemler
 - Üç aşamalı
 - İki aşamalı
- Self – Etch Adeziv Sistemler
 - İki aşamalı
 - Tek aşamalı
- Cam İyonomer Adeziv Sistemler (Şekil 4).



Total-Etch Adezivler

Self-Etch Adezivler

Cam İyonomer Adezivler

Şekil 4: Güncel sınıflandırmaya göre adeziv sistemler (23).

2.2.2.1. Total-Etch Adeziv Sistemler

Rezin esaslı materyallerin diş yüzeyine bağlanması için mine ve dentinin fosforik asitle pürüzlendirilmesi esasına dayanan bu sistemlerde, iki ya da üç aşamada asit, primer ve adeziv uygulanmaktadır. Total-etch adezivler, mine ve dentin dokularının asitle pürüzlendirilerek, smear tabakasının tamamen uzaklaştırılmasını hedefler (4).

Bu sistemlerde ilk aşama olarak “asitleme ve yıkama” (etch and rinse) işlemi yapılır. Bu yüzden son yıllarda “total pürüzlendirmeli adeziv sistemler” veya “etch and rinse adezivler” olarak da adlandırılmaktadırlar (51).

Geleneksel “üç aşamalı” sistemlerde asitle pürüzlendirme işlemi, primer ve adeziv rezinin ayrı ayrı uygulanması takip etmektedir. Bu sistem, son derece etkili olmasına rağmen; uygulama basamaklarının fazla olması nedeniyle, teknik hassasiyet gerekir ve uzun zaman alır. Kullanım kolaylığı sağlamak açısından, primer ve adezivin tek aşamada uygulandığı, basitleştirilmiş “iki aşamalı” sistemler de vardır. Bu sistemlerde, asitle pürüzlendirmeyi takiben, ikinci aşama olarak hidrofilik ve hidrofobik rezinlerin karışımı olan ve etanol, aseton, su gibi çözücülerden birini içeren tek şişe bağlayıcı ajanlar uygulanır (18,20).

Bu sistemin aşamaları aşağıdaki gibi uygulanmaktadır;

Mine Dokusunun Asitle Pürüzlendirilmesi:

Total-etch sistemlerde mine yüzeyinin asitle pürüzlendirilmesinin amacı; smear tabakasının uzaklaştırılarak mine yüzeyinin temizlenmesi, prizmatik ve interprizmatik kristallerin farklı düzeylerde ortadan kaldırılarak, mikroskobik boşlukların oluşturulması ve böylece yeterli monomer infiltrasyonu sağlamak için minenin yüzey enerjisinin artırılmasıdır (4).

Asitle pürüzlendirme yapılarak uygulanan sistemin, mineye en etkin ve dayanıklı bağlanmayı sağlayan yöntem olduğu belirtilmektedir. Asitleme ile hidroksiapatit kristallerinin selektif çözünmesi sağlanır ve yaratılan alanlardaki kapiller çekim sonucu rezin, mine yüzeyine absorbe olup polimerize edilir (4).

Asitle pürüzlendirme sonrasında; mine yüzeyindeki mikroorganizma sayısında % 75-95 oranında bir azalma meydana geldiği, mine yüzeyinin ortalama 10 µm’lik kısmının ortadan kalktığı, derinliği 25-75 µm arasında değişen pürüzlendirilmiş bir alan oluştuğu, bu sayede de bağlanma yüzeyinin yaklaşık 2000 kat artırıldığı belirlenmiştir. Bu durum, yüzey geriliminin azalmasını ve mine yüzeyinin ıslanabilirliğinin artmasını sağlayarak düşük vizkoziteli rezinin, mikroboşluklara rahat bir şekilde dolmasına olanak sağlar (2).

Kullanılan asidin konsantrasyonu, uygulama süresi, hidroksiapatit kristallerinin mine prizmaları içerisindeki açıları ve pozisyonları, mine dokusunda preparasyon varlığı/yokluğu, minenin kimyasal ve fiziksel yapısı, mine dokusunun mineral içeriği ve daha önceden meydana gelmiş olan demineralizasyon miktarı gibi faktörlere bağlı olarak, mine yüzeyinde üç tip mikroskobik pürüzlenme gerçekleşmektedir. Bunlar:

- Tip I pürüzlenme; mine prizmalarının iç kısımları çözünerek uzaklaşır ve “bal peteği görünümü” ortaya çıkar.
- Tip II pürüzlenme; mine prizmalarının çeperleri çözünerek uzaklaşır ve “kaldırım taşı görünümü” ortaya çıkar.
- Tip III pürüzlenme; prizmatik yapının gözlenmediği amorf bir yüzey oluşur. Daha silik bir pürüzlenme görünümü vardır (52).

Klinik olarak dişlerin hangi bölgesinde ne tip pürüzlenme oluşabileceğini belirlemek mümkün değildir. Mine yüzeyinin farklı bölgelerinde değişik pürüzlenme tipleri görülmekte olup, pürüzlenme tiplerinin bağlanma dayanımı üzerinde etkisi olup olmadığı bilinmemektedir (2).

Pürüzlendirme işlemi, genellikle pH değeri 0,1-0,4 arasında değişen ve % 30-40 konsantrasyonda kullanılan fosforik asit jeller ile yapılmakta ve bu şekilde rezin esaslı kompozitler için 18-25 MPa değerinde bağlanma dayanım kuvveti elde edilmektedir (28). Mine yüzeyinin pürüzlendirilmesine en çok fosforik asit ($H_3[PO]_4$) kullanılır. Alternatif olarak % 16 EDTA, % 10 maleik asit, %10 sitrik asit, % 1,6-3,5 oksalik asit, % 2,5 nitrik asit, % 20-25 poliakrilik asit, % 10 piruvik asit gibi çeşitli asit ajanlar da kullanılmaktadır. Ancak, deneysel çalışmalarda morfolojik açıdan iyi sonuçlar veren alternatif asit türevlerinin, klinikte yeterli bağlantı kuvvetlerini sağlayamadıkları gözlenmiş ve rutin klinik kullanıma girmemişlerdir (2).

Mine Dokusuna Primer ve Adeziv Resin Uygulanması:

Total-etch sistemlerde ikinci aşama, pürüzlendirilmiş mine yüzeyine primer ve adeziv rezinin uygulanmasıdır. Bu uygulama sonrasında minede “makrotag” ve “mikrotag” olarak adlandırılan iki tür resin uzantısı oluşur. Bu resin uzantıları; bonding ajanın interprizmatik boşluklara penetrasyonu sonucu mine prizmalarının etrafında oluşursa makrotag, daha küçük fakat daha çok sayıda ve ağ biçiminde mine prizmalarının iç yüzeylerinde oluşursa mikrotag adını alır. Mikrotaglar fazla sayıda

olmaları ve geniş yüzey alanları nedeniyle bağlantı kuvvetlerine daha fazla katkıda bulunurlar. Ancak, rezin penetrasyonunun derinliği ile rezin-mine bağlanma dayanımı arasında ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (2).

Dentinin Asitle Pürüzlendirilmesi:

Kavite preparasyonu sırasında oluşan smear tabakası ve tıkaçları, dentin sıvısının hareketini ve difüzyonunu azaltan doğal bir dentin bariyeridir (53). Smear tabakası; debris, denature kollajen, hidroksiapatit ve mikroorganizmalardan oluşur ve dentin tübülleri içinde 1-3 µm uzunluğunda smear tıkaçları oluşturur (2). Smear tabakası, dentin sıvısının hareketini % 80-90, difüzyonunu ise % 25-30 oranında azaltır. Ancak bu tabakanın oral sıvılarda 7 gün içinde çözündüğü bildirilmektedir (53).

Dentinin asitle pürüzlendirilmesi ile smear tabakası ve tıkaçları uzaklaşır, intertübüler ve peritübüler dentin demineralize olur, dentin tübülleri açılır ve 3-10 µm'lik derinlikte kollajen ağ açığa çıkar. Böylece monomerlerin tübüllerin içine infiltrasyonu kolaylaşır. Demineralize dentin yüzeyine uygulanan düşük viskoziteli adeziv monomerlerin, dentinin derinliklerine penetre olup kollajen fibrillerin etrafında polimerize olmasıyla meydana gelen yeni yapıya "hibrit tabaka" adı verilmektedir. Nakabayashi tarafından 1982 yılında tanımlanan hibrit tabaka; kollajen ağ, adeziv rezin ve hidroksiapatitten oluşan rezin-dentin interdifüzyon bölgesidir (54). Hibrit tabaka; yüzeyel dentin ve tübül duvarlarında açığa çıkan kollajen ağ ile adeziv rezinin yer aldığı, oral sıvılar ve asitlere dirençli mikromekanik bir kenetlenme ara sahası olarak tanımlanmıştır (2). Kullanılan dental adeziv sistemin tipine göre hibrit tabakanın kalınlığı 1-5 µm arasında değişmektedir. Ancak, yapılan çalışmalarda hibrit tabakanın kalınlığı ile bağlanma kuvveti arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Adeziv sistemlerle iyi bir bağlantı sağlanabilmesi için, rezinin hem intratübüler hem de intertübüler dentine infiltrasyonu, rezin tagların ve düzenli bir hibrit tabakanın oluşumu gereklidir (44,48).

Asitle pürüzlendirme sonrasında, adeziv rezinin; dentin tübüllerinin içine dolarak polimerize olmasıyla rezin uzantıları, lateral tübül dallarının içine dolarak polimerize olmasıyla da submikron rezin uzantıları meydana gelmektedir (2,5). Oluşan rezin uzantıların bağlantı kuvvetlerine de katkısı vardır. Resin-dentin arayüzündeki bağlanma alanında bir bozulma meydana gelmesi halinde, tübül

ağızlarını kapatmış olmaları dentin geçirgenliğini azaltır ve olası pulpa hasarını engeller (5).

Asitleme işlemi dentin yüzeyinde yaklaşık 15 sn süreyle yapılır. Total-etch sistemlerde dentinin pürüzlendirilmesinin amacı, etkili bir bağlanma sağlanmasıdır. Uzun süreli asit uygulanması, rezin-dentin arasındaki bağlantı dayanıklılığında azalmaya sebep olmaktadır. Güçlü asitlerin uzun süre uygulanması ile dentinin aşırı demineralizasyonu sonucu kollajen ağ çöker. Bunun sonucunda demineralizasyon derinliği, rezinin yeterince penetre olamayacağı kadar artar. Adeziv rezinin infiltrasyonu tam olarak gerçekleşemez. Demineralizasyon bölgesinin derin kısımlarındaki kollajen korunmasız kalır ve hidrolizi sonucu parçalanır. Bakteri kaynaklı asit ve enzim ataklarına ve hidrolitik parçalanmaya karşı zayıf bir alan meydana gelir (55,56).

Asitle pürüzlendirme ve yıkama işlemlerinden sonra, mine yüzeyi tebeşirimsi mat bir görüntü elde edilene kadar kurutulur. Dentin yüzeyinin aşırı derecede kurutulması, kollajen fibrillerin büzülmesine neden olarak rezin infiltrasyonunu sınırlandırır. Bazı araştırmacılar, aseton veya etanol bazlı primer içeren bağlayıcı ajanın, nemli dentin üzerine uygulanması gerektiğini belirtmişlerdir (56,58,59). Dentin yüzeyinin nemli olması, kollajen liflerin asit uygulandıktan sonra artan elastisite modülünü düşürerek onlara esneklik kazandırır ve böylece kollajen liflere destek olur. Lifler arası boşlukları genişleterek monomer infiltrasyonunu kolaylaştırır. Demineralize dentinin aşırı kurutulması sonucunda ise, kollajene destek veren su, buharlaşır ve kollajen ağ çöker. Böylece yüzeye uygulanan adeziv rezinin kollajen ağ içine penetrasyonu sınırlanır ve hibrit tabakanın oluşması engellenir, ideal bir hibridizasyon sağlanamaz (59). Bunun sonucunda da dentin hassasiyeti, kenar sızıntısı, ikincil çürük ve restorasyon kaybı ortaya çıkabilir (28). Bunu engellemek için nemli ortamda bağlanma (*wet bonding*) tekniği tavsiye edilmektedir (59). Total-etch sistemlerin başarıyla uygulanmasında çok önemli olan ve yüksek derecede teknik duyarlılık gerektiren bu uygulamada, asitle pürüzlendirme ve yıkama işlemlerinden sonra yüzey tamamen kurutulmaz, hafif nemli bırakılır. Böylece kollajen fibriller, nemli yüzeyde kalan su ile desteklenir ve adezivin primer solüsyonu kollajen ağa daha iyi diffüze olur. Bunun sonucunda bağlanma dayanıklılığı artar. Dentinin ideal nemlilik düzeyinde tutulabilmesi amacıyla, hava

spreyi yerine pamuk peletlerle kurutulması tavsiye edilmektedir. Yine de, klinik şartlarda ideal nemlilik düzeyinin elde edilmesi her zaman mümkün olmayabilir (60).

Dentin yüzeyinin kurutulması sırasında aşırı nemli bırakılması da bağlanmayı olumsuz yönde etkilemektedir (58). Aşırı nem, primeri sulandırarak etkisinin azalmasına, hibrit tabaka içindeki rezin polimerizasyonunun olumsuz etkilenmesine neden olur. Ayrıca nem, demineralize dentinde, rezin tarafından doldurulması gereken boşlukları doldurarak, bağlanmayı olumsuz yönde etkiler (18,20). Bu durum, hibrit tabaka içerisinde bazı küçük bölgelerde rezin infiltrasyonunu azaltarak “nanosızıntı” oluşmasına neden olur. Sano ve ark. (61) tarafından tanımlanan nanosızıntı terimi, adezivlerle dentin yüzeyi arasında gümüş nitrat penetrasyonunun saptanmasıyla ortaya çıkmıştır. Gümüş nitrat sızıntısı saptanan bu bölgede, rezinin tam olarak infiltre olmadığı, hibrit tabaka içerisinde kollajen fibrillerin etrafında nanometre cinsinden ölçülebilen boşluklar olduğu gözlenmiştir. Nanosızıntı, demineralize olan dentin alanını tam olarak doldurması gereken adeziv sistemin yetersizliğini yansıtmaktadır. Dolayısıyla dentinde daha derin pürüzlendirme ve demineralizasyon sağlayan dentin adezivler, daha fazla nanosızıntıya neden olabilmektedirler. Nanosızıntı bölgeleri, zamanla bağlanmada bozulma meydana getirebilir (60).

Dentin Dokusuna Primer ve Adeziv Resin Uygulanması:

Total-etch sistemlerde, dentinde asitle pürüzlendirme işlemini takiben ikinci aşama, açığa çıkmış kollajeni desteklemek ve HEMA gibi hidrofilik bir monomer ile kaplamak için “primer” ajan uygulanmasıdır (28). Primer uygulamasının amacı; dentinin ıslanabilirliğini ve yüzey enerjisini arttırmaktır. Bu ajanlar genellikle su, aseton veya etanol gibi çözücülerde çözülmüş hidrofilik rezin monomerler içerirler (28,51). Primer içerisindeki çözücüler, dentin yüzeyindeki su ile yer değiştirirerek, açığa çıkan kollajen ağ içerisindeki nano boşluklara rezin monomer infiltrasyonunu sağlarlar (59).

Demineralize dentin, hidrofobik karakterdedir ve bu yüzden adeziv rezinin, kollajen ağ içine penetrasyonuna izin vermez. Primerin yapısında hidrofilik ve hidrofobik iki fonksiyonel grup vardır. Hidrofilik grup dentinde kollajen lifleri ile, hidrofobik grup ise bağlayıcı ajan ile bağlantı yapar (28).

Primerlerin, adezyon işlemi sırasında;

- Dentin yüzeyini ıslatmak,
- Rezinle hidrofilik diş yapısı arasındaki kontak açısını azaltmak,
- Smear tabakasının geçirgenliğini arttırmak,
- Bonding rezinin diş yüzeyine mekanik bağlanmasını sağlamak,
- Rezin ve bağlayıcı arasında kimyasal bağlanmayı sağlamak gibi görevleri vardır (48,51).

Asitlenmiş olan dentin yüzeyine primer uygulanması, çökmüş kollajenleri restore eder ve rezinin dentine daha iyi diffüze olmasını sağlar. Böylece hibrit tabakasının kalitesi ve bağlanma dayanıklılığı artar. Dentinde ideal bir bağlanmanın sağlanması için primerin, asitle pürüzlendirme sonrası meydana gelen demineralizasyon derinliği kadar dentin içerisine infiltre olması gerekmektedir (44).

Primerler, kimyasal yapıları farklı olan hidrofilik dentin ile hidrofobik rezini birbirleri ile uyumlu hale getirirler. Primer uygulanan yüzey, polimerize olmamış bağlanmayı arttırıcı moleküller içerir. Bu moleküller demineralize yüzeye uygulanan bağlayıcı ajan ile birlikte polimerize olurlar (59). Primerler ayrıca dentinin yüzey enerjisini arttırırlar. Dentin tübüllerinde yer alan sıvıdaki proteinlerin denatürasyonuna (çökmesine) neden olarak, dentinin geçirgenliğini azaltır ve dentin hassasiyetini önlerler (2).

Bu sistemlerde primer ajan uygulamasından sonra, diş yüzeyine üçüncü aşama olarak “bağlayıcı ajan (adeziv rezin)” uygulanır. Bağlayıcı ajanlar, bisfenol glisidimetakrilat (Bis-GMA) ve üretan dimetakrilat (UDMA) gibi hidrofobik rezin monomerler içerirler. Ayrıca ıslanabilirliği arttırmak için 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), viskoziteyi düzenlemek için trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) gibi daha hidrofilik yapıda rezin monomerler de içermektedirler. Bağlayıcı ajanların önemli görevleri, asitleme sonucu dentin dokusunda oluşan nano boşlukları doldurmak, dentin tübülleri içine girerek rezin tagların oluşumunu ve hibrit tabakanın stabilizasyonunu sağlamaktır. Adeziv rezin uygulanması ile oluşan polimerize olmuş hibrit tabaka, stresleri absorbe eder (51).

Total-etch adeziv sistemlerde; pürüzlendirme, primer ve bağlayıcı ajanların içerikleri, süreleri ve uygulama yöntemleri üretici firmalara göre çeşitlilik gösterir.

Bu sistemlerin klinik uygulama sırasında işlem basamakları oldukça fazladır. Asitle pürüzlendirme, yıkama, kurutma ve bağlayıcı ajan uygulaması aşamalarından herhangi birinde yapılacak hata, dentine bağlanmayı olumsuz yönde etkiler ve post operatif hassasiyete neden olur (28).

Günümüzde primer ve bağlayıcı ajan fonksiyonlarını tek bir solüsyon içerisinde birleştiren iki aşamalı total-etch adeziv sistemler, daha yaygın olarak kullanılmaktadır.

Çalışmada kullanılan Syntac ise günümüzde sıklıkla kullanılmakta olan üç aşamalı total-etch bir adezividir.

2.2.2.2. Self-Etch Adeziv Sistemler

Self-etch adezivler, total-etch sistemlerdeki işlem basamaklarını azaltarak çalışma zamanını kısaltmak amacıyla geliştirilen adeziv sistemlerdir. Bu adeziv sistemler, ayrı bir basamakta asitleme ve yıkama fazı gerektirmezler. Mine ve dentini birarada demineralize eden ve primerin infiltrasyonunu sağlayan asidik monomerler içerirler. Böylece klinik uygulama zamanı ve teknik hassasiyetin azaltılması ile, işlem süresince hata yapma olasılığı da azaltılmış olur (4). İçerdikleri asidik monomerler, mine ve dentini demineralize edip smear tabakası ve tıkaçlarını modifiye ederken, aynı zamanda gelişen monomer difüzyonu da kollajeni sarmalayarak hibrit tabakayı oluşturur (28).

Self-etch adeziv sistemler, çeşitli rezin monomerlere ve dolduruculara ek olarak; karboksilik, fosforik, sülfonik asit gruplarını, ya da bunların esterlerini içeren, metakrilat bazlı yapıdadırlar. Ayrıca maleik ve itakonik asit gibi organik ve inorganik asitleri de yapılarında bulundurlar (63). Self-etch adeziv sistemler, çoğunlukla su ve HEMA içerir. HEMA, nemlendirme ajanı olarak gereklidir ve ıslak ortamda yüksek diffüzyon kabiliyeti göstermektedir. Su ise asidik monomerlerin iyonize olarak smear tabakasında ve diş dokularında demineralizasyon meydana getirebilmesi için gereklidir (63). Self-etch adezivlerde ilk aşamada pürüzlendirme işlemi devam ederken, diğer yandan solüsyonun asiditesi, smear tabakasının ve diş dokularının çözünen mineral içeriği tarafından tamponlanmaktadır. Yeteri kadar yüksek pH değerine ulaşıldığında ise demineralizasyon durmaktadır (63).

Self-etch adeziv istemlerde smear tabaka; total-etch sistemlerde olduğu gibi uzaklaştırılmaz. Bunun yerine monomer infiltrasyonu ile modifiye olarak hibrit tabakanın içine dahil edilir. Oluşan hibrit tabaka içinde, bağlanma ara yüzeyinin bir parçası haline gelen modifiye olmuş smear tabakası da mevcuttur. Bu şekilde, smear tabakasının pulpayı koruyan ve dentin sıvısı akışını önleyen doğal bariyer özelliği korunur ve altındaki dentinin yeterince demineralizasyonu sağlanmış olur (63).

Self-etch adezivlerde bağlanma mekanizması substrat yüzeyinin kimyasal bileşiminin değiştirilmesi esasına dayanır; buna “hibridizasyon” adı verilmektedir. Bu şekilde mine/dentinin yüzey tabakası kısmen çözünür ve ortaya çıkan poröziteler rezinle doldurulur (23).

Smear tabakası ile kaplı dentine self-etch primerler uygulandığında, smear tabakasından mineraller çözünür ve alttaki sağlam dentinde yaklaşık olarak 0,5-1,5 µm derinliğinde pürüzlendirilmiş alan meydana gelir. Bu sistemlerle çok ince bir hibrit tabaka (1-2 µm) oluşmasına rağmen, bağlanma kuvvetinin yeterli olduğu ayrıca düşük mikrosızıntı değerleri gözlemlendiği rapor edilmiştir (62,64,65). Bununla birlikte, self-etch primerlerin pürüzlendirme yeteneği, substratın tamponlama kapasitesiyle ters ilişkilidir. Bu durum minede düşük bağlanma kuvvetleri gözlenmesine yol açabilmektedir. Ayrıca, primerler smear tabakası boyunca pürüzlendirme sağladığı için, smear tabakasının kalınlığındaki farklılıklar, bağlanmanın kalitesini etkileyebilmektedir. Smear tabakasının kalınlığına bağlı olarak, self-etch primerler smear tabakasının altındaki sağlam dentine ulaşamayabilirler ve bu nedenle bağlanma olumsuz etkilenebilir (44).

Self-etch adezivler, uygulama şekline göre iki aşamalı ve tek aşamalı olmak üzere ikiye ayrılırlar;

İki aşamalı self-etch adeziv sistemlerde; asidik primer uygulaması ile mine ve dentin dokularının pürüzlendirilmesi ve aynı zamanda bu dokulara primer ajan uygulanması (*self-etch primer*) amaçlanır. İlk aşamada dentin yüzeyine zayıf asidik monomerler içeren hidrofilik primer uygulanır. Çözünen smear tabakasının bağlanmaya katılması ve primerin kollajenler arası boşluklara yeterince penetrasyonu için biraz beklenir ve hafif hava sıkılarak kaviteye yayılması sağlanır. Bu işlem, üretici firmanın önerilerine göre birkaç kez tekrarlanabilir. Böylece diş dokusu ile rezin arasında yeteri kadar kalın bir adeziv tabaka oluşur. Bu sistemlerin ikinci

aşamasında ise, primer uygulanmış yüzeylere hidrofobik adeziv uygulanarak ışıkla polimerize edilir (63,69).

Tek aşamalı self-etch adeziv sistemlerde ise, asidik monomer içeren primer ve adeziv rezin tek bir solüsyonda (*self-etch adeziv*) birleştirilmiştir. Bu adeziv sistemler, smear tabakasını çözebilmek ve dentini demineralize edebilmek için yüksek oranda asidik hidrofilik monomer ve asidik monomerlerin iyonize olmasını sağlayan su (%5-50) içerirler (66). Tek aşamalı sistemlerin uygulaması kolaydır. Fakat bu sistemlerin yer aldığı in vitro çalışmalar, nanosızıntı, su kabarcığı alanları oluşumu, düşük bağlanma gibi dezavantajlarının olduğunu göstermektedir. Bunun sebebi tek şişede su ve çözücü içermesidir. Bu hidrofilik yapı, rezini su absorpsiyonuna açık hale getirir. Ayrıca bu sistemlerde kullanılan adezivin, yapısında üç fonksiyonu birden içeren bileşikler tek şişede bulundurulması ve hidrofilik ve hidrofobik monomerlerin karışımından oluşması başarısızlığının diğer sebepleri arasında belirtilmektedir (66).

Bu tür adeziv sistemler; iki veya tek komponentli olmak üzere iki şekilde bulunabilir. İki komponentli olan Tip I adeziv sistemlerde; uygulamadan önce karıştırma işlemi yapılır. Tek komponentli Tip II adeziv sistemlerde ise, karıştırma işlemine gerek duyulmaz ve bunlar “all-in-one adeziv” olarak adlandırılır. Tek aşamalı self-etch adezivler, aşırı derecede hidrofilik olduğu için polimerizasyondan sonra yarı geçirgen bir membran gibi davranırlar. Polimerize olmuş adezivin geçirgenliği, dentinden su geçişine izin vererek, kompozit-adeziv arayüzü boyunca hidrolitik bozulmaya yol açan “su kabarcıkları” oluşmasına neden olur. Tay ve ark. (67), polimerizasyon öncesi rezin infiltrasyonunun tam olmadığı bölgelerde rastlanılan bu mikroskobik oluşumların, adeziv-dentin arayüzüne tutunmuş, adezivin iyonik yapısına, hidrofilitesine ve kalınlığına bağlı olarak boyutları değişkenlik gösteren su ağacı (*water-tree*) görünümünde su kitleleri olduğunu bildirmişlerdir. Bu su kitleleri; hibrit tabakadan başlayıp adeziv-kompozit arayüzüne ulaşarak, hibrit tabakada suyun geçişine izin verir. Bu durum ise nanosızıntı oluşumuna neden olur. Ayrıca bunlar, polimerizasyon reaksiyonunun tam olarak gerçekleşmesi ve adeziv içeriğindeki HEMA'nın hidrojel formasyonunu tamamlaması için engel oluştururlar (69).

Self-etch adeziv sistemler, pürüzlendirme, yıkama ve kurutma gerektirmedikleri ve su bazlı oldukları için uygulanmaları kolaydır. Bu sistemlerde, demineralize dentinin aşırı kurutulması veya aşırı nemli bırakılmasına bağlı olarak ortaya çıkan problemler engellenmekte ve teknik hassasiyet azalmaktadır. Özellikle kooperasyonun sağlanamadığı durumlarda ve çocuk hastalarda işlem basamaklarının azalması, tükürükle kontaminasyon riskini de azaltarak kullanım kolaylığı sağlar (4,23).

Self-etch adeziv sistemlerde, pürüzlendirme ve hibrit tabaka oluşumu bir arada olduğu için, fazla demineralizasyona bağlı ortaya çıkan yetersiz rezin monomer infiltrasyonu olasılığı düşüktür. Resin, demineralize dentine asitleme esnasında tam olarak penetre olur. Böylece düşük bağlantı kuvvetlerinin oluşumu engellenir. Smear tabakasında görülen tıkaçlar uzaklaştırılmadığı için, oluşan resin taglarıyla dentin tübülleri tıkalı kalır ve böylece iyi bir sızdırmazlık sağlanır (63). Ayrıca self-etch sistemler, total etch sistemlere göre dentini daha az agresif şekilde asitlerler. Bunlara bağlı olarak daha az post operatif hassasiyete sebep oldukları öne sürülmüştür (68).

Self-etch adeziv sistemler, pH değerlerine göre güçlü ($\text{pH} \leq 1$), zayıf ($\text{pH} \geq 2$) ve orta güce sahip ($\text{pH} = 1,5$) olmak üzere üç şekilde sınıflandırılmaktadır (4, 70). Bazı araştırmacılar ise bu sistemleri hafif ve güçlü şeklinde sınıflandırmışlardır (4).

Bu sistemlerin mineye bağlanma potansiyelini, demineralizasyon yetenekleri, aşındırılmış veya sağlam (aşındırılmamış) mineye uygulanmaları ve uygulama yöntemleri gibi çeşitli faktörler etkilemektedir (68). Poröz veya aşındırılmış mine üzerinde yapılan çalışmalarda, fosforik asitle pürüzlendirilmiş mine yüzeyinde makro ve mikro resin uzantılar (resin taglar) meydana gelmektedir. Buna karşılık, self-etch sistemler ile "nanoretantif kilitleme" olarak tanımlanan ve mine kristallerinin yüzey alanının ve periferinin çözülmesi ile meydana gelen mikro resin uzantıların hibridizasyonu görülmektedir (2).

Güçlü self-etch adezivler çok düşük pH değerine ($\text{pH} < 1$) sahiptirler (68). Bu sebeple, smear tabakasını ve smear tıkaçlarını tamamen çözer, tübül ağzlarını genişletir. Kollajen fibrillerin etrafındaki hidroksiapatitin tümü uzaklaştırıldığı için, fonksiyonel monomer ve hidroksiapatit arasındaki kimyasal bağlanma gerçekleşemez (4). Güçlü self-etch adezivlerin bağlanma mekanizması difüzyon esasına dayanır ve dentine infiltrasyonları daha derindir. Böylece mine ve dentinde, total-etch adeziv

sistemlere benzer bir bağlanma mekanizması ve ara yüz morfolojisi görülür. Ancak, çözülmüş olan kalsiyum fosfat, total-etch sistemlerdeki gibi yıkanarak uzaklaştırılmaz. Düşük hidrolitik stabiliteye sahip olan kalsiyum fosfat, kollajenle stabil bir kimyasal etkileşim elde edilmesini engelleyerek, ara yüz bütünlüğünü ciddi şekilde zayıflatır (63,68).

Orta derecede güçlü self-etch adezivlerin pH'ı 1,5 civarındadır. Hafif ve güçlü asidik olan self-etch adezivler arasında özelliklere sahiptir. Primer uygulaması ile hibrit tabakada en üst kısmı tamamen, tabanı ise kısmen demineralize olan iki katlı yapı gözlenir (4). Total pürüzlendirmeli veya "güçlü" self-etch sistemler ile, açığa çıkan kollajen fibril ağından alttaki etkilenmemiş dentine ani bir geçiş gözlenirken; orta derecede güçlü self-etch sistemler ile, hibrit tabakanın en derin bölgesi dahi hidroksiapatit içerdiği için, hibrit tabakadan alttaki etkilenmemiş dentine kademeli bir geçiş gözlenir. Oluşturduğu hibrit tabakasının kalınlığı ise, güçlü self-etch dentin adezivlerine göre daha incedir. Orta derecede güçlü self-etch adezivler, hafif self-etch adezivlere göre daha düşük pH değerine sahip oldukları için, mine ve dentinde daha iyi bir mikromekanik bağlanma sağlanır. Ayrıca, hibrit tabakanın tabanında bulunan hidroksiapatit, kimyasal intermoleküler etkileşime olanak tanır (4). Orta derecede güçlü self-etch adeziv uygulaması ile 1-2 µm'lik etkileşim derinliği elde edildiği saptanmıştır (28).

Hafif self-etch adezivlerin pH değeri 2 civarındadır. Bu sistemler, smear tabakası ve tıkaçlarını kısmen çözerler ve dentini ancak 1 µm derinliğe kadar demineralize edebilirler ve submikron boyutlarda bir hibrit tabakası oluştururlar (23,71). Bu yüzeysel demineralizasyon sonucu, hidroksiapatit kristalleri kollajen ağa tutunmaya devam eder. Bununla birlikte yeterli derecede oluşan yüzey porozitesi, hibridizasyon boyunca mikromekanik kilitlenme oluşumunu sağlar (4). Bu sistemde meydana gelen hibrit tabakanın kalınlığı, güçlü self-etch veya total etch sistemlere göre daha azdır. Ancak hibrit tabaka kalınlığının dentine bağlanmada çok önemli olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca, hibrit tabaka içerisinde bulunan hidroksiapatitin, kimyasal bağlanma için reseptör görevi gördüğü belirtilmektedir (4). Self-etch adeziv sistemlerde bulunan 4-META gibi karboksilik asit bazlı monomerlerin, 2-metakriloksietil fenil hidrojen fosfat (Fenil-P) gibi fosfat bazlı monomerlerin ve 10-metakriloksidil dihidrojen fosfatın (10-MDP), hidroksiapatitin kalsiyumuna kimyasal olarak bağlanma potansiyeli mevcuttur (71). Fonksiyonel monomerlerin

spesifik karboksil ya da fosfat grupları, kalan hidroksiapatit ile kimyasal olarak etkileşime girerek güçlü iyonik bağlar oluştururlar. Bunun sonucunda oluşan kalsiyum karboksilat ve kalsiyum fosfat bağları hidrofilik ortamda uzun süre stabil kalabilmektedir (4). Sonuçta, mikromekanik ve kimyasal olarak gerçekleşen çift yönlü bağlanma, restorasyonun dayanıklılığı açısından önem taşımaktadır. Mikromekanik bağlanma, restorasyonun ani kopma streslerine karşı koymasını sağlarken, kimyasal bağlanma ise hidrolitik yıkıma karşı direnç göstermektedir (23). Hafif self-etch adezivlerin mineye bağlanma potansiyellerinin ise zayıf olduğu belirtilmiştir. Bu yüzden bu adezivler uygulanırken, asidik primerin mine ile olan temasının daha uzun tutulması önerilmiştir. Ayrıca minede adeziv uygulaması öncesinde ayrı bir fosforik asit uygulaması yapılmasının gerekebileceği bildirilmiştir (4).

Çalışmamızda self-etch adeziv olarak iki basamaklı ve pH'ı orta derecede (pH=1,4) olan "AdHeSE" kullanıldı.

2.2.2.3. Cam İyonomer Adezivler

Cam iyonomer adezivler, cam iyonomer ve rezin adeziv teknolojisinin birleşiminden oluşur. Bağlanma mekanizması mikromekanik ve kimyasal yolla olmaktadır. Cam iyonomer dentin adezivlerin uygulaması kolaydır. Flor salınımı sebebiyle çürük önleyici etkisi vardır. Bu adezivlerde yeterli bağlanmanın sağlanabilmesi için smear tabakasının uzaklaştırılması önemlidir (4).

Cam iyonomer materyaller, herhangi bir ön uygulama olmaksızın dentine kimyasal olarak tutunabilen tek materyaldir (74). Restoratif materyalin kaviteye uygulanmasından önce diş yüzeyine polialkenoik asit uygulanması, smear tabakasını ortadan kaldırarak 0,5-1 µm'lik bölgede yüzeyel bir demineralizasyon meydana getirir ve kollajen ağın açığa çıkmasını sağlar (36). Böylece cam iyonomer bileşenleri bu alana penetre olarak "mikromekanik" bir bağlanma gerçekleşir Bu uygulamanın cam iyonomer materyallerin bağlanmasını önemli derecede arttırdığı bildirilmiştir (4,75). Diş yüzeyinde meydana gelen yüzeyel demineralizasyon sonucu kollajen ağ üzerinde kalan hidroksiapatit kristallerine ait kalsiyum iyonları ile polialkenoik asit içerisindeki karboksil grupları arasındaki iyonik bağlar sayesinde "kimyasal bağlanma" gerçekleşir (74). Bu kimyasal bağlanma hidrolitik

degradasyona karşı bir direnç oluşturmaktadır. Sonuç olarak, iki yönlü bir bağlanma elde edilmiş olur (40).

Sklerotik dentinde tübüllerin içinde ve etrafında çok fazla mineral olduğundan, kimyasal bağlanma özelliğinden yararlanmak amacıyla cam iyonomer adezivler tercih edilmektedir. Sklerotik dentinde mineralize dokulara bağlanma, cam iyonomerin matrisi ile diş yapısındaki kalsiyum şelasyonu ile mümkün olmaktadır (38).

Rezin bazlı self-etch adezivlerle cam iyonomer simanlar arasındaki temel farklılık, cam iyonomerlerin yüksek molekül ağırlıklı polikarboksilik polimerler ile pürüzlendirme yapmalarıdır. Bu durum cam iyonomer simanların infiltrasyon kapasitelerini sınırlamakta ve yüzeysel bir hibrit tabaka oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca yüksek molekül ağırlıkları nedeniyle, derin bir demineralizasyon sağlayan fosforik asit gibi asitlerle pürüzlendirilmiş dentine de infiltre olamazlar. Dolayısıyla bu tip güçlü asitlerin, cam iyonomerle kullanılması önerilmemektedir (40).

2.3. Adeziv Sistemlerin Laboratuvarda Test Edilmesi

Restoratif materyallerin ve adeziv sistemlerin başarılarının ve kalıcılıklarının değerlendirilmesinde klinik araştırmaların en etkili yöntem olduğu bildirilmiştir. Fakat klinik araştırmalar, uzun zaman gerektiren, maliyeti yüksek ve standardizasyonu zor yöntemlerdir. Ayrıca bu araştırmalar ile ağız içerisinde, aynı zamanda oluşan farklı kuvvetlerin restorasyon üzerindeki etkileri doğru olarak ayırt edilemeyebilir. Bu nedenle adeziv sistemlerin başarılarının değerlendirilmesinde, etkin ve çabuk sonuç veren, parametreleri değiştirilebilir ve sonuçları kıyaslanabilir laboratuvar testleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Laboratuvar testleri; sonuçları hızlı elde edilebilen, kolay ve ucuz yöntemlerdir. Diğer değişkenleri sabit tutup tek parametreyi ölçebilme imkanı sağlar. Diş hekimliğinde bu testlerin sonuçlarının değerlendirilmesi ile dental materyallerin kullanımı ve seçimi konusunda hekimlere yardımcı olacak bilgiler elde edilmektedir. Ayrıca yeni bir materyalin performansı test edilebilir ve diğer materyaller ile karşılaştırılabilir (76).

2.3.1. Bağlanma Dayanımı Testleri

Restoratif materyallerin klinik uygulamalar için değerlendirilmelerinde kullanılan laboratuvar testlerinin en önemlilerinden birisi, bağlanma dayanım testleridir. Adeziv sistemlerin mine ve dentine olan bağlanmasını değerlendirmede bu testler kullanılmaktadır. Bağlanma dayanım testlerinin temeli, rezin ile diş dokusu arasındaki bağlantının ne kadar güçlü olduğunun belirlenmesi ve böylece restorasyonların ağız içinde oluşan fonksiyonel streslere karşı gösterebileceği direnci saptayabilmek düşüncesine dayanmaktadır (23).

Bağlanma dayanım testleri iyi bir test düzeneği hazırlandığında, kliniğe yönelik doğru bilgiler ortaya koyabilir. Fakat bağlanma dayanımı, kullanılan kompozitin tipi, test yöntemi, örnek boyutları ve geometrisi, uygulanan kuvvetin miktarı gibi bazı faktörlerden etkilenebildiği için materyalin genel özelliğini belirleyemez (23). Bu testlerde, mine ve dentinde bulunan adeziv bağlantı yüzeylerine, mekanik test yöntemleri kullanılarak kuvvet uygulanır. Bu yöntemler, uygulanan kuvvetin yönüne göre; gerilim bağlanma kuvveti (tensile bond strength) ve makaslama bağlanma kuvveti (shear bond strength) testi olarak adlandırılır. Bağlanma dayanımı makro ve mikro testler olarak sınıflandırılır. Bu iki yöntem arasındaki fark, bağlanma alanının çapı ile ilgilidir. Makro testlerde bağlanma yüzeyi 3 mm²'den daha büyük, mikro testlerde ise 1 mm² ya da daha azdır. Makro testler, mikro testlere oranla daha düşük bağlanma dayanımı göstermektedir. Yani test edilen bağlanma alanı küçüldükçe bağlanma dayanımı artmaktadır. Örnek boyutunun artması, bağlanma dayanımını olumsuz etkileyebilecek faktörlerle karşılaşma olasılığını artırır (76).

Bağlanma dayanım testlerinin sonuçlarını etkileyebilecek çok sayıda değişken vardır. Uygulanan kuvvetin hızı, örnekleri saklama koşulları, dentin adeziv sisteminin uygulama basamakları, kavitenin C faktörü ve ara yüzdeki su absorpsiyonu gibi bazı faktörler, bağlanma dayanımını etkileyebilmektedir. Bağlanma dayanımı testi uygulanacak örneklerin saklandığı ortamın ısısının 30°C civarında olması gerektiği bildirilmiştir. Yüksek C faktörüne sahip kaviteler daha düşük bağlanma dayanım değeri gösterirler. Ayrıca dentin-rezin ara yüzünde suda bekletme sonucu su absorpsiyonunun olması bağlanma değerini düşürmektedir (77).

Dentin adezivlerin diş dokularına bağlanma performansını değerlendirmede, çoğunlukla mikrogerilim ve mikromakaslama test yöntemleri kullanılmaktadır. Çalışmamızda mikrogerilim bağlanma dayanım testi kullanılmıştır.

2.3.1.1.Mikrogerilim Bağlanma Dayanımı (MTBS) Testi

Gerilme veya makaslama test yöntemlerinin, genel olarak düşük bağlanma değerleri (10-15 MPa) gösteren materyallerin test edilmesinde uygun olduğu bildirilmiştir. Yüksek bağlanma dayanım değerlerine sahip olan dentin adezivler, bu yöntemler ile test edildiğinde dentin içerisinde kırılma (koheziv kırılma) oranı artabilir, rezin-dentin arayüzünde istenen ayrılma gerçekleşmeyebilir ve buna bağlı olarak gerçek bağlantı dayanımı tespit edilemeyebilir (72). Bu klasik test yöntemlerinin olumsuz özelliklerinin zaman içerisinde anlaşılması, araştırmacıları daha duyarlı test yöntemleri geliştirmeye yöneltmiştir. Mikrogerilim bağlanma dayanım testi (Microtensile Bond Strength - MTBS), 1994 yılında Sano ve ark. (73) tarafından geliştirilmiş ve günümüzde araştırmacılar tarafından sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır.

Mikrogerilim bağlanma dayanımı test yönteminde, örneklerin uzun ve yoğun bir hazırlık aşaması olduğu için teknik hassasiyeti yüksektir. Hazırlanan örnekler, düşük hızda çalışan elmas diskler aracılığı ile, su soğutması altında 1 mm'lik kesitlere ayrılır ve bu kesitler de 1 mm² alanında çubuklar oluşturacak şekilde dilimlenir. Hazırlanan kesitlerin, mikrogerilim bağlanma dayanımının ölçülmesi sırasında test cihazına, kuvvete paralel olacak şekilde yerleştirilmesinin önemli olduğu, aksi takdirde hatalı bağlanma değerleri elde edilebileceği bildirilmiştir (28,72).

Mikrogerilim bağlanma dayanım test yönteminde, tek bir diştten 1 mm²'lik yüzey alanına sahip seri kesitler alınarak çok sayıda örnek elde edilebilmektedir. Böylece rezin-dentin bağlantısında ortaya çıkabilecek bölgesel farklılıklar daha iyi araştırılabilir. Ayrıca bu test yöntemi, düzensiz yüzeylerde de bağlanma testinin uygulanmasına olanak sağlar (28,72).

Bu yöntemde gerilme dayanımı 1 mm² gibi çok küçük yüzeylerde ölçüldüğü için kuvvet uygulanması sırasında bağlantı ara yüzeyinde kuvvet dağılımı daha iyi olur ve dentin içerisinde oluşabilecek koheziv kırılmaların önüne geçilebilir (72).

Başarısızlık, daha çok bağlanma ara yüzlerinde ve adeziv tip kırılma şeklinde gözlenmektedir (3). Bu yöntemle, elde edilen bağlanma dayanımı değerlerinin genellikle gerçeğe yakın ve yüksek olduğu rapor edilmiştir (73). Ayrıca, yüzey alanlarının çok küçük olması, bağlanma ara yüzünün taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile değerlendirilmesini kolaylaştırır (78). Örneklerin hazırlanması sırasında bağlanma yüzeyi, kompozit restorasyonların bitirilmesi esnasında kullanılan elmas frezlerin oluşturduğu streslerin benzerine maruz kalır. Ayrıca gerek ara yüzde ve gerekse örneklerde daha az defekt (hava kabarcığı, mikroaralıklar gibi) meydana gelmesi nedeniyle, mikrogerilim bağlanma dayanım testleri ile klasik test yöntemlerine göre daha yüksek bağlanma değerleri elde edildiği bildirilmiştir (78,79).

Mikrogerilim bağlanma test yönteminin birçok avantajının yanında, bazı zorluk ve dezavantajları da vardır. Laboratuvar işlemleri oldukça zordur ve teknik duyarlılık gerektirir. Mikrogerilim bağlanma testinin uygulanabilmesi için özel bir düzenek gereklidir. Örnekler, çok küçük olduklarından, kolaylıkla dehidrate olabilir ve hazırlanması sırasında zarar görebilir. Ayrıca bu test yöntemi ile 5 MPa'dan daha düşük bağlanma değerlerinin ölçülmesinin zor olduğu bildirilmiştir. (3,72,78). Mikrogerilim bağlanma dayanımı testi sonuçlarını çeşitli faktörlerin etkileyebileceği bildirilmiştir; hazırlanan örneğin şekli, adeziv uygulaması sırasındaki hatalar (hava kabarcığı), örnek hazırlama esnasındaki zımparalama hataları, adeziv kalınlığı, elastik modül farklılıkları ve uygulanan kuvvetin açısı gibi faktörler, örnek tipine göre farklı derecelerde stres dağılımına neden olur. Bu da farklı bağlanma dayanım değerlerinin ortaya çıkmasına yol açabilir (78,79)

Tüm bunlara karşın mikrogerilim bağlanma dayanım testi ile klinik şartların gerçeğe yakın bir şekilde taklit edilebildiği, adeziv sistemlerin dentine bağlanmasının değerlendirilmesinde başarılı ve sık kullanılan bir yöntem olduğu belirtilmektedir. (76,78,79).

2.4. Matriks Metalloproteinaz Enzimleri (MMP)

2.4.1. Matriks Metalloproteinaz Enzimlerinin Genel Özellikleri ve Fizyolojik Fonksiyonları

Matriks metalloproteinaz enzimleri, doğal olarak ekstrasellüler matriks içinde bulunan ve ekstrasellüler matriksin kollagen, fibronektin, laminin ve glikoprotein gibi komponentlerini parçalayabilen proteinazlardır. Aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim grubunu oluştururlar (6). MMP'ler, proteinazların beş alt sınıfından biri olan metalloproteinaz enzim ailesindedir ve 'Matriksinler' olarak da adlandırılırlar. Bu enzimler, çinko (Zn) ve kalsiyuma (Ca) bağlı endopeptidazlardır ve kollajen dokusu ve bütün bağ dokusu yapısında bulunurlar. Nötral pH'da fonksiyon yapar ve stabilite için kalsiyuma gereksinim duyarlar (6,80).

Matriks metalloproteinazlar, fizyolojik koşullarda proteinlerin yeniden şekillenmesi, patolojik koşullarda ise yıkımından sorumludurlar (80). Matriks metalloproteinaz enzimleri, yıkımdan sorumlu birçok ekstrasellüler matriks proteini ile birlikte organogenez, büyüme ve doku düzenlenmesi sırasında uyum içinde çalışırlar. MMP'ler, dokuların yeniden yapılanması, morfogenez, yara iyileşmesi, yeni damar gelişimi (anjiyogenez) ve normal doku yapımı gibi fizyolojik durumlarda önemli rol oynarlar. Normal ve kötü huylu hücre yayılımında düzenleyici molekül olarak görev alırlar. Ayrıca doku ülserasyonu, tümör hücreleri invazyonu ve yayılımı (metastaz) gibi patolojik süreçlerde de yer alırlar (6,80).

Matriks metalloproteinazlar, çoğunlukla bağ dokusu hücreleri ve enflamatuar olaylarda rol alan fagositler tarafından salgılanmaktadır. Bu enzimler; fibroblastlar, nötrofiller, makrofajlar, plazma hücreleri, kemik hücreleri, lökositler, keratinositler, epitelyal ve mezenşimal kökenli hücreler tarafından latent (inaktif proenzim/zimojen) formda sentezlenir ve "pro-MMP" olarak adlandırılır. Proteolitik aktivitelerini göstermeleri için, fiziksel, kimyasal veya enzimatik etkilerle ekstrasellüler olarak aktive olmaları gerekir. Dokularda MMP'lerin salgılanması ve aktivasyonu normal koşullarda oldukça kısıtlıdır. Fakat istenmeyen doku yıkımına neden olan enflamatuar hastalıklar, tümör gelişimi ve metastazı gibi çeşitli patolojik durumlarda salınımları artmaktadır (6).

MMP'ler ve doku inhibitörlerinin sentezlenip salgılanması, büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından düzenlenir. Bu grup enzimler, hücrelerarası iletişimin düzenlenmesinde, moleküler değişim ve bağışıklık üzerinde; hücre yüzey reseptörleri, sitokinler, hormonlar, defensin, adezyon molekülleri ve büyüme faktörlerinin biyolojik etkinliği üzerinde önemli rol oynarlar (6,81,82).

Matriks metalloproteinazlar embriyolojik gelişim, tükürük bezleri morfogenezini, diş sürmesi, ovulasyon, ekstrasellüler matriks ve kemiğin yeniden şekillenmesi gibi birçok fizyolojik olayda rol alırlar. Bu enzimler yara iyileşmesinde, yara kenarlarındaki hasarlı yüzeyde, re-epitelizasyonu gerçekleştirmek için keratinosit migrasyonu sağlarlar (87). MMP genlerinin, menstürel siklus, ovülasyon, laktasyon, uterus, meme ve prostat involusyonu sırasında yüksek düzeyde salgılandığı bildirilmiştir. Ayrıca vasküler fonksiyonları da regüle etmektedirler (80).

MMP'lerin aktivitelerinde meydana gelen kontrolsüz artışların, ekstrasellüler matriks bozulmasına neden olarak akut ve kronik hastalıkların patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Kardiyak hastalıklar, ateroskleroz, periodontal hastalıklar, artrit, kanser, tümör metastazları, pulmoner amfizem ve osteoporoz gibi birçok hastalığın patogenezinde MMP aktivitesindeki artışın etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (82-86).

2.4.1.1. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması

Metalloproteinaz ailesinin ilk üyesi olan kollajenaz (MMP-18), 1962'de Gross ve Lapiere tarafından (88) kurbağa yavrusunun kuyruğunun metamorfozu sırasında tanımlanmıştır. Günümüzde MMP ailesinin üyesi olan yaklaşık 23 adet farklı enzim tespit edilmiştir. Bu enzimler; matriks komponentlerine yapışmaları, aktivasyon göstermek için çinko iyonuna bağlanmaları, etki göstermeden önce bölünmeyle aktive olmaları, aile üyeleri arasında özel aminoasit dizilerinin korunması, metalloproteinazların endojen doku inhibitörleriyle (TIMP) enzimatik aktivitelerinde görülen azalmalarına göre tanımlanırlar. Moleküler klonlama yöntemleri ile MMP ailesine ait grup üyelerinin aminoasit benzerlikleri olduğu gösterilmiştir (89).

Farklı türleri tanımlanan MMP enzim ailesi; moleküler yapılarına, etki ettikleri substratlara (ekstrasellüler matriks bileşenlerine) ve hücresel lokalizasyonuna göre altı ana gruba ayrılırlar (Tablo 1) (89):

1. **Kollajenazlar:** MMP-1 (Kollejanaz-1, Fibroblast tip kollejanaz), MMP-8 (Kollajenaz-2, Nötrofil tip kollajenaz), MMP-13 (Kollajenaz-3), MMP-18 (Kollajenaz-4)
2. **Jelatinazlar (Tip IV kollajenazlar):** MMP-2 (Jelatinaz-A), MMP-9 (Jelatinaz-B)
3. **Stromelisinler:** MMP-3 (Stromelisin-1), MMP-10 (Stromelisin-2), MMP-11 (Stromelizin-3)
4. **Matrilisinler:** MMP-7 (Matrilisin-1), MMP-26 (Matrilisin-2)
5. **Membran tip MMP'ler (MT-MMP):** MMP-14 (MT1-MMP), MMP-15 (MT2-MMP), MMP-16 (MT3-MMP), MMP-17 (MT4-MMP), MMP-24 (MT5-MMP), MMP-25 (MT6-MMP)
6. **Diğer MMP'ler:** MMP-12 (Metalloelastaz), MMP-19, MMP-20 (Enamelisin), MMP-21, MMP-22, MMP-23, MMP-27, MMP-28

Tablo 1: Matriks metalloproteinazların altı ana grupta sınıflandırılması (89).

KOLLAJENAZLAR	Kollajanaz-1 (MMP -1) Kollajanaz-2 (MMP -8) Kollajanaz-3 (MMP -13) Kollajanaz-4 (MMP -18)
JELATİNAZLAR	Jelatinaz-A (MMP -2) Jelatinaz-B (MMP -9)
STROMELİSİNLER	Stromelisin-1 (MMP -3) Stromelisin-2 (MMP -10) Stromelisin-3 (MMP -11)
MATRİLİSİNLER	Matrilisin-1 (MMP -7) Matrilisin-2 (MMP -26)
MEMBRAN TİP MMP'LER (MT-MMP)	MT1-MMP (MMP-14) MT2-MMP (MMP-15) MT3-MMP (MMP-16) MT4-MMP (MMP-17) MT5-MMP (MMP-24) MT6-MMP (MMP-25)
DİĞER MMP'LER	Makrofaj metalloelastaz (MMP-12) RASI (MMP-19) Enamelisin (MMP-20) XMMP (MMP-21, MMP-22) CA-MMP (MMP-23A,B) CMMP (MMP-27) Epilisin (MMP-28)

Kollajenazlar; bağ dokusundaki fibriler kollajenlerin (kollajen tip I, II, III, VII ve X) yıkımından sorumlu temel nötral proteinazlardır.

Jelatinazlar; denatüre kollajenin ve bazal membranın yıkımından sorumludurlar. Bu enzimler, endotelial, epitelial, yağ, kas, periferel sinir hücrelerinin ekstrasellüler matriksinin yıkımından da sorumludurlar.

Stromelisinler; proteoglikanlar, matriks glikoproteinleri ve bazal membran kollajenlerini (ekstrasellüler matriks komponentlerini) yıkıma uğratabilmektedirler.

Membran tip MMP'lar; hücre yüzeyinde bulunurlar. Diğer matriks proteinleri gibi sentezlenmezler. Ekstrasellüler matriksi yıkıma uğratırlar. Ayrıca MMP-2 gibi diğer bazı MMP'leri proteolitik olarak aktive ederler (89).

MMP'lerin hücresele kaynağı ve etki ettikleri matriks substratları (ekstrasellüler matriks komponentleri) Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: Yapı ve gruplarına göre MMP'lerin hücresele kaynağı ve etki ettikleri matriks substratları (90).

MMP TİPİ	MMP ADI	TANIMLANMIŞ ADI	HÜCRESEL KAYNAĞI	MATRİKS SUBSTRATLARI
Kollajenaz	MMP-1	Kollajenaz-1 (Fibroblast Kollajenaz)	Keratinositler Endotelial Hücreler Osteoblastlar, Kondrositler Monositler, Makrofajlar Mast Hücreleri	Tip I, II, III, VII, X Kollajenler Jelatin, Enaktin, Aggrekan, Tenasin
Kollajenaz	MMP-8	Kollajenaz-2 (Nötrofil Kollajenaz)	Endotelial Hücreler Mast Hücreleri Gingival Fibroblastlar	Tip II, III, I, VII, X Kollajenler, Jelatin, Enaktin Aggrekan, Tenasin
Kollajenaz	MMP-13	Kollajenaz-3	Bazal ve Suprabazal Epitel Hücreleri	Tip II, III, VII, X Kollajenler, Jelatin, Enaktin Aggrekan, Tenasin

Kollajenaz	MMP-18	Kollajenaz-4	Tanımlanmamış	Tip I, II, II Kollajenler Jelatin
Jelatinaz	MMP-2	Jelatinaz-A	Endotelial Hücreler, Fibroblastlar, Mononükleer Hücreler, Epitelial Hücreler Laminin-5, Aggrekan, Brevikan, Neurokan, BM-40, Vitronektin a2-Makroglobulin	Denature Kollajenler, Elastin, Fibronektin, Tip I, IV, V, VII , X, XI Kollajenler
Jelatinaz	MMP-9	Jelatinaz-B	Makrofajlar, Keratinositler, Epitelial ve Endotelial Hücreler	Denature Kollajenler, Jelatin, Elastin, Fibronektin, Tip I, IV, V, VII, X, XI Kollajenler Laminin, Aggrekan, Vitronektin, Link Protein
Sitromelisin	MMP-3	Stromelisin-1	Epitelial Hücreler Aggrekan, Laminin, Fibronektin,	Tip II, III, IV, V, IX, X Kollajenler, Jelatin, Entaktin, Tenascin, Vitronektin
Sitromelisin	MMP-10	Stromelisin-2	Epitelial Hücreler	Proteoglikan, Fibronektin, Jelatin Tip I, III, IV, V
Sitromelisin	MMP-11	Stromelisin-3	Fibroblastlar	Fibronektin, Laminin, Aggrekan
Matrilisin	MMP-7	Matrilisin	Dışeti fibroblastları	Aggrekan, Laminin, Fibronektin, Tip IV, V, IX, X, XI Kollajenler, Gelatin, Enaktin, Tenaskin

Matrilisin	MMP-26	Matrilisin-2 (Endometaz)	Nötrofil, Beyin Tümörleri	Tip IV Kollajen, Jelatin, Fibronektin, Fibrinojen
Membran tipi	MMP-14	MT1-MMP	Tanımlanmamış	Tip I, II, III Kollajenler Gelatin, Fibronektin, Vitronektin
Membran tipi	MMP-15	MT2-MMP	Tanımlanmamış	Proteoglikan
Membran tipi	MMP-16	MT3-MMP	Tanımlanmamış	Tip III Kollajen, Fibronektin
Membran tipi	MMP-17	MT4-MMP	Tanımlanmamış	Jelatin, Fibrin/Fibrinojen
Membran tipi	MMP-24	MT5-MMP	Tanımlanmamış	Fibronektin, Proteoglikanlar, Jelatin
Membran tipi	MMP-25	MT6-MMP Lökolisin	Tanımlanmamış	Tip IV Kollajen, Jelatin, Fibrin, Fibronektin, Laminin-1, Proteoglikanlar
Diğer	MMP-12	Metalloelastaz Makrofaj Elastaz	Makrofajlar	Elastin, Fibronektin, Fibrin/Fibrinojen, Laminin, Proteoglikan, Jelatin, Vitronektin, Myelin
Diğer	MMP-19	RASI-1 Stromelisin-4		Tip IV Kollajen, Jelatin, Laminin, Fibronektin, Fibrinojen, Fibrin
Diğer	MMP-20	Enamelisin		Amelogenin, Tip IV Kollajen, Aggrekan
Diğer	MMP-28	Epilsin		Kazein

2.4.1.2. Matriks Metalloproteinazların Moleküler Yapıları

Matriks metalloproteinaz ailesinin üyeleri, farklı matriks öğelerini parçalama özelliğine sahip olmalarına rağmen, hepsi benzer yapısal ve fonksiyonel özellikler içerirler. MMP ailesini kodlamak için 24 farklı gen bulunmaktadır. Yapısal olarak incelendiğinde MMP'ler 5 farklı gen bölgesiyle kodlanmaktadır:

1-Sinyal peptit

2-Propeptit

3-Katalizör bölge

4-Hemopeksin benzeri bölge (substrat spesifitesini belirler)

5- Prolinden zengin bölge (Şekil 5) (89).

Bunlardan 17-29 aminoasit içeren sinyal peptit bölgesi, 77-87 aminoasit içeren propeptit bölgesi ve 170 aminoasit içeren katalizör bölge bütün MMP'lerde bulunmaktadır. Gen bölgeleri N-terminal uçla başlayıp C-terminal uçla sonlanmaktadır (89).

Sinyal peptit; endoplazmik retikulumdan ilk sentezlenen proteindir ve hücreden salınımı kontrol etmektedir. MMP'lerin endoplazmik retikulum aracılığı ile salgılanmaları için, hidrofobik sinyal peptit dizisini içerirler. Bu bölge proteinin hücre dışına transferi sırasında kesilir ve enzimin olgun formunda bulunmaz (89).

Propeptit bölge; katalitik çinko (Zn) bağlayan bölge ile etkileşerek enzimin inaktif formda kalmasını sağlayan bölgedir. N-terminal uçta bulunan propeptit bölgenin proteolitik olarak ortadan kaldırılmasıyla MMP' ler aktif hale geçerler. Propeptit bölge, enzimin aktivasyonunda rol oynayan sistein kalıntısını içerir ve jelatinlere bağlanmasına yardımcıdır. Sistein, pro-MMP' lerin inaktif kalmasını sağlar ve içerdiği sülfidril grubuyla pro-MMP' lerin aktifleşmesini engellemek için katalitik bölgedeki çinko ile bağlanır. Buna "sistein anahtarı" (sistein switch) adı verilir. Enzimin aktif bölgesinde bulunan çinko ile sistein kalıntılarının etkileşimi, enzimi latent formda tutar ve sistein anahtarı mekanizmasının tetiklenmesi ile bu etkileşimin kesilmesi, enzimin aktivasyonu ile sonuçlanır (6,89).

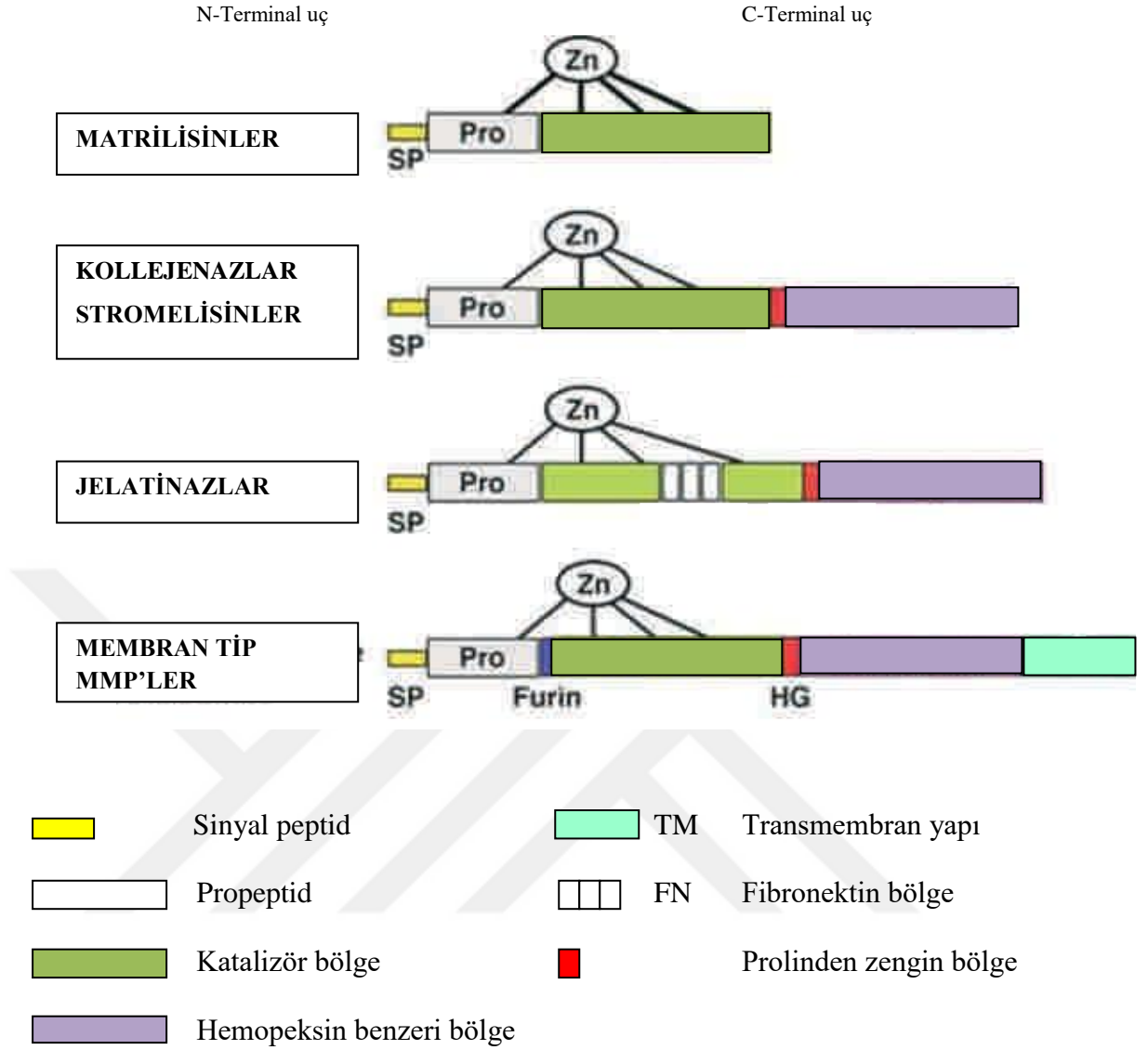
Katalizör bölge; aktif merkezinde çinko atomu ve çinko atomuna bağlı korunmuş sistein aminoasit içerir. Propeptit bölgenin ayrılması ile yapısındaki çinko iyonları sayesinde enzim aktivitesini sağlayan bölgedir. MMP'lerin stabilitesini ve enzimatik aktivitesini korumak için katalitik çinko atomuna ek olarak yapısal çinko atomu ve 1 ya da 3 tane kalsiyum atomu içerir. İçerdiği histidin kalıntıları çinko (Zn^{+2}) iyonu için 3 ayrı bağlanma bölgesini oluşturmaktadır (6,89).

Hemopeksin benzeri bölge; substrat özgünlüğünü belirler ve endojen inhibitörler ile bağlanmayı sağlar. MMP-7 ve MMP-26 dışındaki tüm metalloproteinazlarda bulunur. Son kısımda bulunan bu bölge, N ve C terminal kısımlarını bağlayan disülfid bağı içerir ve katalitik bölgeye 5-10 aminoasitlik prolinden zengin bir bölge ile bağlanır. Substrata bağlanma ve TIMP'ler ile etkileşime girmedi fonksiyonel rolü vardır. Katalitik bölge (aktif enzim + fibronektin + çinko) tek başına diğer substratlara karşı proteolitik aktiviteyi sağlasa da, hemopeksin benzeri bölge, kollajenazların interstitiyel kollajenlerinin üçlü heliks yapılarını ayırmaları için gereklidir (6,89).

Prolinden zengin bölge; katalizör bölgeyi hemopeksin benzeri kısma bağlayan bölgedir. Matrilisinler hariç diğer MMP'lerde bulunur.

Jelatinazlar katalizör bölgelerinde denatüre kollajenlere bağlanmayı sağlayan 3 tekrarlı *fibronektin bölgesi* içerirler.

Membran tipi metalloproteinazlar (MT-MMP), enzimleri hücre yüzeyine bağlayan *transmembran yapı* içerirler ve hücre yüzeyine bu transmembran bölge ile bağlanırlar. Ayrıca MT-MMP'lar, propeptid ve katalitik bölge arasında *furin bölge* içermektedir. Bu bölge, proenzimlerin intrasellüler aktivasyonundan sorumludur (6,89).



Şekil 5: Matriks metalloproteinazların moleküler yapısı (6).

2.4.1.3. Matriks Metalloproteinazların Aktive Edilmesi

Matriks metalloproteinazlar pek çok değişik ajanlarla aktive olabilirler. *In vitro* olarak aminofenilmerkürük asetat, hipokloröz asit (HOCl), sodyum dodesil sülfat, kaotropik ajanlar, deterjanlar, civalı bileşikler ve altın bileşikleri ile non-proteolitik aktivasyon, tripsin ve plazmin gibi çeşitli proteinazlar ile de proteolitik aktivasyon sağlanır. Aktivasyon sürecinde oksidatif stres ile birlikte doku, plazma ve bakteriyel proteinazların da etkili olduğu düşünülmektedir (81,89,91).

Her enzimin proenzim alanında korunmuş bir sistein kalıntısı bulunmaktadır. Bu sistein kalıntısı enzimin aktif bölgesindeki Zn^{+2} atomu ile bağlantılıdır. Böylece enzim aktive olduğunda çinko atomuyla reaksiyona girecek olan, aktif enzimin dördüncü bileşeni suyu dışarıda tutar. Yukarıda bahsedilen aktive edici ajanlar sistein ile reaksiyona girerek, sistein-çinko bağlantısını yıkarlar ve enzim aktivasyonunu başlatırlar (89,92).

2.4.1.4. Matriks Metalloproteinazların İnhibe Edilmesi

Matriks metalloproteinazların aktivitesi ve sentezi, bu enzimlerin spesifik doku inhibitörleri (Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases, TIMP) ile arasındaki hassas denge ile kontrol edilir. TIMP'ler *in vivo* koşullarda bu enzimlerin aktivitesinin regülasyonunda önemli rol oynarlar ve MMP'leri inaktif hale getirirler. MMP'lerin katalitik etkinliği, proenzimlerin aktivasyonu ve TIMP'lerin inhibe edilmesi ile sağlanır (89,91).

Proteolitik yıkım ve inaktivasyon, 2-makroglobülin gibi non-spesifik endojen inhibitörler ve özellikle MMP'lerin spesifik doku inhibitörleri (TIMP'ler) ile sağlanır (91,93,94). Aktif MMP'ler ve endojen inhibitörleri arasındaki dengesizlik, periodontitis, artrit ve kanser invazyonu gibi hastalıklara yol açmaktadır (82).

Günümüzde 4 adet TIMP (TIMP 1-4) bilinmektedir. TIMP-1 ve TIMP-2 en iyi tanımlanmış olanlarıdır ve tüm MMP'ler üzerine etkilidirler (91,93). TIMP'ler'in *in vitro* olarak hücre invazyonunu, *in vivo* olarak tümör gelişimi ve metastazını ve anjiogenezisi inhibe ettikleri bildirilmiştir. TIMP'lerin MMP'leri inhibe edici etkilerinden bağımsız başka biyolojik fonksiyonları da vardır. TIMP-1 ve TIMP-2'nin bazı hücre tipleri üzerinde mutajenik etkileri varken, aşırı salgıları tümör hücresi gelişimini azaltır. TIMP-2, ayrıca ana fibroblast büyüme faktörünü inhibe eder, insan endotelial hücre gelişimini uyarır (93,94). Endojen MMP inhibitörü olan 2-makroglobülin ise, serumda bulunur ve bu protein, özellikle kollajenaz ve diğer MMP'ler için mükemmel bir substrat oluşturur. MMP'lere kovalent olarak bağlanan 2-makroglobülin, onların kollajen veya diğer matriks makro moleküllerini parçalamalarına engel olur (92).

2.4.1.4.1. Matriks Metalloproteinazların Sentetik İnhibitörleri

MMP'lerin eksojen inhibitörleri olarak Zn^{+2} ve Ca^{+2} şelasyon ajanları (EDTA ve 1,10 fenantirolin) sayılabilir. Bunlar *in vitro* inhibitörlerdir ve *in vivo* olarak toksik olduklarından tedavi amaçlı kullanılamazlar. MMP enzimlerinin inhibisyonu aktif bölgedeki çinko iyonlarının şelasyonuna dayanmaktadır (91,96). Daha spesifik şelatörler sentezleyebilmek için fosfat içeren peptitler, sülfüre bağlı inhibitörler ve peptidil hidroksamik asit deriveleri gibi multipl sentetik peptitler formüle edilmiştir. Sentetik peptitlerden belki de en geniş kullanıma sahip olan ve potansiyel farmasötik ajan olarak en çok ilgiyi çeken, hidroksamik asit deriveleridir. Hidroksamik asit peptidleri kaynaklı MMP inhibitörlerinden olan Galardin (Glycomed Inc.), iyileşmeyen korneal ülserlerde topikal kullanım için geliştirilmiştir (97). Tümör tedavisinde, klinik çalışmalarda MMP inhibitörleri olarak ilk kez kullanılan batimastat ve marimastat'ın, inhibitör etkileri de şelasyona dayanmaktadır (91,96). Bunların dışında MMP'lerin inhibe edilmesi amacıyla romatoid artrit ve periodontitis tedavisinde sıklıkla kullanılan konvansiyonel antimikrobiyal tetrasiklinler ve onların non-antimikrobiyal analogları olan kimyasal modifiye tetrasiklinler (CMT'ler), kullanılmıştır (98,99). Tetrasiklinler ve yarı sentetik formlarının (doksisisiklin ve minosiklin) MMP-1, MMP-2 ve MMP-12'i inhibe ettikleri, *in vivo* ve *in vitro* olarak gösterilmiştir (100). MMP inhibitörü olarak etkili ve güvenli olmaları nedeniyle kullanılan kimyasal modifiye tetrasiklinler ise, MMP salınımı ve aktivitesinin inhibisyonunu Ca^{+2} şelasyonu ile gerçekleştirirler (101).

2.4.2. Diş Hekimliğinde Matriks Metalloproteinaz Enzimleri

Matriks metalloproteinaz enzimleri, ekstrasellüler matriks proteinlerini parçalama yeteneğine sahip olduklarından, diş hekimliğini de yakından ilgilendirmektedirler. Ağız ortamında MMP enzimleri, odontoblastlar tarafından sentezlenir ve dokuların normal biyolojik gelişim ve yıkım sürecinde yer alırlar. MMP enzimleri, mineralize dentin matriksinde bulunan, demineralize dentinin organik matriksini hidrolize etme yeteneğine sahip proteolitik enzimlerdir. Diş dokularının gelişimi sırasında, mine ve dentin organik matriksinin organizasyonu ve mineralizasyonunun düzenlenmesinde rol alırlar (102,103). Diş çürüğü ve periodontal hastalıkların etiolojisinde rol oynayan kollajen matriksin yıkımında ve rezin içerikli restorasyonlarda oluşan hibrit tabakanın bozulmasında, konak kaynaklı

bu proteazların sorumlu olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (102-107). Ayrıca MMP enzimlerinin oral bölgede tutulum gösteren sistemik hastalıklar, oral kanserler, periapikal enfeksiyonlar, peri-implantitis ve pulpa iltihabının etiolojisi üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır (91,94,108,109).

2.4.2.1. Mine ve Dentin Yapısında Matriks Metalloproteinazlar

İnsan diş yapılarında, odontoblastlar tarafından sentezlenen inaktif formda birçok MMP tanımlanmıştır. Bu endojen enzimler, diş oluşumu esnasında hücre-matriks etkileşiminin düzenlenmesi ve dokuların yeniden şekillenmesi işleminde rol alırlar. Ayrıca dentinin demineralizasyonu sonucu açığa çıkan kollajenlerin uzaklaştırılması ile matriksin bozulmasını organize ettikleri ileri sürülmüştür (109).

Çürük ve sağlam dentindeki kollajenolitik aktivite ilk defa Dayan ve ark. 1983 yılında yaptıkları çalışmada, rapor edilmiştir (107). Daha sonra bu aktiviteden MMP enzimlerinin sorumlu olduğu belirtilmiştir (7,102). Yapılan birçok çalışmada, kollajenaz (MMP-8), jelatinazlar (MMP-2 ve -9), stromelisin-1 (MMP-3) ve enamelinin (MMP-20) normal dentin matriksinde bulunduğu bildirilmiştir (104,105,110-115). Bu enzimlerin dentindeki rolleri tam olarak bilinmemekle beraber, peritübüler ve tersiyer dentin oluşumunda ve pulpanın savunma mekanizmaları sırasında büyüme faktörlerinin salınımında rol oynadıkları ileri sürülmüştür (109,116,117).

MMP ve TIMP'lerin dentin dokusu içindeki varlığının belirlenmesinde, jelatin zimografi, western blotting, monoklonal antikorlar kullanılarak yapılan enzim immün assay, polimeraz zincir reaksiyonu gibi değişik immunohistokimyasal test yöntemleri kullanılmaktadır. Yapılan birçok çalışmada, mineralize ve demineralize insan dentininde jelatinazların (MMP-2 ve MMP-9) latent ve aktif formları; jelatin zimografi, western blotting test yöntemleri ile tespit edilmiş ve kollajenolitik aktiviteden bu iki enzimin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (103,110).

Enamelinin (MMP-20), yapısal ve enzimatik özellikleri sebebiyle, mine matriksinin en büyük yapısal bileşeni olan amelogeninin bozulmasını neden olabilir ve bu özelliğiyle mine gelişiminde aktif ve önemli rol oynar (118). Enamelinin, odontoblastlar tarafından dentin sıvısı içine salgılanabilir. Süt dişlenme dönemi sırasında üretilmeye başlanan ve dentinin yapısına katılan MMP-20, çürük gelişim

sürecinde serbest kalır (119). Mine formasyonu ile ilgili diğer bir enzim ise MMP-2'dir ve bu enzim amelogenini parçalayabilir. MMP-2 ve onun aktivatörü olan membrantip-1 MMP (MT-1 MMP); ameloblastlar, odontoblastlar ve pulpa tarafından üretilir. Fakat mine oluşumunda MMP-20'nin, MMP-2'ye göre daha önemli olduğu belirtilmiştir (104).

2.4.2.2. Çürük Oluşumunda Matriks Metalloproteinazların Rolü

Çürük gelişiminden sorumlu en önemli mikroorganizmalar *S. mutans*'lardır. Ağızdaki bu mikroorganizmalar, çürük oluşumu sırasında mine ve dentinin inorganik matriksini, bakterilerin ürettiği laktik asit gibi asitler aracılığıyla çözerler. Asidik ortamın varlığı sonucunda, dentinde kollajen matriks yıkıma uğrar ve çürük lezyonu oluşur. Bakteriyel asitler, fibröz kollajenleri hidrolize edemezler. Yapılan *in vitro* çalışmalarda, çürükle ilişkili bakterilerin dentini demineralize ettiği ancak, dentin organik matriksinde yıkıma neden olmadığı gösterilmiştir (120). Konak kaynaklı enzimler olan kollajenazların, bakteriyel asitlerin meydana getirdiği demineralizasyon süresince, dentin organik matriksinde yıkıma neden olduğu bildirilmiştir. Odontoblast ya da pulpa dokusu kaynaklı konak proteazları (laktat dehidrogenaz ve glikoproteazlar gibi) hidrolitik enzimlerle beraber, dentindeki kollajen matriks yıkımından sorumludurlar (102).

Dentin oluşumu sırasında pro-MMP'ler dentin içinde inaktif bir şekilde bulunurlar ve düşük pH'ta aktive olurlar (102). Çürük dokuda, karyojenik bakterilerden salınan asitlerin, ortamın pH'sını düşürmesi ile konak kaynaklı bu enzimler, aktif hale gelirler. pH değişimleri, propeptidlerin yapısını değiştirebilir ve sistein anahtarı (sistein switch) mekanizmasını indükleyerek bu enzimlerin aktivasyonunda bir anahtar rolü görür. Çürük lezyonlarının oluşumu sırasında ortamın pH'ı 4,5 in altına düştüğü zaman, dentinden salınarak aktif enzimlere dönüşürler. pH nötr olana kadar aktiviteleri devam eder (98).

Çürük lezyonlarındaki kollajen yıkımında MMP-2, MMP-3, MMP-8 ve MMP-9'un latent ve aktif formları önemli bir role sahiptir (102,113-115). Çürük lezyonlarında, tip I kollajen fibrillerin yıkımında MMP-8'in en etkili enzim olduğu bildirilmiştir (102). Dentin protein matriksi; % 90 kollajen, % 10 kollajen olmayan proteinlerden oluşur. Çürük lezyonlarında dentinin asidojen bakteriler tarafından demineralizasyonundan sonra, kollajen proteinleri MMP-8 tarafından parçalara

ayrılır. Dentin dokusunun çürük sonucu yıkımı sırasında tükürük ve dentin içinde bulunan bu MMP'ler serbest kalır (98, 109). Dentin dokusunun her yerinde dağılmış olan MMP'ler daha çok predentin ve mine-dentin sınırında yoğun olarak lokalize olurlar (113).

MMP enzimlerinin (MMP-2, -8, -9 ve -20) normal ve çürük dentinde lokalizasyonunun incelendiği bir çalışmada; çürük lezyonunun özellikle dış katmanlarında yoğun olarak MMP-8 ve MMP-9 enzimlerine rastlandığı bildirilmiştir. Bu tabakada bulunan enzimlerin kaynağının tükürük olduğu ve bu enzimlerin dentin organik matriksinin yıkımına sebep olduğu ileri sürülmüştür. Araştırmacılar MMP-2 enziminin, çürük lezyonunun iç ve dış katmanları arasındaki dağılımının benzer olduğunu bildirmişlerdir. MMP-20'nin ise, en çok normal dentinde bulunduğu, çürük lezyonunda ise dış katmanlara doğru oranının azaldığını bildirilmiştir (115).

Çürük oluşumu sırasında, bakterilerin karbonhidratları fermantasyonu sonucu ortama salınan laktik asit, pro-MMP'ler için aktivasyon sağlar ve kollajen matriksin bozunmasına sebep olur. MMP'ler hibrit tabakaya dentin tübülleri aracılığıyla ulaşır. Diyetle alınan karbonhidratlardan bakterilerin ürettiği asitler ve diş yüzeyindeki plak tarafından salınan organik asitlerin etkisiyle aktive olan MMP'ler, hibrit tabakanın zamanla bozulmasına neden olur (98).

2.4.2.3. Rezin Restorasyonların Dentine Bağlanması ile Matriks Metalloproteinazların İlişkisi

Farklı pH'a sahip adeziv sistemler ile dentin matriksinde bulunan MMP enzimleri temas ettiklerinde, farklı kollajenolitik ve jelatinolitik aktiviteler ortaya çıkmaktadır. Dentin yüzeylerinin fosforik asitle pürüzlendirilmesi ve pürüzlendirilen yüzeylere adeziv sistemlerin uygulanmasının, dentinde bulunan MMP'leri aktive ettiği bildirilmiştir (106). Bunun sonucunda MMP'ler hidrolitik parçalanmaya neden olarak, rezin-dentin bağlanma kuvvetlerinde azalmaya yol açarlar (8,9).

Dentin içindeki endojen MMP'ler, adeziv sistemlerin asidik özellikleri sebebiyle de aktive olurlar. Yapılan çalışmalarda total-etch ve self-etch adezivlerin, demineralize dentindeki jelatinaz ve kollejenazları reaktif etme özellikleri olduğu gösterilmiştir (121,8,9). Mineralize dentin matriksindeki konak türevli MMP'lerin,

asitleme işleminin sonrasında aktive oldukları ve kollajen matriks bozunmasından bu durumun sorumlu olduğu, yapılan bazı araştırmalarda rapor edilmiştir (8,10,106,122,123).

Total-etch ve self-etch sistemlerde rezin-dentin ara yüzeyinde MMP enzimlerinin aktivasyonu farklı nedenlerle ortaya çıkar. 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 (9,124). Total-etch sistemlerde ise, adezivin kollajen boşluklarını yeteri kadar dolduramaması, buralarda serbest kalmış enzimlerin aktive olmasına sebep olur (110,125).

Dentin matriksinin %10 kollajen yapıda olmayan proteinleri, spesifik MMP'leri bağlayabilen üç protein içerirler. Bu proteinler, çürük veya dentin dokusunun asitlenmesi sırasında oluşan asit ataklar sonucu MMP'leri aktive eder (98). Bunlar SIBLING (Small Integrin Binding Ligand N-linked Glycoproteins) gen ailesindedir ve kemik sialoprotein (Bone Sialoprotein-BSP), osteoprotein (OPN) ve dentin matriks proteini 1 (DMP1) den oluşur. Bu aktivasyon sırasında BSP proteini MMP-2'yi, OPN proteini MMP-3'ü, DMP1 proteini MMP-9'u aktive eder (126). MMP'ler organik ve inorganik asitlerin etkisiyle salınır ve SIBLING proteinleri, organik asitler ve adezivlerin içerdiği asitlerin etkisiyle aktive olurlar. Hibrit tabakadaki kollajen, kollajen fibrillerin rezinle infiltrasyonu tamamlanmazsa, aktif MMP'ler tarafından parçalanır. Bunu sonucunda klinik olarak restorasyonlarda adeziv ve dentin arasında nanosızıntı oluşur. Bu durumda restorasyonların tutuculuğu ve adezivin dayanıklılığında azalma gözlenir (98).

MMP enzimleri, restorasyonların tamamlanmasından sonra da aktivasyonlarını sürdürebilirler. Yani rezin infiltrasyonundan sonra bile aktif kalabilirler. Restorasyonların uzun ömürlü ve başarılı olabilmeleri; adezivlerin, kollajenler arası boşluklara iyi bir şekilde penetre olması ve homojen ve güçlü bir hibrit tabakası oluşumuna bağlıdır. Adezivin, kollajenler arası boşluklara yeteri kadar penetre olamaması sonucu, bu boşluklarda kollajenlere bağlı ya da serbest halde bulunan enzimler aktif hale gelirler (125).

2.4.2.4. Periodontal Dokular ve Matriks Metalloproteinazların İlişkisi

Çeşitli araştırmacılar tarafından insan dişeti dokusunda kollajenaz aktivitesi tanımlanmıştır (91). Günümüzde yapılan birçok çalışmada kollajenazların, diğer MMP'ler ile birlikte periodontal doku yıkımında önemli rol oynadıkları belirlenmiştir. Aktive olmuş MMP'ler ve konak kaynaklı endojen inhibitörleri arasındaki dengenin bozulması sonucunda periodontal hastalık başlamaktadır (91,99).

Enfekte insan dişeti dokusu kültürlerinde, sağlıklı diş eti dokusuna göre kollajenaz aktivitesinde artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca periodontal hastalıklarda, dişeti oluğu sıvısında (DOS) da kollajenaz aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (91,102). Periodontal hastalıklarla ilgili yapılan çalışmalar sadece hastalıkta rol oynayan MMP'lerin belirlenmesine yönelik değildir. Aynı zamanda MMP'lerin, sentetik inhibitörlerle inhibe edilip hastalığın tedavi edilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır (91,99,100).

MMP'ler tükürükte, DOS'da ve dental plakta da bulunmaktadırlar (127). Artmış çürük insidansı görülen bazı hastalıklarda, tükürük MMP seviyelerinde de artış olduğu görülmüştür (128). Çürük lezyonlarında bulunan MMP'lerin tükürük ve DOS'dan kaynaklandığı da bu nedenle düşünülmektedir (91).

Enfekte pulpa dokusu ve periapikal lezyonlarda da MMP'lerin varlığı gösterilmiştir (91,108). Periapikal eksüdata MMP-8 seviyesinin, başarılı bir kök kanalı tedavisini takiben azaldığı, inatçı enflamasyon bulunan olgularda ise arttığı rapor edilmiştir (108).

2.4.2.5. Diş Hekimliğinde Matriks Metalloproteinaz İnhibitörü Ajanlar ve Dentine Bağlanmaya Etkileri

Dentindeki kollajen matriks bütünlüğünün korunması, adeziv rezinlerin bağlanma dayanıklılığını artırmanın en önemli yoludur (116). Dentindeki MMP enzimlerinin aktivitesi, endojen ve eksojen inhibitörler tarafından azaltılabilir. Bu inhibitörlerin, Ca şelasyonu yaparak veya enzimin aktif tarafındaki Zn iyonu ile yer değiştirerek MMP enzimlerinin aktivitesini baskıladığı bildirilmiştir (10,123). Dolayısıyla kollajen matriksin çeşitli sebepler ile yıkımına neden olan enzimlerin,

inaktif hale getirilmesi ya da fonksiyonlarının inhibe edilmesi, restorasyonların uzun dönemde dayanıklılığını artırır (122,129,130).

Yapılan hayvan çalışmalarında, MMP enzimlerinin inhibe edilmesinin dentin çürüğünün ilerlemesini önlediği bildirilmiştir (102,119). Kimyasal olarak modifiye edilen tetrasiklinler (CMT) spesifik olmayan MMP inhibitörleridir ve deneysel çürük ve periodontal hastalıklarla ilgili çalışmalarda MMP inhibitörü olarak kullanılmışlardır. CMT-3 ve bifosfonat olan zoledronatın sıçan dişlerinde çürüğü % 60-87 oranında azalttığı bildirilmiştir (119,131). Ayrıca CMT-3 ve sistemik olarak verilen doksisiklinin, tükürükteki jelatinaz aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (119,132). Tetrasiklinler, oksidasyon nedeniyle dişi mor renkte boyayabileceğinden, hibrit tabakanın bozulmasının önlenmesi amacıyla kullanımları önerilmemiştir (106).

Dentin dokusunda bulunan MMP'ler, rezin restorasyonlarda kollajenin hidrolitik degradasyonuna neden olarak, rezin-dentin bağlantısının zamanla bozulmasına yol açarlar. Bu durum, rezin-dentin ara yüzünde stabilite kaybına neden olur. Dentinin kollajenolitik ve jelatinolitik aktiviteleri, proteaz inhibitörleri ile baskılanabilir (11,106,). Böylece dentin yüzeyine, adeziv uygulanmadan önce MMP inhibitörü olan ajanların uygulanması, hibrit tabakanın bütünlüğünün korunmasına, bağlanma dayanımının artmasına ve rezin-dentin bağlantısının uzun süre bozulmadan kalmasına katkıda bulunabilir (10,11). Bu amaçla kullanılan klorheksidin, EDTA, galardin, bifosfonatlar (batimastat, zoledronat), benzalkonyum klorid ve polivinilfosforik asitin, dentinde MMP aktivitesini baskılayarak bağlanma dayanımında olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir (122,133,134,135).

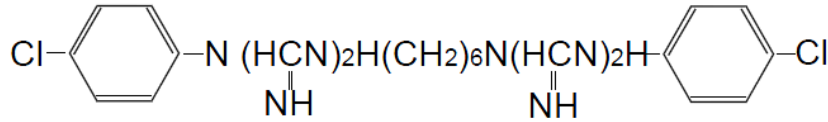
Son yıllarda yapılan çalışmalarda yeşil çay, avokado, soya fasulyesi gibi doğal maddelerin MMP enzimlerinin aktivitesini önlediği rapor edilmiştir (12). Ayrıca tıp alanında yapılan birçok çalışmada MMP inhibitörü olarak kullanılan kafeik asit fenitil esterinin (CAPE), dentindeki MMP enzimlerinin aktivitesini önlediği bildirilmiştir (16).

2.4.2.5.1. Klorheksidin (CHX)

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda en yaygın kullanılan MMP enzim inhibitörü klorheksidindir. Klorheksidin (CHX), dentinde bulunan kollajenaz ve jelatinazları inhibe ettiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (106,136,137). Bu

kapsamda yapılan çalışmalarda klorheksidinin, MMP-2, MMP-8 ve MMP-9'un aktivitelerini başarıyla baskılayabildiği belirlenmiştir (133,138).

Klorheksidinin kimyasal adı 5-(4-chlorophenyl) biguanide olup yapısal formülü $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$ şeklindedir (Şekil 6). Sentetik bir kemoterapötik ajan olan klorheksidin, geniş spektrumlu antimikrobiyal bir ajandır. Klorheksidin, gram (+), daha az oranda gram (-), fakültatif anaerob ve aerob mikroorganizmalar üzerine bakteriyostatik ve bakteriosidal etki gösterir. Mantarlara karşı da etkili bir antiseptiktir. *Enterococcus faecalis* üzerinde de etkili olduğu gösterilmiştir. Mikobakteriyumlar, sporlu bakteriler ve bazı virüslere karşı ise etkisizdir. Laktobasillerden özellikle *L. casei*'nin klorheksidine karşı oldukça dirençli olduğu bildirilmektedir. Etkinliği, pH 7-8 arasında en fazla iken, pH 5,2'nin altında oldukça azalır. Klorheksidin, pozitif yükü nedeniyle katyonik özellik taşır ve bakteri hücre duvarı, ekstrasellüler polisakkaritler, hidroksiapatit, pellikül, tükürük münisleri ve oral mukoza gibi negatif yüklü yüzeylere afinite gösterir (139,140).



Şekil 6: Klorheksidinin moleküler yapısı ($C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$).

Diş hekimliğinde sıklıkla klorheksidin diglukonat formu, dental plağın kimyasal kontrolünde ve çürüklerin önlenmesinde kullanılmaktadır. Klorheksidinin, topikal ağız gargarası formunun dental plak ve gingivitise karşı etkinliği yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (139-141).

Klorheksidin, güçlü antibakteriyel etkinliği nedeniyle, çürük uzaklaştırıldıktan sonra kavite dezenfeksiyonu amacıyla da kullanılmaktadır. Çürük temizlendikten sonra, kavite duvarlarında, smear tabakasında, mine-dentin birleşiminde ya da dentin tübüllerinde kalmış olan bakterilerin uzaklaştırılmasında kullanılabilir (142-144). Adeziv sistemden önce, kavite dezenfektanı olarak klorheksidin kullanımının,

potansiyel rezidüel mikroorganizmaların azaltılmasında rol oynadığı bildirilmiştir (143).

Adeziv uygulamasından önce, asitle pürüzlendirilmiş dentine klorheksidinin dezenfeksiyon amacı ile kullanımı, antimikrobiyal özelliğinin yanı sıra, kollajen fibrillerin bozulmasını da önlemektedir. Hibrit tabakanın uzun süre bütünlüğünün korunmasında MMP enzimlerinin aktivitelerinin önlenmesi önemlidir (122). Yapılan birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışmada, klorheksidinin, etkili bir MMP inhibitörü olduğu, rezinle dentin arasında gözlenen hibrit tabakada kollajen bozulmasını geciktirerek veya önleyerek, zamanla ortaya çıkan bağlanma kaybını yavaşlattığı bildirilmiştir (122,129,133,145-149).

MMP enzimlerinin aktivasyonunu azaltmak amacıyla, farklı konsantrasyonlarda klorheksidin preparatları, farklı uygulama süreleri ile kullanılmaktadır. Yapılan *in vivo* çalışmalarda % 0,2-2 konsantrasyonlarda klorheksidinin, asitlenmiş dentin yüzeylerine adeziv/primer öncesi 15-60 sn süreyle uygulanmasının, hibrit tabakanın bütünlüğünün korunmasında ve restorasyonun bağlanma dayanımının artmasında etkili olduğu bildirilmiştir (122, 129, 144,146).

Dentindeki MMP aktivitesini önlemek amacıyla, adezivlerin yapısına klorheksidinin eklenmesi ile yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda; iki aşamalı self-etch adezivin primerine klorheksidin eklenmesinin, dentinde bulunan MMP enzimlerinin inhibe edilmesinde etkili olduğu ve restorasyonların bağlanma dayanımının zayıflamasını önlediği bildirilmiştir (150,151). Total-etch adezivlere klorheksidin eklenerek yapılan *in vitro* çalışmalarda ise; zaman içerisinde bağlanma dayanımındaki kaybın ve hibrit tabakada meydana gelen nanosızıntının önlendiği, buna karşın adezivin mekanik özelliklerinin olumsuz etkilenmediği rapor edilmiştir (152,153).

2.4.2.5.2. Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)

Etilen diamin tetra asetik asit, dentinin mineral içeriğinin çözünmesi (dekalsifikasyon) amacıyla dentinin pürüzlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bu işlevini dentin proteinlerini etkilemeden ve kollajen fibril yapısını bozmadan gerçekleştirmektedir. EDTA uygulanan diş yüzeylerinde interfibriler yapı minerallerle desteklendiği için, dehidratasyondan daha az etkilenir. Böylece EDTA

ile oluşturulan demineralize yüzeylere rezin infiltrasyonu da kolaylaşmış olur (154). Buna karşın yüzey fosforik asit ile demineralize edilirse, interfibriler mineraller de çözünür. Dolayısıyla buradaki fibriller dehidratasyondan kolayca etkilenir (155).

Yapılan bir araştırmada % 37 fosforik asit ve EDTA uygulanan dentin yüzeylerine adeziv ve rezin uygulanması sonucunda; EDTA uygulanan yüzeylerdeki bağlanma dayanım değerlerinin, başlangıç bağlanma dayanım değerleri ile aynı olduğu, fosforik asit uygulanan örneklerin bağlanma dayanım değerlerinin ise zamanla anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır (155). Yapılan başka bir çalışmada ise; EDTA uygulamasının, etanol wet-bonding tekniğiyle birlikte uygulanması durumunda, rezin infiltrasyonunun kolaylaştığı ve rezin-dentin ara yüzünün kimyasal yıkım ile yaşlanmaya karşı daha dirençli hale geldiği bildirilmiştir (156).

2.4.2.5.3. Galardin

Sentetik bir MMP inhibitörü olan galardin, GM6001 ya da Ilomastat olarak da adlandırılır ve özellikle MMP-2, -3, -8 ve -9 enzimleri üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu bildirilmiştir (97). Yapılan bir çalışmada; fosforik asit ile demineralize edilmiş dentin yüzeylerine MMP inhibitörü olarak galardin uygulanmış ve bir yıl sonunda hibrit tabakanın stabilitesinin bozulmadan korunabildiği ve rezin-dentin ara yüzünde nanosızıntının azaldığını bildirilmiştir (134). Aynı araştırmada yapılan zimografik analiz sonuçlarına göre galardinin, MMP-2 ve MMP-9 enzimlerinin fonksiyonunu tümüyle önlediği rapor edilmiştir (134).

2.4.2.5.4. Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE)

Son yıllarda bazı doğal maddelerin ve özellikle propolisin tıbbi özelliklerinden yararlanılarak yapılan çalışmalar gündemdedir. Kafeik asit fenil ester (CAPE) ise propolisin etken maddelerinden biridir (157). Propolis bal arıları tarafından üretilen doğal bir maddedir ve çeşitli bitkilerin yaprak, gövde ve tomurcuklarından işçi arılar tarafından toplanıp kovanda biriktirilir.

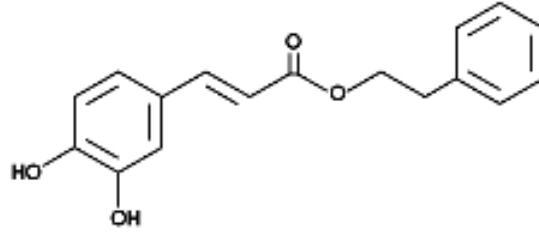
Propolis, antibakteriyel ve antiinflamatuar etkileri başta olmak üzere, geniş spektrumlu biyolojik etkileri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Propolis, uzun yıllardan beri hekimler tarafından tıpta kanser, kalp-damar hastalıkları, diyabet, ülser, solunum yolu ve deri hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Propolis içinde yaklaşık 300'den fazla bileşen tespit edilmiştir.

Bunlardan fenolik bileşikler (flavonoidler: flavonlar, flavononlar ve flavonoller), fenolik asitler ve esterleri ile kafeik asit esterleri (kafeik asit benzil ester, salisilik asit benzil ester, sinamik asit benzil ester ve kafeik asit fenetil ester) en başta gelmektedir. Yapılan araştırmalarda propolisin bu aktif bileşenlerinin antihepatotoksik özellikleri olduğu bildirilmiştir (157).

Propolis sahip olduğu biyolojik etkileri nedeniyle diş hekimliğinde de araştırma konusu olmuştur. Yapılan çalışmalarda propolisin, karyojenik bakterilerin etkinliğinin azaltılmasında, dentin hassasiyetinin giderilmesinde, kuafaj tedavilerinde, endodontide kök kanal dezenfeksiyon ajanı olarak ve periodontitis tedavisinde kullanımı önerilmiştir. Bunlara ek olarak avülse dişler için saklama solüsyonu, diş macunları, ağız gargaraları, diş ipleri ve sakızların yapısına katılmasıyla çürük ve periodontal hastalıklarda profilaktik etkili bir ajan olduğu rapor edilmiştir (157-161).

Grunberger ve ark. (162) propolisin yapısında bulunan ve biyolojik aktif bir bileşen olan kafeik asit fenetil esteri (CAPE) 1988 yılında ekstrakte etmişlerdir. Fenolik bir bileşik olan CAPE, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immun uyarıcı, antimetastatik ve karsinostatik özelliklere sahiptir (13).

Başlangıçta kimyasal ekstraksiyon yöntemleriyle ayrıştırılarak bilimsel araştırmalarda kullanılan CAPE, 1990'lı yılların başında Sigma-Aldrich firması tarafından ticari preparat olarak piyasaya sunulmuştur. Bu preparatın -20 °C'de saklanması gerektiği, aksi takdirde biyolojik aktivitesini tümüyle kaybettiği belirlenmiştir. Etil asetat, dimetilsülfoksit (DMSO) ve etanolde tamamen çözünmektedir. Molekül ağırlığı 284,31 gr/mol olan bu ürünün kimyasal formülü; $C_{17}H_{16}O_4$ şeklindedir (Şekil 7) (163).



Şekil 7: Kafeik asit fenitil esterinin moleküler yapısı (C₁₇H₁₆O₄).

Tıp ve temel bilimlerde CAPE ile ilgili *in vivo* ve *in vitro* birçok araştırma yapılmıştır. Yapılan ilk araştırmalar, CAPE'in tümör hücrelerinde sitotoksikite, transformasyon ve ekspresyon etkisi üzerine olmuştur. CAPE'in transforme olmuş hücrelerde sitostatik özellikleri olduğu, fakat normal hücrelerde böyle bir etkisinin bulunmadığını rapor edilmiştir (164). Ayrıca yapılan çeşitli hücre kültürü çalışmalarında CAPE' nin oksidatif stresi azaltarak kanser önleyici bir madde olduğu ortaya konmuştur (165,166). Biyokimyasal ve fizyolojik olarak dikkati çeken diğer bir etkisi ise, nükleer transkripsiyon faktörü NF-kappaB'nin spesifik bir inhibitörü olmasıdır (167). CAPE, insan koroner arter endotel hücrelerinde NF-kappaB üzerine etki ederek iskemiye bağlı hasarı önler (168). Daha sonra yapılan hücre kültürü ve deneysel hayvan çalışmalarında, başta CAPE'nin antioksidan etkisi olmak üzere, diğer etkileri üzerine de araştırmalar yapılmıştır. CAPE, organizmada bir yandan normal fizyolojik şartlarda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest radikallerin üretimini bloke ederek, diğer yandan antioksidan enzimleri aktive etmek suretiyle antioksidan bir etki oluşturur (13,165,167). Ayrıca CAPE türevi bileşiklerin oral kansere karşı önleyici etkisi olan potansiyel ajanlar oldukları gösterilmiştir (157,169,170).

Jin ve ark. (171), jelatin zimografi yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada, CAPE'in MMP-9'un enzimatik aktivitesini inhibe ettiğini saptamışlardır. Ayrıca yapılan diğer bazı çalışmalarda CAPE'in kanser ve metastazda aktiviteyi artıran MMP-2 ve MMP-9 enzimlerini inhibe ederek, antimetastatik ve karsinostatik etki oluşturduğu bildirilmiştir (14,15,172).

Diş hekimliğinde ise CAPE ile ilgili yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Dündar ve ark.nın (16) yaptıkları bir *in vitro* çalışmada, CAPE ilk kez dentindeki

MMP aktivitesinin önlenmesi amacıyla kullanılmış ve hibrit tabakada meydana gelen degradasyon sonucu oluşan nanosızıntıda azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. CAPE ile yapılan hayvan çalışmada, palatal mukozal defektlerin, çekim yerinin ve kemik defektlerinin iyileşmesinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (173,173). Diğer bir hayvan çalışmada ise, CAPE pulpa örtülmesinde kullanılmış ve pulpada fibröz doku proliferasyonu ve dentinde rezorbsiyon gözlemlenmiştir. Bu çalışmada CAPE pulpa örtülmesinde başarılı bulunmamıştır (175).

Bu tez çalışmada MMP inhibitörü olduğu bildirilen CAPE'in total-etch ve self-etch adezivler öncesinde uygulanmasının rezin restorasyonların bağlanma dayanımı üzerine etkisi MTBS test yöntemi ile, rezin-dentin ara yüzü ise SEM ile incelenerek restorasyonların bağlanmasına olan etkisinin araştırılması amaçlandı.

BÖLÜM III

GEREÇ VE YÖNTEM

İki farklı yapıda adeziv öncesinde kaviteye kafeik asit fenitil ester (CAPE) uygulanmasının nanohibrit rezin restorasyonların başarısı üzerine etkisini incelemek üzere yapılan bu çalışmada;

a) Ortodontik amaçla çekilecek olan premolar dişlerde hazırlanan okluzal kavitelere, total-etch ve self-etch adeziv sistemler öncesinde CAPE uygulaması ile yapılan rezin restorasyonların dentine bağlanma dayanımı, mikrogerilim bağlanma dayanım testi ile incelendi. Bu aşamada dişler ağızda üç ay fonksiyon gördükten sonra çekilerek incelemeler yapıldı.

b) Mikrogerilim bağlanma dayanım testi uygulanan örneklerin kırılma yüzeyleri stereomikroskop ve taramalı elektron mikroskobu ile ayrı ayrı incelendi.

c) CAPE ön uygulamasının, dentin ile adeziv arasındaki bağlanma ara yüzeyi ve hibrit tabaka üzerine etkisi Fe-SEM ve SEM ile değerlendirildi.

3.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta ve Dişlerin Seçimi

Bu tez çalışması, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 04.10.2012 tarihli karar ve 12-8/6 kayıt numaralı onayı alınarak yürütüldü.

Çalışmaya Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı'na başvuran ve ortodontik amaçla premolar dişlerine çekim endikasyonu konulmuş, 12-18 yaş aralığındaki 10 gönüllü birey dahil edildi. Seçilen dişlerin fonksiyonda olmasına dikkat edildi. Sistemik hastalığı, kötü ağız hijyeni, periodontitisi olan, dental materyallere allerjisi bulunan bireyler çalışmaya dahil edilmedi. Çalışma hakkında hasta ve/veya ebeveynleri bilgilendirilerek,

'Bilgilendirilmiş Gönüllü Onay Formu' nu doldurmaları istendi ve imzalı onayları alındı.

Hastaların ağız içi muayenesi yapılarak; tam olarak sürmüş ve fonksiyonda olan, çürüksüz, herhangi bir anomalisi bulunmayan, alt veya üst çenede simetrik olarak çekim endikasyonu konulmuş birinci veya ikinci premolar dişi çalışma için belirlendi. Çalışmaya katılan hastaların 20 adet premolar dişinin okluzal yüzeyinde, her dişte iki adet olmak üzere 40 adet kavite hazırlandı. Kaviteler, total-etch ve self-etch adezivler ile birlikte CAPE ön uygulaması yapılarak veya yapılmaksızın kompozit rezinle restore edildi ve bu dişler mikrogerilim bağlanma dayanım testi ve SEM incelemeleri için kullanıldı.

3.2. Çalışmada Kullanılan Materyaller

Bu çalışmada tüm kaviteler restorasyon materyali olarak, nanohibrit yapıda rezin kompozit (Tetric N-Ceram; Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein) uygulandı. Adeziv olarak iki farklı adeziv; üç aşamalı total-etch (Syntac; Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein) ve iki aşamalı self-etch adeziv (AdheSE; Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein) kullanıldı.

Kafeik asit fenitil ester, adeziv uygulaması öncesinde MMP inhibitörü olarak kavitelere uygulandı. CAPE solüsyonu, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda, toz halindeki 1 mg CAPE (Sigma-Aldrich, Germany) 50 µl etanolde sulandırılıp elde edilen çözeltinin, 950 µl besiyeri ile 1 ml'ye tamamlanmasıyla stok solüsyonu (% 5) şeklinde hazırlandı.

Çalışmada kullanılan materyaller Resim 1'de, bunların kimyasal yapıları ve özellikleri Tablo 3'de verilmiştir.



a)



b)



c)

Resim 1: Çalışmada kullanılan materyaller; a) Total-etch adeziv sistem (Syntac), b) Self-etch adeziv sistem (AdheSE), c) Kompozit rezin (Tetric N-Ceram).

Tablo 3: Çalışmada kullanılan materyallerin kimyasal içerikleri ve üretici firmaları.

Materyal	Kimyasal içerik	Üretici firma
Syntac (<i>Total-etch adeziv</i>)	<p><u>Total etch:</u> 37 % H₃PO₄</p> <p><u>Primer:</u> Trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA), polietilen glikol dimetakrilat (PEGDMA), maleik asit, dimetilketon, su.</p> <p><u>Adeziv:</u> PEGDMA, gluteraldehit, su</p> <p><u>Heliobond:</u> Bis-GMA, TEGDMA, stabilize edici ve katalizörler.</p>	Ivoclar Vivadent, Schaan Liechtenstein
AdHeSE (<i>Self-etch adeziv</i>)	<p><u>Primer:</u> Akrilik eter fosfonik asit bisakrilamit, reaksiyon başlatıcı ve stabilize ediciler, su.</p> <p><u>Bond:</u> Bis-GMA, GDMA, HEMA, dimetakrilat, silikon dioksit, reaksiyon başlatıcı ve stabilize ediciler.</p>	Ivoclar Vivadent, Schaan Liechtenstein
Tetric N-Ceram (<i>Nanohibrit kompozit</i>)	<p>Dimetakrilatlar (% 19-20)</p> <p>Doldurucular: Baryum cam, iterbiyum triflorid, karışık oksit ve kopolimerler (%80-81)</p> <p>Katkı maddeleri, katalizörler, stabilizatörler ve pigmentler (< % 1).</p>	Ivoclar Vivadent, Schaan Liechtenstein
CAPE (<i>MMP inhibitörü</i>)	Kafeik asit fenitil ester, etanol	Sigma-Aldrich Co. LLC, Germany

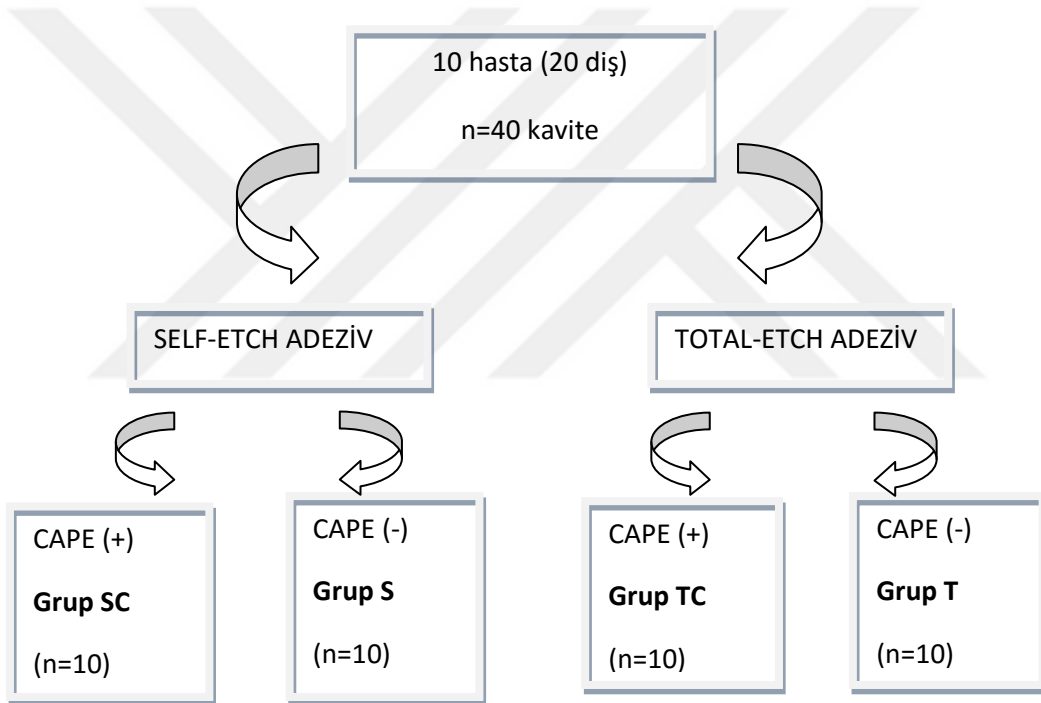
Her hastanın alt veya üst çenesinde simetrik olarak bulunan birinci veya ikinci premolar dişlerinde (14 ve 24, 15 ve 25, 34 ve 44, 35 ve 45 No'lu dişler gibi) hazırlanan dört kaviteye aşağıda belirtilen dört ayrı uygulama yapıldı (Şekil 8).

Grup TC : CAPE ± Total-etch adeziv (n=10)

Grup T : Total-etch adeziv (kontrol) (n=10)

Grup SC : CAPE ± Self-etch adeziv (n=10)

Grup S : Self-etch adeziv (kontrol) (n=10)



Şekil 8: Çalışma gruplarının şematik olarak gösterilmesi.

Her grupta 10 kavite olacak şekilde araştırmada yer alan çalışma gruplarına uygulanan işlem basamakları Tablo 4’de gösterilmiştir.

Tablo 4: Çalışma grupları ve her grupta uygulanan işlem basamakları.

Gruplar	Uygulama basamakları
Grup TC	% 37 fosforik asit uygulaması (20 sn), yıkama (20 sn) ve hafif nemli olacak şekilde kurutma % 5 CAPE solüsyonu uygulaması (60 sn) Syntac Primer uygulaması (15 sn), hafifçe kurutma Syntac Adhesive uygulaması (10 sn), hafifçe kurutma Heliobond uygulaması (10 sn polimerizasyon) Rezin kompozit uygulaması (40 sn polimerizasyon)
Grup T	% 37 fosforik asit uygulaması (20 sn), yıkama (20 sn) ve hafif nemli olacak şekilde kurutma Syntac Primer uygulaması (15 sn), hafifçe kurutma Syntac Adhesive uygulaması (10 sn), hafifçe kurutma Heliobond uygulaması (10 sn polimerizasyon) Rezin kompozit uygulaması (40 sn polimerizasyon)
Grup SC	% 5 CAPE solüsyonu uygulaması (60 sn) AdheSE Primer uygulaması (15 sn), hafifçe kurutma AdheSE Bonding uygulaması (10 sn polimerizasyon) Rezin kompozit uygulaması (40 sn polimerizasyon)
Grup S	AdheSE Primer uygulaması (15 sn), hafifçe kurutma AdheSE Bonding uygulaması (10 sn polimerizasyon) Rezin kompozit uygulaması (40 sn polimerizasyon)

Mikrogerilim bağlanma dayanım testinde (MTBS) kullanılmak üzere, dört ayrı uygulama grubunda yer alacak diş ve kavitelemlerin seçimi için, kavitelemlerin çenelerin farklı bölgelerinden olması amacıyla Tablo 5’deki randomizasyon tablosu uygulandı.

Tablo 5: Mikrogerilim bağlanma dayanım testi için kullanılacak ve dört ayrı uygulama grubunda yer alacak premolar dişler ve okluzal yüzeylerine açılan kavitelemlerin randomizasyon tablosu.

Diş	Sağ Premolar	Sağ Premolar	Sol Premolar	Sol Premolar
Kavite	Vestibül	Palatinal/lingual	Vestibül	Palatinal/lingual
1	Grup T	Grup TC	Grup S	Grup SC
2	Grup TC	Grup T	Grup SC	Grup S
3	Grup T	Grup S	Grup TC	Grup SC
4	Grup S	Grup T	Grup SC	Grup TC
5	Grup T	Grup SC	Grup TC	Grup S
6	Grup SC	Grup T	Grup S	Grup TC
7	Grup TC	Grup S	Grup T	Grup SC
8	Grup S	Grup TC	Grup SC	Grup T
9	Grup TC	Grup SC	Grup T	Grup S
10	Grup SC	Grup TC	Grup S	Grup T

Çalışmada yer alan gruplarda uygulanan işlem basamakları;

Total-etch adeziv ve CAPE uygulama grubu (Grup TC):

Bu gruptaki dişlerde, hazırlanan kavite yüzeyi 20 sn % 37 fosforik asit jel ile pürüzlendirilerek, 20 sn boyunca hava-su spreyi ile yıkandı ve dentin dokusu hafif nemli kalacak şekilde kurutuldu. Pürüzlendirilmiş kavite yüzeyine % 5'lik CAPE solüsyonu pamuk peletle uygulandı ve kavitede 60 sn bekletildi. Solüsyonun fazlası, hava ile hafifçe kurutularak kaviteden uzaklaştırıldı. Daha sonra üç aşamalı total-etch adeziv sistem (Syntac), kaviteye üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulandı. Buna göre ilk olarak asitle pürüzlendirilmiş dentin yüzeyine tek kullanımlık fırça ile primer (Syntac Primer) uygulandı, 15 sn bekletildi ve basınçlı hava ile hafifçe kurutuldu. Daha sonra dentin yüzeyine adeziv (Syntac Adhesive) uygulandı, 10 sn bekletildi ve basınçlı hava ile hafifçe kurutuldu. Son olarak dentin yüzeyine Heliobond uygulandı, basınçlı hava ile bondun kaviteye yayılması sağlandı ve 10 sn süre ile LED ışık kaynağı ile polimerize edildi. Adeziv uygulamasının ardından nanohibrit kompozit materyali (Tetric N-Ceram) kalınlığı 2 mm'yi geçmeyecek tabakalar halinde kaviteye yerleştirilip, her tabaka okluzal yüzden 40 sn süre ile LED ışık kaynağı ile polimerize edildi. LED ışık kaynağı dişe en yakın konumda uygulandı.

Total-etch adeziv grubu (Kontrol grubu; Grup T):

Bu gruptaki dişlerde, hazırlanan kavite yüzeyi 20 sn % 37'lik fosforik asit jel ile pürüzlendirilip, yıkandıktan sonra dentin yüzeyi hafif nemli olacak şekilde kurutuldu. Daha sonra total-etch adeziv sistem ve kompozit rezin materyali üretici firmanın önerileri doğrultusunda Grup TC'de anlatıldığı şekilde kaviteye uygulandı.

Self-etch adeziv ve CAPE uygulama grubu (Grup SC):

Bu gruptaki dişlerde, hazırlanan kaviteye primer uygulaması öncesinde % 5'lik CAPE solüsyonu pamuk peletle uygulandı ve kavitede 60 sn bekletildi. Solüsyonun fazlası hava spreyi ile kaviteden uzaklaştırıldı. Daha sonra iki aşamalı self-etch adeziv sistem (AdheSE) üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulandı. Buna göre ilk olarak dentin yüzeylerine tek kullanımlık fırça ile 15 sn süreyle primer (AdheSE Primer) uygulandı, 15 sn bekletildi ve hava spreyi ile primerin fazlası uzaklaştırıldı. Daha sonra kaviteye bond (AdheSE Bonding) uygulandı, hava ile

bondun kaviteye yayılması sağlandı ve 10 sn süre ile LED ışık kaynağı ile polimerize edildi. CAPE solüsyonu ve ardından adeziv uygulanmış kavitelere, kompozit rezin materyali Grup TC'de belirtildiği gibi uygulanarak polimerize edildi.

Self-etch adeziv grubu (Kontrol grubu; Grup S):

Bu gruptaki dişlerde, hazırlanan kaviteye self-etch adeziv sistem (AdheSE), CAPE uygulaması yapılmadan Grup SC'de anlatıldığı gibi uygulandı. Adeziv uygulanan kaviteye, kompozit rezin materyali yukarıda belirtildiği gibi yerleştirilip polimerize edildi.

Yapılan tüm restorasyonlarda standart renkte (A2) nanohibrit kompozit materyali (Tetric N-Ceram) ve polimerizasyon için 480 nm dalga boyunda LED ışık kaynağı (Elipar LED Freelight II, 3M ESPE) kullanıldı. Kompozit restorasyonlar tamamlandıktan sonra, ince grenli elmas bitirme frezleri ve aluminyum oksit kaplı disklerle (Sof-lex, 3M ESPE) düzeltme ve polisaj işlemleri yapıldı.

Restorasyonları tamamlanan ve ağız içinde fonksiyon gören tüm gruplardaki premolar dişler, uygulamalar yapıldıktan 3 ay sonra lokal anestezi altında travmatize edilmeden çekildi. Çekilen dişlerin üzerindeki yumuşak doku artıkları ve eklentiler akan su altında temizlendi. Dişler laboratuvar testleri için kesitler alınana kadar distile suda saklandı (Resim 3). Çekilen dişler en fazla 3 ay içerisinde test için kullanıldı.



Resim 3: Çekilen dişlerin distile suda saklanması.

3.4. Mikrogerilim Bağlanma Dayanım Testi için Örneklerin Hazırlanması

Mikrogerilim bağlanma dayanım testi için örnek hazırlama işlemleri, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarında, test uygulamaları ise İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Araştırma Laboratuvarında yapıldı.

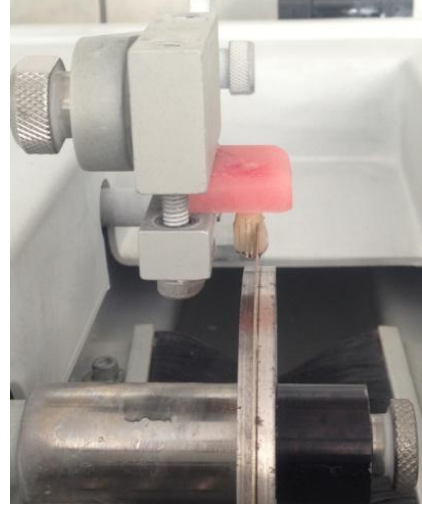
Mikrogerilim bağlanma dayanım testi için, çekilen premolar dişler kesit alınması amacıyla akril bloklara gömüldü (Resim 4). Akril bloklar kesme cihazına (Isomet 1000; Buehler, Precision Saw, Lake Bluff, IL, USA) yerleştirildi (Resim 5 a). Öncelikle bağlanma yüzeyine dik dilimler elde etmek üzere, düşük hızda çalışan elmas bir separe ile (Isomet; Buehler, Lake Bluff, IL, USA) diş örneklerinde vertikal kesimler yapıldı (Resim 5 b). Daha sonra akril bloklar 90° döndürülerek yeniden kesim yapıldı ve 1.00 ± 0.03 mm²'lik kare kesitli dentin-kompozit çubukları elde edildi (Resim 6 a,b,c,d).



Resim 4: Akril bloklara gömülen premolar diş örnekleri.



a)

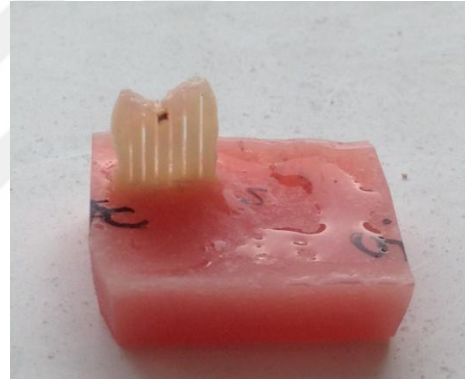


b)

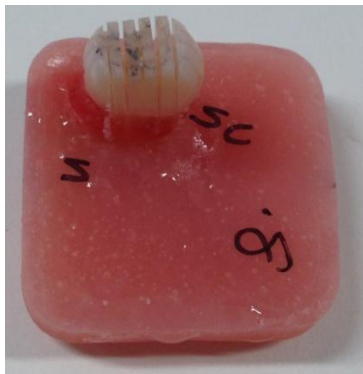
Resim 5: a) İsoet kesme cihazı, b) İsoet kesme cihazı ile dişlerden kesit alınması.



a)



b)



c)



d)

Resim 6: a) Akрил bloğa gömülü dişlerde vertikal yönde kesim yapılması, b) Akрил blokların 90° döndürülerek yeniden kesim yapılması, c) Kare kesitli dentin-kompozit çubuklarının elde edilmesi, d) Dentin-kompozit çubuk örneği.

3.5. Mikrogerilim Bağlanma Dayanım Testinin Uygulanması

Test ubukları, mikrogerilim test cihazına (EZ-Test-500 N *Shimadzu*, Kyoto, Japan) siyanoakrilat yapıda bir adeziv (Zapıt, Dental Ventures of America Inc, USA) ile iki uçlarından yapıştırıldı (Resim 7,8). Y¼kleme hızı (crosshead speed) 1 mm/dk ve y¼kleme kuvveti 100 Newton olarak belirlenen test cihazına, ¼rneklerde kırılma meydana gelinceye kadar y¼k uygulandı Her ¼rnekte kırılmanın meydana geldiği kuvvet Newton (N) olarak kaydedildi (Resim 9).



Resim 7: Mikrogerilim test cihazı.



Resim 8: Test cihazına iki ucundan yapıştırılan test ubuğu.



Resim 9: Test cihazına yerleştirilen örnekte kırılma meydana gelmesi.

Bir dijital mikrometreyle (Mitutoyo, Japan) test çubuklarının kesitleri ölçülerek bağlanma yüzey alanları hesaplandı (Resim 10). Aşağıda verilen formüle göre kırılmanın meydana geldiği ve Newton cinsinden elde edilen değerin(F) , bağlanma yüzey alanına bölünmesiyle örneklerin kırılma değerleri MPa olarak elde edildi:

$$\text{MPa} = F (\text{Newton}) / \text{Alan} (\text{mm}^2)$$



Resim 10: Dijital mikrometre ile örneklerin uzunluklarının ölçülmesi.

3.6. Mikrogerilim Bağlanma Dayanım Testi Uygulanan Örneklerin Kırılma Tipinin Belirlenmesi

Mikrogerilim dayanım testi uygulanan her gruba ait 30 örneğin kırılma yüzeyleri stereomikroskopta (Olympus SZ4045 TRPT, Osaka, Japan) 40X büyütmede incelendi. Kırılma tipleri Woronko ve ark. göre (176) aşağıdaki gibi belirlendi;

- Dentin kompozit rezin arasında adeziv kırılma
- Dentin içerisinde koheziv kırılma
- Kompozit rezin içerisinde koheziv kırılma
- Karışık (miks) tipte adeziv/koheziv kırılma

Dentin-kompozit çubuklarının dentin tarafında kopma meydana gelmişse dentin içerisinde koheziv kırılma, restoratif materyalin % 80'inden fazlası dentin yüzeyinde kalmışsa kompozit rezin içerisinde koheziv kırılma, % 20'sinden daha azı dentin yüzeyinde kalmışsa adeziv kırılma, bazı sahalarda koheziv kırılma ve diğer sahalarda adeziv kırılmalar varsa karışık tipte adeziv/koheziv kırılma olarak belirlendi.

3.7. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi için Örneklerin Hazırlanması

Rezin restorasyonlarda adeziv öncesi CAPE uygulamasının, hibrit tabaka ve rezin-dentin ara yüzündeki etkisini araştırmak için dört uygulama grubuna ait, MTBS testi uygulanmış olan ve ortalama değerlere en yakın çubuklardan örnekler seçilerek, taramalı elektron mikroskobunda (SEM) incelendi. Ayrıca adeziv, koheziv ve karışık tipte (adeziv/koheziv) kırılma gösteren örneklerden bazıları seçilerek, kırılma yüzeyleri SEM ile incelendi.

Bu amaçla kesit alma esnasında, örnek yüzeyinde oluşan smear tabakasını uzaklaştırmak için örnekler, 5 dakika % 5'lik EDTA ile ultrasonik cihazda temizlendi ve distile su ile yıkandı. Daha sonra örnekler, 5 dakika % 5'lik sodyum hipoklorit ile ultrasonik cihazda tekrar temizlenerek distile su ile yıkandı. Örnekler dehidratasyonu sağlamak için, sırası ile % 25, % 50, % 75, % 100'lik etanolde 5'er dakika bekletildi. Hazırlanan yüzeyler havasız bir ortamda Polaron Range Sputter Coater SC7620 cihazı kullanılarak altın ile kaplandı ve SEM ile incelendi (JSM-

6060, JOEL Ltd, Tokyo, Japan). Örneklerin SEM incelemelerinin bir bölümü Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi elektron mikroskobu laboratuvarında gerçekleştirilirken, bir bölümü ise İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü SEM laboratuvarındaki Fe-SEM (Field Emission Scanning Electron Microscope) cihazında gerçekleştirildi.

3.9. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırmada elde edilen bulguların istatistiksel analizi Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapıldı. Mikrogerilim bağlanma dayanım testi bulgularının analizinde kullanılacak istatistiksel test yönteminin seçilebilmesi için veri dağılımının normal dağılıma uygunluğu, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Bunun sonucunda verilerin normal dağılıma uygun olduğu saptandı ($p>0,05$). Mikrogerilim bağlanma dayanım testi bulgularına ait tekrarlayan ölçümleri Repeated Measure Anova testi ile iki faktöre (adeziv sistem ve CAPE uygulaması) göre değerlendirildi.

Bu çalışmanın bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS yazılım programı (SPSS PASW Statistics 18,0 for Windows/SPSS Inc, Chicago, IL, USA) kullanıldı. Tüm istatistiksel hipotez testleri $\alpha=0,05$ önem düzeyinde gerçekleştirildi ve $p<0,05$ anlamlı kabul edildi.

BÖLÜM IV

BULGULAR

Bu çalışmada, klinikte premolar dişlerde açılan kavitelere, MMP inhibitörü olarak kafeik asit fenitil ester (CAPE) uygulanarak veya uygulanmadan, iki farklı adeziv sistem (total-etch ve self-etch) kullanılarak nanohibrit kompozitle yapılan restorasyonların dentine olan bağlanma dayanımı dişler çekildikten sonra mikrogerilim bağlanma dayanım testi ile *in vitro* incelendi. Ayrıca yapılan test sonucu örneklerin kırılma yüzeyleri stereomikroskop ve rezin-dentin bağlanma ara yüzleri ise taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenerek değerlendirildi.

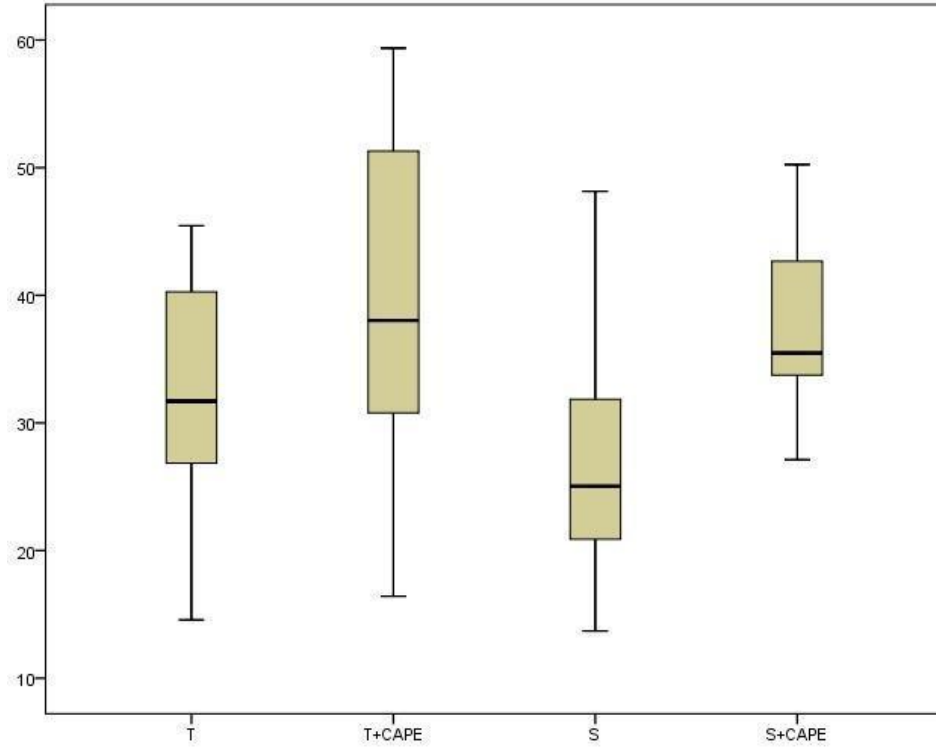
4.1. Mikrogerilim Bağlanma Dayanımı Testi Bulguları

Çalışmada yer alan dört gruba ait örneklerin mikrogerilim bağlanma dayanım testi minimum (min), maksimum (max) ve ortalama \pm standart sapma (ort \pm SS), değerleri Tablo 6 ve Grafik 1’de gösterilmiştir. Gruplar arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmalarda ortalama değerler göz önüne alınmıştır.

Tablo 6: Çalışmadaki gruplara ait mikrogerilim bağlanma dayanımı testi minimum (min), maksimum (max) ve ortalama±standart sapma (ort ± SS) değerleri (MPa).

Gruplar	Min	Max	Ort ± SS
Total-etch (T)	14,56	45,44	31,63±10,24
Total-etch+CAPE (TC)	16,42	59,36	38,46±14,53
Self-etch (S)	13,69	48,14	27,03±9,51
Self-etch+CAPE (SC)	27,11	50,24	37,5±6,82

MPa



Grafik 1: Dört uygulama grubuna ait MTBS testi ortalama değerlerinin (MPa) grafik ile gösterilmesi.

Çalışmamızda bulunan dört grupta elde edilen veriler değerlendirildiğinde; CAPE ön uygulamasının rezin restorasyonların mikrogerilim bağlanma dayanımı üzerine etkisi ile ilgili olarak aşağıdaki bulgular elde edildi:

CAPE ön uygulamasının, total-etch veya self etch adeziv ile yapılan rezin restorasyonların (Grup TC ve SC) dentine olan bağlanma değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı saptandı ($p<0,05$). Total-etch ve self etch adeziv ile uygulanan rezin restorasyonlara ait örneklerin (Grup T ve S) dentine olan mikrogerilim bağlanma değerleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

Total-etch adeziv uygulanan iki gruba ait örneklerin (Grup TC ve T) mikrogerilim bağlanma dayanımı testi değerleri karşılaştırıldığında, CAPE uygulanan Grup TC'nin bağlanma değerlerinin ($38,46 \pm 14,53$) kontrol grubu olan Grup T'ye ait değerlere ($31,63 \pm 10,24$) göre daha yüksek ve iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p<0,05$).

Self-etch adeziv uygulanan iki gruba ait örneklerin (Grup SC ve S) dentine olan bağlanma dayanım testi değerleri karşılaştırıldığında, CAPE uygulanan Grup SC'ye ait örneklerin bağlanma değerlerinin ($37,5 + 6,82$ MPa), kontrol grubu olan Grup S'ye ait değerlere ($27,03 + 9,51$) göre daha yüksek olduğu ve iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p<0,05$).

Gerek total-etch, gerekse self-etch adezivle beraber CAPE ön uygulamasının, dentine olan bağlanma dayanım değerleri karşılaştırıldığında (Grup TC ve Grup SC), gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

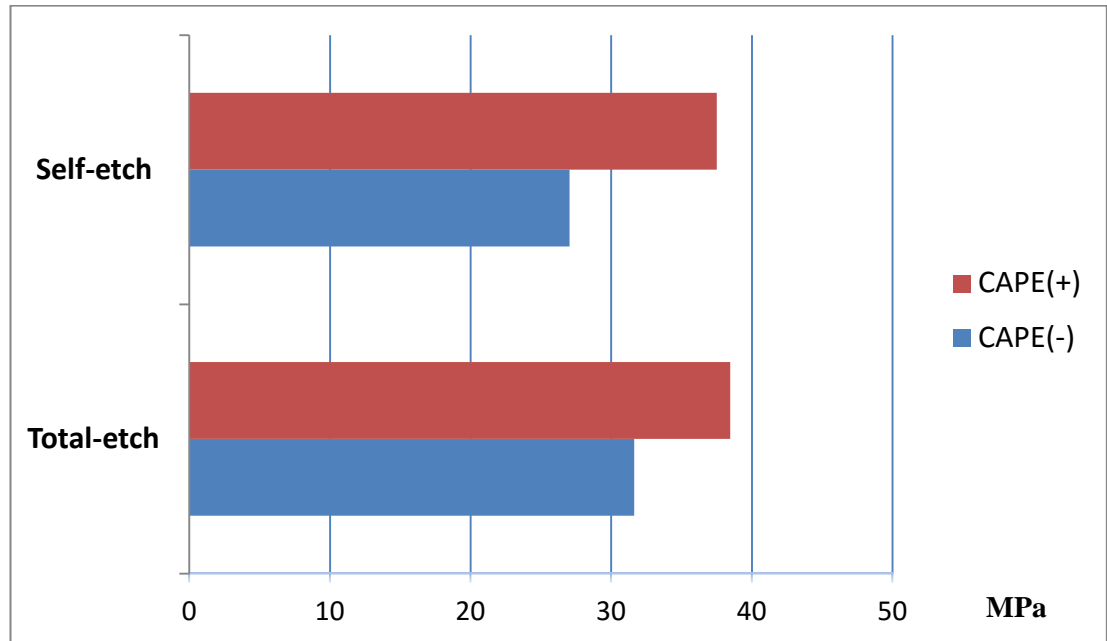
Bu çalışmada yer alan dört grubun her birine ait mikrogerilim bağlanma dayanımı değerleri, adeziv sistem ve CAPE uygulaması esas alınarak Repeated Measure ANOVA ile istatistiksel olarak değerlendirildi (Tablo 7). Yapılan analiz sonucunda; kullanılan adeziv sistem faktörünün (total-etch, self-etch) nanohibrit kompozit restorasyonun dentine olan bağlanma dayanımı üzerinde farklı bir etki göstermediği saptandı ($p=0,340$). CAPE'in her iki adeziv sistem öncesinde kaviteye uygulanmasının rezin restorasyonun bağlanma dayanımında istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturduğu bulundu ($p=0,003$). CAPE kullanımının her iki adeziv sistemde de dentine olan bağlanma dayanımını anlamlı düzeyde artırdığı saptandı. Kullanılan

iki farklı adeziv sistem ile CAPE arasında ise anlamlı bir ilişki olmadığı saptandı ($p=0,627$).

Tablo 7: Adeziv sistem ve CAPE uygulanmasının bağlanma dayanımı üzerine etkisini değerlendirmede kullanılan istatistiksel analiz (Repeated Measure ANOVA) sonuçları.

	Type III Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Adeziv sistem	77,227	77,227	1,015	,340
CAPE uygulaması	748,439	748,439	16,020	,003*
Adeziv-CAPE	33,307	33,307	,253	,627

* $p<0,05$



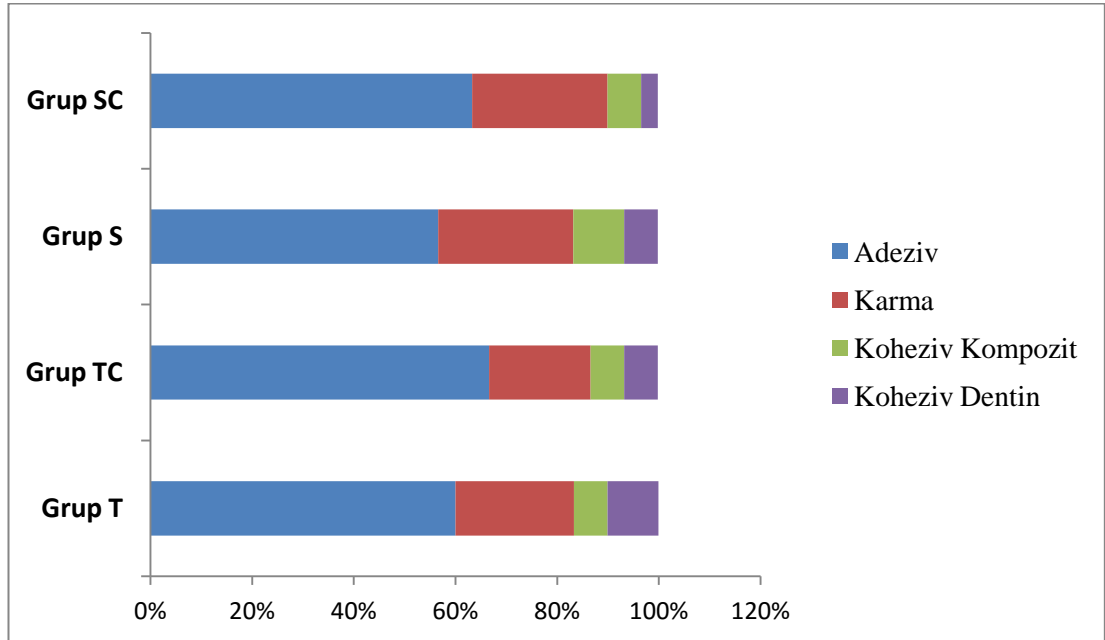
Grafik 2: CAPE ön uygulaması yapılan ve yapılmayan (kontrol) total-etch ve self-etch adeziv gruplarında mikroyerilim bağlanma dayanım değerlerinin grafik ile gösterilmesi.

4.2. Kırılma Tipi Bulguları

Mikrogerilim bağlanma dayanım testi sonucu her gruba ait 30 örnekte oluşan kırılma tiplerinin sayıca dağılımları ve yüzdeleri Tablo 8 ve Grafik 3’de gösterilmiştir.

Tablo 8: Mikrogerilim bağlanma dayanım testi sonucu gruplarda oluşan kırılma tiplerinin dağılımı.

Gruplar	Adeziv (%)	Karma (%)	Koheziv Kompozit (%)	Koheziv Dentin (%)
T	18 (60)	7 (23,3)	2 (6,6)	3(10)
TC	20 (66,6)	6 (20)	2 (6,6)	2 (6,6)
S	17 (56,6)	8 (26,6)	3 (10)	2 (6,6)
SC	19 (63,3)	8 (26,6)	2 (6,6)	1 (3,3)



Grafik 3: Mikrogerilim bağlanma dayanım testi sonucu dört grupta gözlenen kırılma tipi dağılımının grafik ile gösterilmesi.

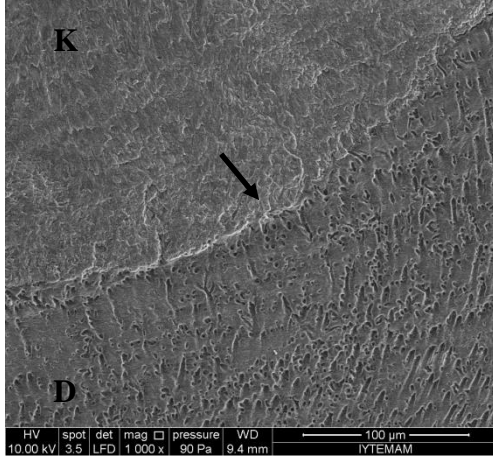
Tablo 8’de verilen kırılma tipi bulguları incelendiğinde; dört grupta da mikrogerilim bağlanma dayanım testi sonucu dentin-kompozit çubuklarında en yüksek oranda adeziv tip kırılma saptandı. Ayrıca gruplar içinde adeziv kırılma, en fazla CAPE ön uygulaması yapılan total-etch grubunda (Grup TC), en az ise self-etch kontrol grubunda (Grup S) saptandı.

4.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Bulguları

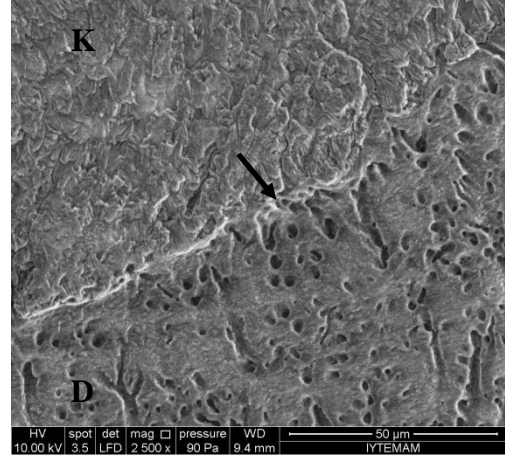
4.3.1. Rezin-Dentin Arayüzü ve Hibrit Tabakanın SEM Bulguları

İki farklı adeziv sistem kullanılarak, adeziv öncesi CAPE ön uygulaması yapılan ve yapılmayan nanohibrit yapıda kompozit rezin ile restore edilen dişlerden hazırlanan örnekler, rezin-dentin ara yüzlerinin ve hibrit tabakanın değerlendirilmesi için SEM (Scanning Electron Microscope) ve Fe-SEM (Field Emission Scanning Electron Microscope) ile incelendi. Örneklere ait SEM görüntüleri Resim 11-19’da verilmiştir.

Üç aşamalı total-etch adeziv olan Syntac’ın uygulandığı örneklerin (Grup T) rezin-dentin ara yüzü incelendiğinde, hibrit tabakanın düzenli ve çok kalın olmadığı gözlemlendi (Resim11). CAPE uygulandığında ise (Grup TC) hibrit tabakanın bütünlüğünü koruduğu ve rezin-dentin ara yüzünde Grup T’ye benzer görüntülerin varlığı gözlemlendi (Resim12).

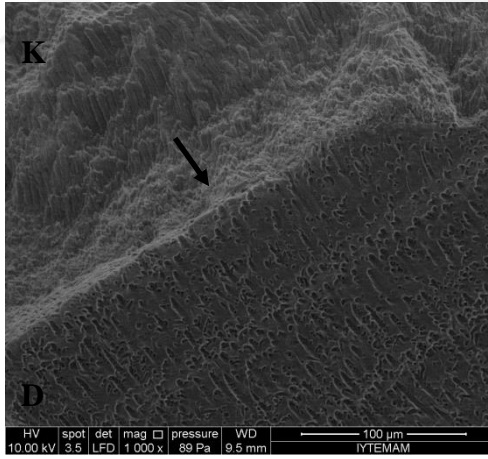


a)

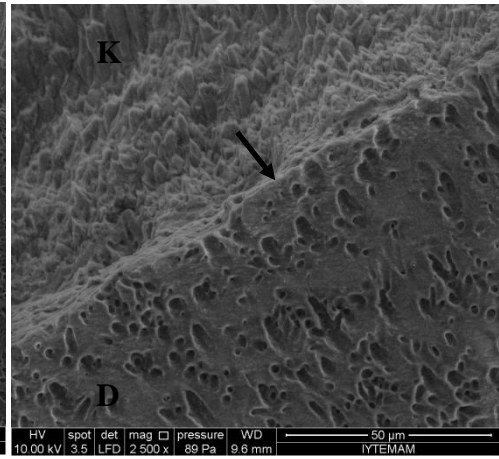


b)

Resim 11: a) Total-etch adeziv grubuna (Grup T) ait örnekte rezin-dentin ara yüzünün SEM görüntüsü (X1000), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500) (K: Kompozit D: Dentin).

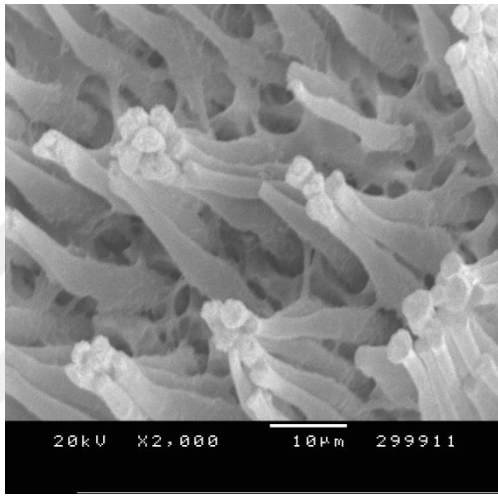
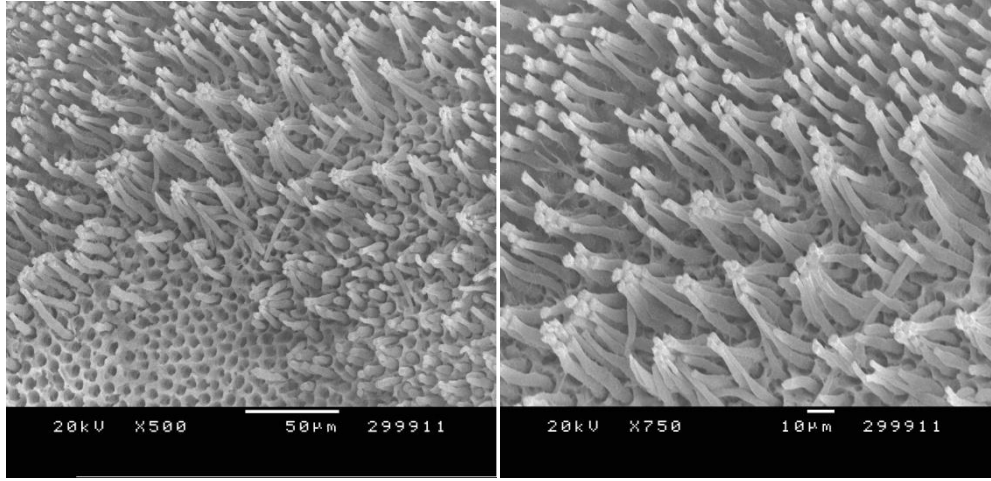


a)

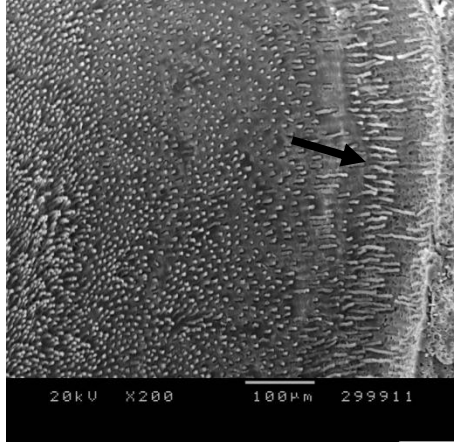


b)

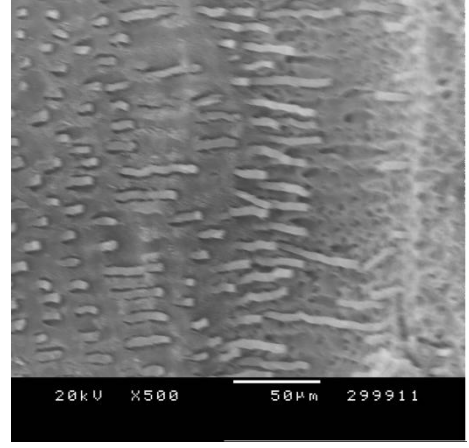
Resim 12: a) CAPE+Total-etch grubuna (Grup TC) ait örnekte rezin-dentin ara yüzünün SEM görüntüsü (X1000), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500) (K: Kompozit D: Dentin).



Resim 13: Total-etch adeziv grubuna (Grup T) ait örneğin SEM görüntüsü; hibrit tabakada dentin tübülleri içerisinde uzanan rezin uzantılarının farklı büyütmelelerdeki görüntüleri (X500, X750, X2000). Resin uzantılarının net ve oldukça uzun oldukları gözlenmektedir.

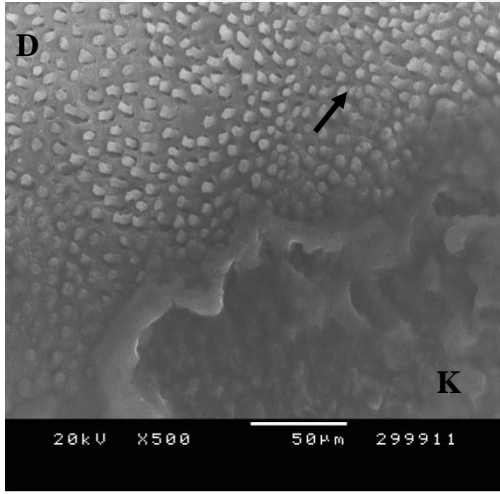


a)

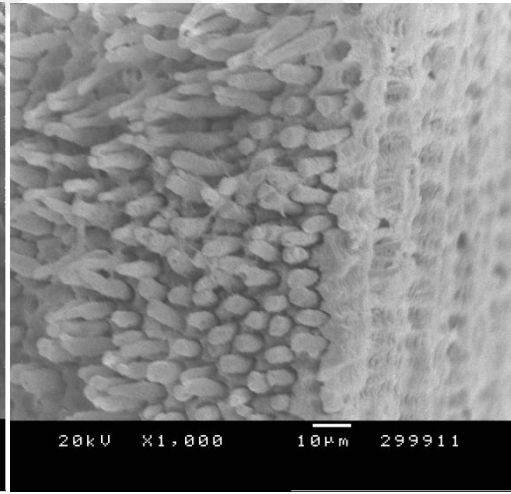


b)

Resim 14: a) Total-etch adeziv grubuna (Grup T) ait örneğin SEM görüntüsü; hibrit tabakada dentin tübülleri içine uzanan rezin uzantıları (X200), b) Okla gösterilen bölgede rezin uzantılarının daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X500).



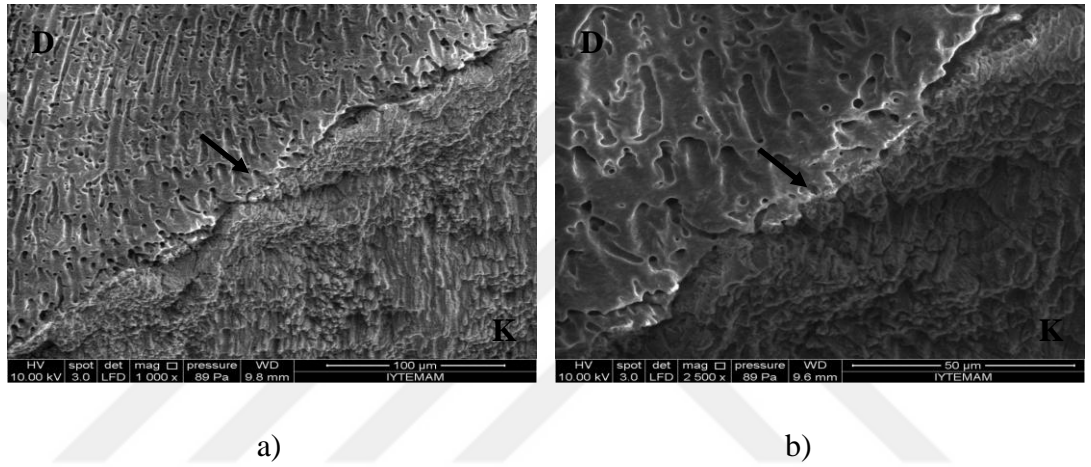
a)



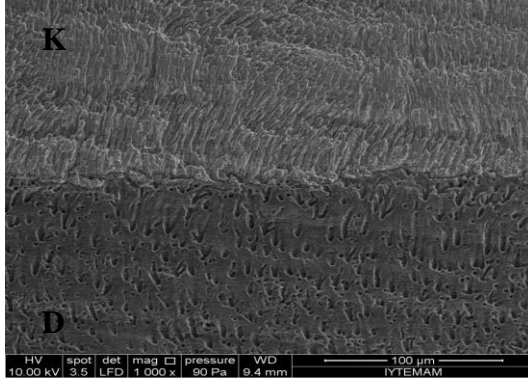
b)

Resim 15: CAPE+Total-etch adeziv grubuna (Grup TC) ait örneğin SEM görüntüsü; hibrit tabakada dentin tübülleri içine uzanan rezin uzantıları (X500), b) Okla gösterilen bölgede rezin uzantılarının daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X1000) (K: Kompozit D: Dentin).

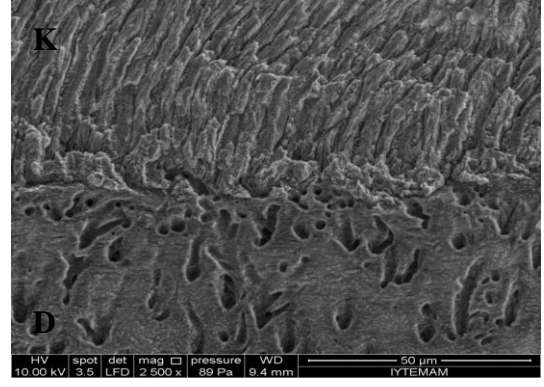
İki aşamalı self-etch adeziv olan AdHeSE'nin uygulandığı örneklerin (Grup S) rezin-dentin ara yüzü incelendiğinde, hibrit tabakanın bütünlüğünü kısmen koruduğu gözlemlendi (Resim 16). CAPE uygulandığında ise (Grup SC) rezin-dentin ara yüzündeki bağlantının ve hibrit tabakanın daha düzgün bir yapıda ve rezin-dentin arasında sıkı bir bağlanmanın olduğu belirlendi (Resim 17). Ayrıca boşlukların minimal düzeyde ve rezin uzantılarının dentin tübülleri içinde daha yoğun olduğu gözlemlendi (Resim 19).



Resim 16: a) Self-etch adeziv grubuna (Grup S) ait örnekte rezin-dentin ara yüzünün SEM görüntüsü (X1000), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500) (K: Kompozit D: Dentin).

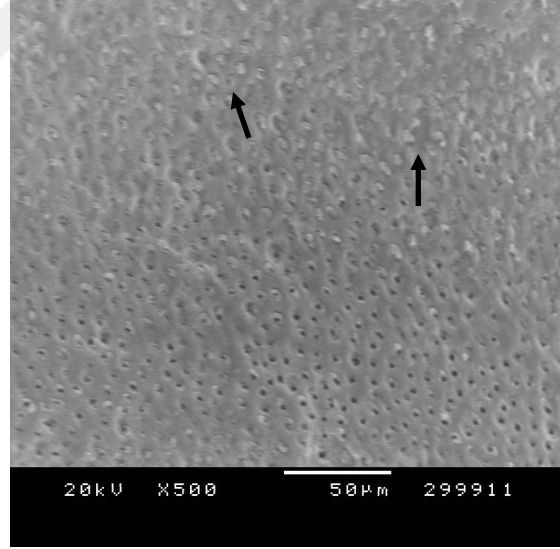


a)

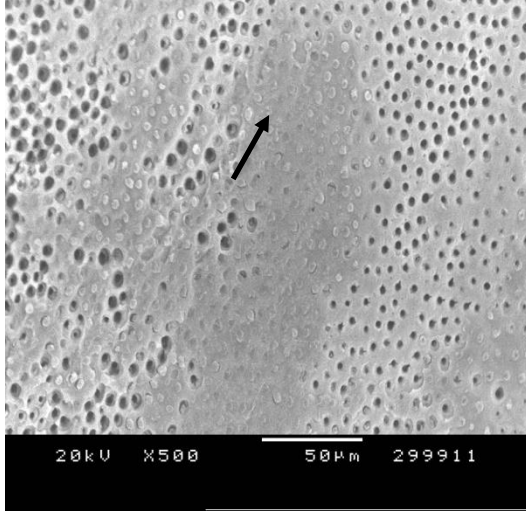


b)

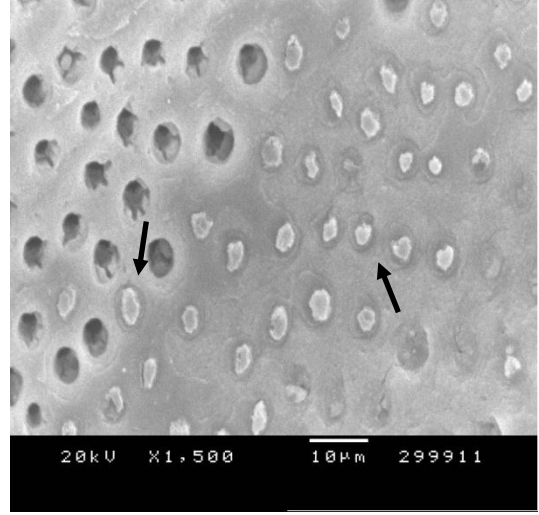
Resim 17: a) CAPE+Self-etch adeziv grubuna (Grup SC) ait örneğin rezin-dentin ara yüzünün SEM görüntüsü (X1000), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500) (K: Kompozit D: Dentin).



Resim 18: Self-etch adeziv grubuna (Grup S) ait örnekte hibrit tabakada dentin tübülleri içerisindeki resin uzantılarının görüntüsü oklarla gösterilmektedir (X500).



a)

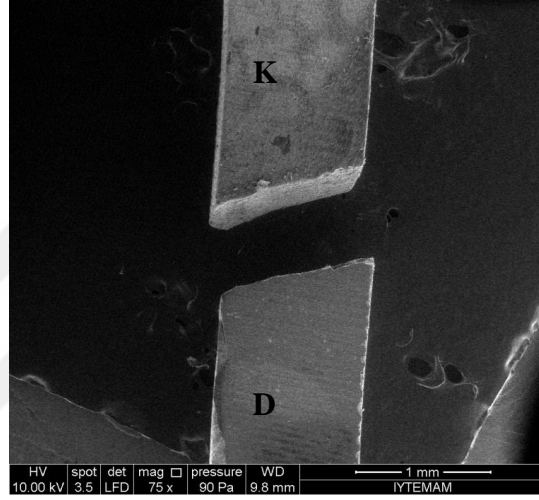


b)

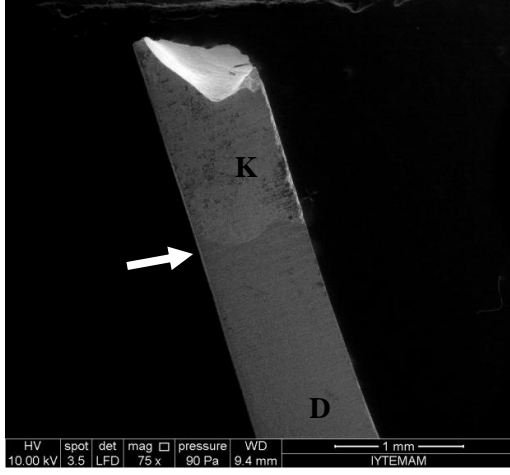
Resim 19: CAPE+Self-etch adeziv grubuna (Grup SC) ait örnekte hibrit tabakada dentin tübülleri içerisindeki rezin uzantılarının görüntüsü okla gösterilmektedir (X500), b) Aynı bölgenin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X1500). Resin uzantılarının total-etch adezivdekine göre daha kısa olduğu gözlenmektedir.

4.3.2. Örneklerin Kırılma Yüzeylerine ait SEM Görüntüleri

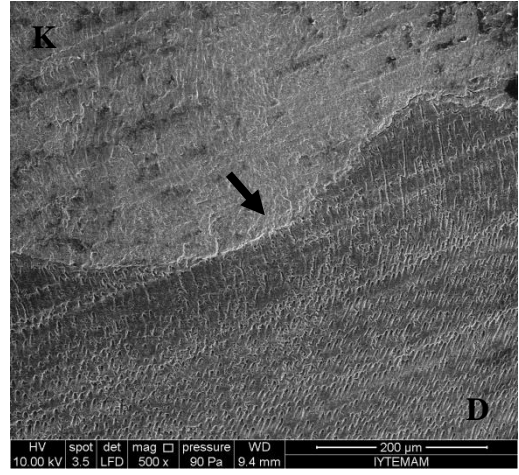
Mikrogerilim bağlama dayanımı (MTBS) testi sonrasında kırılan dentin-kompozit çubuklarının kırılma yüzeylerinin SEM ile incelemesi amacıyla her gruba ait adeziv, koheziv ve miks kırılma görülen ikişer örnek incelendi. Her gruba ait farklı kırılma yüzeylerinin SEM görüntüleri Resim 20-27’de verilmiştir.



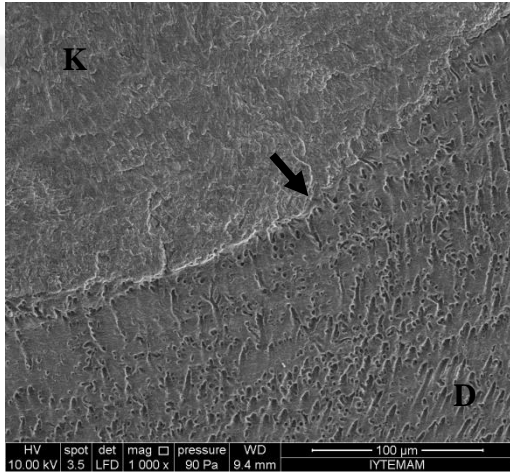
Resim 20: Total-etch adeziv kontrol grubuna (Grup T) ait adeziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X75) (K: Kompozit D: Dentin).



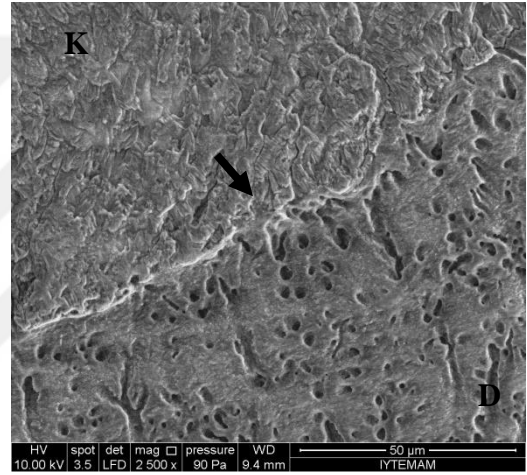
a)



b)

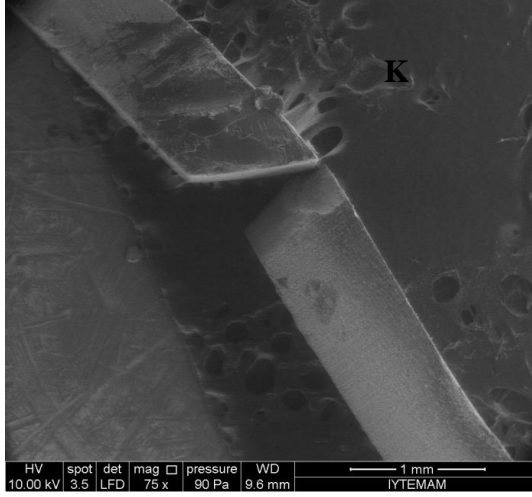


c)

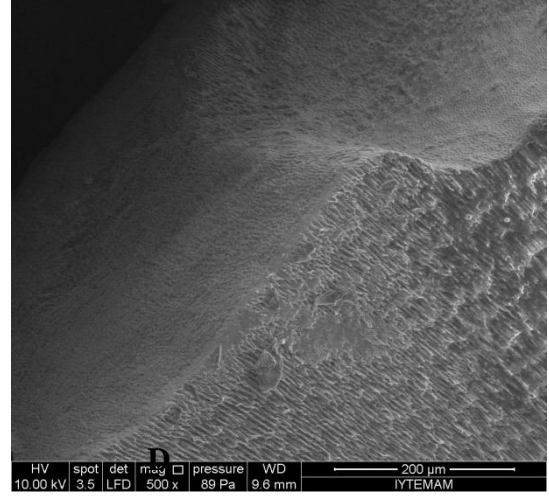


d)

Resim 21: a) Total-etch adeziv grubuna (Grup T) ait dentin-kompozit çubuğu örneğinin SEM görüntüsü; kompozit içinde koheziv kırılma görülmektedir (X75), b,c,d) Aynı örneğe ait okla gösterilen dentin-kompozit bağlanma bölgesinin daha büyük büyütmelelerdeki görüntüleri (X500, X1000, X2500). Bu görüntülerde rezin-dentin arasında sıkı bir bağlantı olduğu izlenmektedir (K: Kompozit D: Dentin).



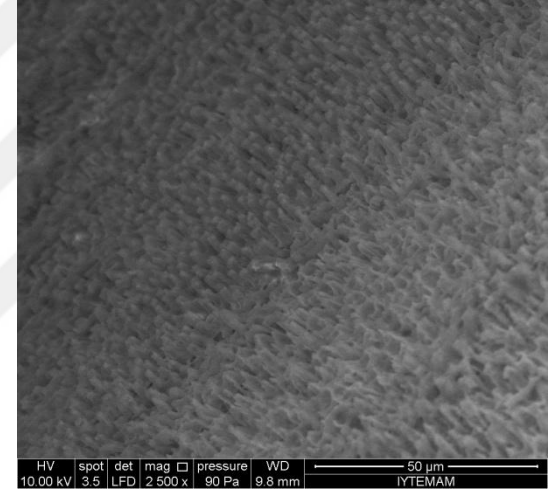
a)



b)

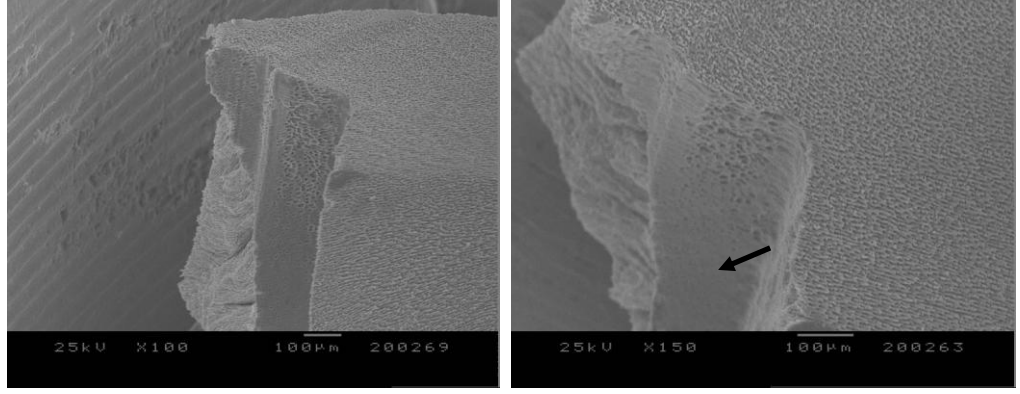


c)



d)

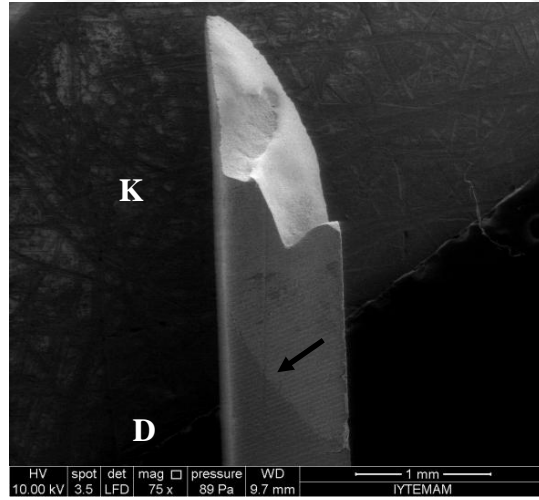
Resim 22: a) CAPE + Total-etch adeziv grubuna (Grup TC) ait adeziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X75), b,c) Adeziv kırılma görülen aynı örnekte dentin yüzeyinin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (X500, X1000), d) Okla gösterilen bölgenin büyük büyütmedeki görüntüsü (X2500); hibrit tabakanın dentin yüzeyinde kalan kopmuş rezin uzantıları gözlenmektedir. (K: Kompozit D: Dentin).



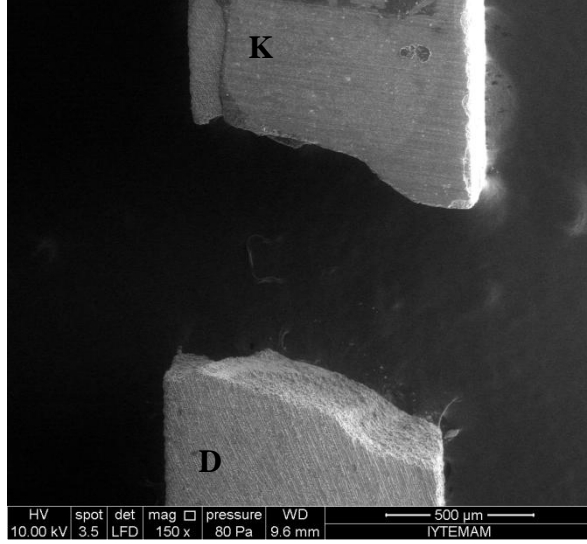
a)

b)

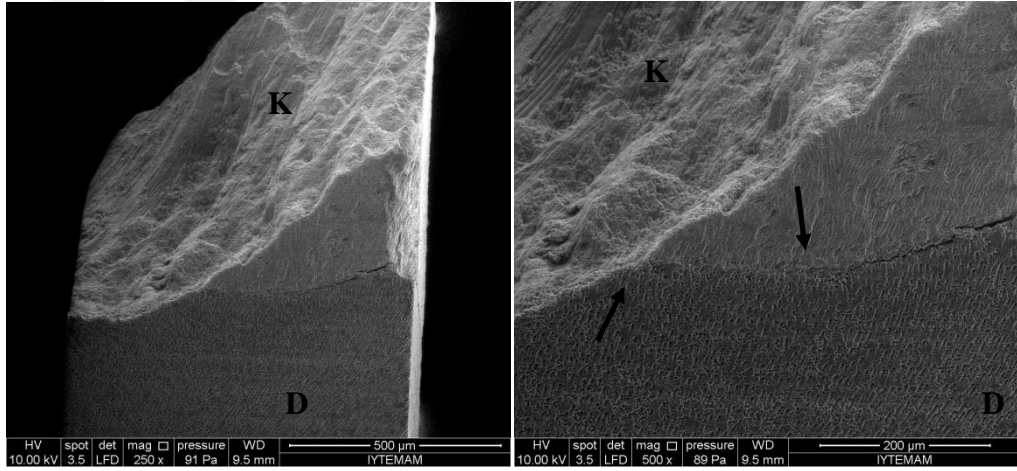
Resim 23: a) CAPE + Total-etch adeziv grubuna ait örnekte (Grup TC) miks kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X100). Kırılmanın bir kısmının rezin bir kısmının ise dentinde gerçekleştiği gözlenmektedir. b) Resin parçanın koptuğu dentin yüzeyinde hibrit tabakanın yer yer bozulduğu, okla gösterilen bölgede ise daha düzenli olduğu izlenmektedir (X150).



Resim 24: CAPE + Total-etch adeziv uygulanan gruba (Grup TC) ait örnekte, kompozit içinde koheziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X75) (K: Kompozit D: Dentin). Okla gösterilen kısımda rezin-dentin bağlantısı görülmektedir.



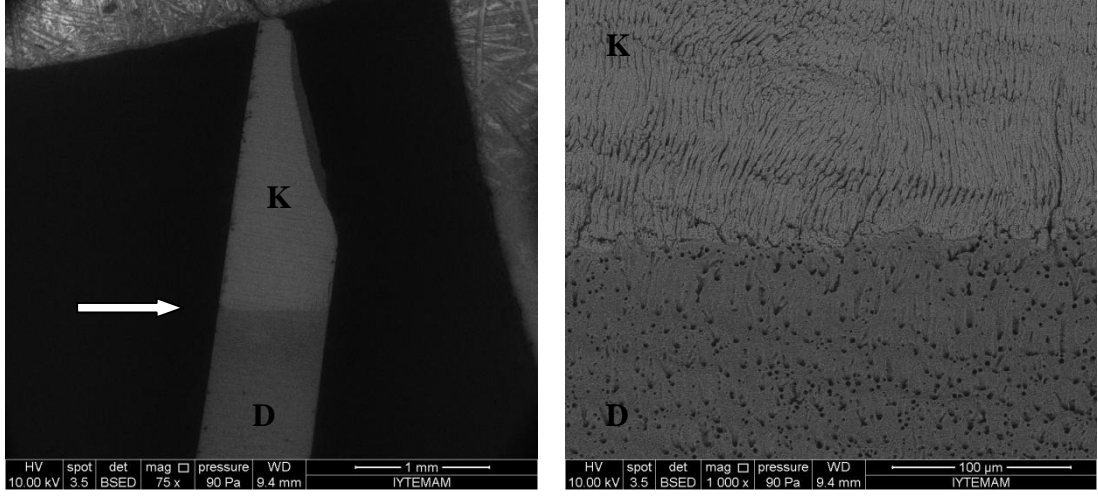
Resim 25: Self-etch adeziv grubuna (Grup S) ait örnekte adeziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X150) (K: Kompozit D: Dentin)



a)

b)

Resim 26: a) CAPE+Self-etch adeziv grubuna (Grup SC) ait örnekte miks kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X250), b) Aynı örneğin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X500) (K: Kompozit D: Dentin). Kırılmanın bir kısmının dentin bir kısmının ise resin içerisinde gerçekleştiği gözlenmektedir. Okla gösterilen kısım resin-dentin bağlantısıdır.



a)

b)

Resim 27: a) CAPE+Self-etch adeziv grubuna ait örnekte (Grup SC) kompozit içinde koheziv kırılma görülen dentin-kompozit çubuğunun SEM görüntüsü (X75), b) Aynı örneğe ait dentin-kompozit bağlanma bölgesinin daha büyük büyütmedeki görüntüsü (X1000) (K: Kompozit D: Dentin). Bu görüntüde rezin-dentin arasında sıkı bir bağlantı olduğu izlenmektedir. Okla gösterilen kısım rezin-dentin bağlantısıdır.

BÖLÜM V

TARTIŞMA

Bu çalışmada rezin esaslı restorasyon materyalinin kaviteye adezivle uygulanmadan önce dentine MMP inhibitörü olarak CAPE uygulanmasının, rezin kompozitin bağlanma dayanımı üzerine etkisinin araştırılması hedeflendi. Bu amaçla *in vivo* olarak fonksiyonda olan premolar dişlerde açılan okluzal kavitelere total-etch ve self-etch adeziv öncesinde 60 sn % 5 CAPE uygulandı. Resin yapıda restorasyonlar uygulandıktan üç ay sonra çekilen dişlerde MTBS testi ve hazırlanan örneklerin rezin-dentin ara yüzünde SEM incelemeleri yapıldı.

Adeziv restorasyonlarda, restorasyon materyali ile diş dokuları arasında sızdırmaz ve sıkı bir bağlanmanın sağlanması esastır. İnorganik içeriğinin yüksek olması nedeniyle asitleme sonucu mineye bağlanma daha güçlü olmaktadır. Dentine bağlanma ise organik içeriği ve su oranı daha yüksek olması nedeniyle daha güçtür. Adeziv diş hekimliğinde gözlenen gelişmelere rağmen, diş dokuları ile rezin esaslı restoratif materyal arasındaki bağlanmayı olumsuz yönde etkileyen faktörler tümüyle giderilememiştir. Resin-dentin ara yüzündeki bağlanmayı olumsuz etkileyen faktörlerden en önemlisi, asitle pürüzlendirilen dentin yüzeyine rezin infiltrasyonunun yeterince gerçekleşmemesidir. Ayrıca rezin-dentin ara yüzünde bağlanmanın, kollajen fibrillerin hidrolitik bozulmasına bağlı olarak zaman içinde zayıfladığı yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (177-179).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda dentinde bulunan kollajen fibrillerin inaktif formda proteolitik MMP enzimleri içerdikleri bildirilmiştir. Bu enzimlerin dentinde bazı fizyolojik ve patolojik olaylarda muhtemel rolleri olduğu düşünülmektedir. Çürük patogenezinde ve ilerlemesinde rol oynadıkları ileri sürülmüştür. Ayrıca rezin restorasyonlarda hibrit tabakada bulunan kollajenin parçalanmasında rol oynadıkları ve dentin ile rezin arasındaki bağlanmanın bozulmasında etkili oldukları rapor edilmiştir (7).

Rezin restorasyonlarla dentin arasındaki bağlanmanın geliştirilmesinin, dentindeki kollajen matriksin yıkımına neden olan konak kaynaklı bu enzimlerin inaktif hale getirilmesi ile mümkün olabileceği çeşitli araştırmalarda belirtilmiştir (10,28,122,129). İnsan dentininde odontoblastlar tarafından sentezlenen inaktif formda birçok MMP enzimi (MMP-2,-3, -8, -9 ve -20) tanımlanmıştır (104,105,110-115). Bu enzimlerin total-etch ve self-etch adeziv sistemlerin asidik özellikleri nedeniyle aktive oldukları belirlenmiştir (8,9). Yapılan *in vitro* bir çalışmada araştırmacılar beş farklı total-etch adeziv sistemin dentin tozlarına uygulandığı gruplarda kollajenolitik aktivitenin % 45'ten % 260'a yükseldiğini bildirmişlerdir (8). Nishitani ve ark. (9), self-etch adezivlerin, latent MMP'leri aktive edebileceğini ve zamanla rezin-dentin arasındaki bağlanmanın bozulmasına yol açabileceklerini ileri sürmüşlerdir. Mazzoni ve ark. jelatin zimografi yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmalarında (111), insan dentininde MMP-2 ve -9 enzimlerinin, test edilen tüm total-etch ve self-etch adezivler ile aktive olduklarını bildirmişlerdir.

MMP enzimleri aktive olduklarında, hibrit tabakadaki kollajen yapıda hidrolitik bozulmaya neden olarak, rezin-dentin arasındaki bağlantının zamanla zayıflamasına yol açarlar. Proteaz inhibitörlerinin kullanılması ile MMP enzimlerinin aktivitelerinin baskılanarak, hibrit tabakada kollajen yıkımının önleneyeceği ve böylece dentine bağlanmanın arttırılacağı düşünülmektedir (106,122,129,132,145). Pashley ve ark. yaptıkları bir çalışmada (106), mineralize dentin tozundaki kollajenolitik aktivitenin, proteaz inhibitörleri ile %73 azaldığını bildirmişlerdir.

Hibrit tabakada MMP enzimlerinin meydana getirdiği bozulmanın engellenebilmesi ve bu enzimlerin kollajenolitik ve jelatinolitik aktivitelerinin baskılanması amacıyla son yıllarda çeşitli ajanların kullanımı gündeme gelmiştir. Bunlar arasında CHX en yaygın olarak incelenmiş ve bu amaçla birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışma yapılmıştır (122,129,133,145-149). Breschi ve ark. (133) zimografik analiz sonucu, insan dentin tozunda adeziv uygulamasının MMP-2 aktivitesini arttırdığını, adeziv öncesinde klorheksidin uygulanmasının, dentindeki jelatinolitik aktiviteyi inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Klorheksidin ile yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar bildirilmiş olmasına rağmen, MMP enzimlerinin inhibisyonu amacıyla yeni ajanların araştırılması gerektiği de öne sürülmüştür. Bu amaçla değişik MMP inhibitörlerinin kullanımı önerilmiştir (133,134,179,180).

Breschi ve ark. (134), yaptıkları *in vitro* bir çalışmada zimografik analiz sonucu galardinin, demineralize dentinde MMP-2 ve MMP-9 enzimlerinin aktivitesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar galardinin hibrit tabakanın stabilitesinin uzun süre bozulmadan korunması amacıyla MMP inhibitörü olarak uygulanabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Tezvergil ve ark. (180) ise, antimikrobiyal bir ajan olan benzalkonyum kloridin, dentinde MMP-2, MMP-8 ve MMP-9 enzimleri üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmada, demineralize ettikleri dentin çubuklarını, 30 gün benzalkonyum klorid içeren solüsyon içinde bekletmişler ve bu süre sonunda dentindeki MMP enzim aktivasyonunun bozulduğunu, benzalkonyum kloridin bu nedenle MMP inhibitörü olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir. Aynı araştırmacılar, farklı konsantrasyonlardaki alkollerin (metanol, etanol, propanol, butanol, pentanol, HEMA, heksanol, heptanol ve oktanol) MMP enzimlerinin inhibisyonu üzerine etkisini inceledikleri bir başka çalışmada, konsantrasyonuna bağlı olmaksızın kullanılan bütün alkollerin, MMP-9 enzim aktivitesini bozduğunu rapor etmişlerdir (181). Araştırmacılar ayrıca etanol ve metanolün, MMP-9 enzim aktivasyonunu, diğer alkollere göre nispeten düşük oranda inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Zheng ve ark. (179) yaptıkları *in vitro* çalışmada, total-etch ve self-etch adezivlerden önce çeşitli MMP inhibitörlerinin (% 2 CHX, % 0.05 yeşil çay özü, 1 mM ferröz sülfat, 0,2 mM galardin) dentine uygulanmasının, rezin restorasyonların başlangıç ve 9 ay sonraki mikrogerilim bağlanma dayanım değerleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar 9 ay sonunda CHX, yeşil çay özü ve galardin uygulanan örneklerde bağlanma dayanım değerlerini sırasıyla; $32,9 \pm 11,3$, $33,2 \pm 14,0$, $33,6 \pm 10,5$ MPa olarak bulmuşlardır. Bu değerlerin, kontrol grubunun başlangıç değerleri ($32,1 \pm 14,8$ MPa) ile benzer olduğunu, sadece adeziv uygulanan gruptakinden ($20,3 \pm 13,6$ MPa) ise anlamlı düzeyde yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca self -etch uygulanan grupta, MMP inhibitörleri uygulanan ve uygulanmayan örneklerin, başlangıç bağlanma dayanım değerleri ile 9 ay sonraki değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir.

Kafeik asit fenil ester, propolisin biyolojik olarak aktif bir bileşenidir. Antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immun uyarıcı, karsinostatik ve

antimetastatik özelliklerinin bulunduğu rapor edilmiştir (13). Tıp alanında yapılan birçok çalışmada CAPE'in, tümör hücrelerinin metastazında rolü olduğu bilinen MMP enzimlerini (MMP-2 ve MMP-9) inhibe edici etkisinin olduğu bildirilmiştir (15,171,172). Dentindeki MMP enzimlerinin aktivitesini önlemek amacıyla CAPE ilk kez Dündar ve ark. nın(16) yaptıkları *in vitro* çalışmada kullanılmıştır. Araştırmacılar CAPE'in, MMP aktivitesinin inhibisyonu ile hibrit tabakada meydana gelen bozulmayı önlediğini ve bunun sonucunda nanosızıntıda azalma meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Yaptığımız bu tez çalışmasında CAPE ilk kez *in vivo* şartlarda dentin yüzeyine adeziv uygulaması öncesinde MMP inhibitörü olarak uygulandı.

Son yıllarda, hibrit tabaka ve rezin-dentin ara yüzünde bağlanma dayanıklılığını etkileyen faktörleri inceleyen çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Adeziv sistemlerin dentine bağlanma dayanımını etkileyen en önemli faktörlerden biri, dentinin karmaşık histolojik yapısı ve farklı kimyasal içeriğidir. Yüzeysel dentinden derin dentine doğru, dentinin kimyasal içeriğinin değişmesi, kollajen içeriğinin azalması, tübül çap ve sayısının artması, dentin nemliliğinin artması, dentinal geçirgenliğin değişmesi, rezin restorasyonların bağlanma dayanımında farklılıklara sebep olmaktadır (33,44,50). Dentinin sklerotik yapıda veya çürükten etkilenmiş olması da adeziv sistemlerin bağlanma mekanizmasını etkilemektedir (18). Çürük varlığında, dentinin karbonat ve fosfat oranı daha düşük, sağlam kollajen fibril oranı daha azdır. Çürükten etkilenmiş dentinde, dentin kanallarındaki mineral varlığı nedeniyle bağlanma dayanım değerleri daha düşük saptanmaktadır (78,149). Çürükten etkilenmiş dentin ve üzerinde oluşan smear tabakasının, sağlam dentine kıyasla asit uygulamasından daha fazla etkilendiği ve demineralizasyon derinliğinin fazla olması sonucunda adeziv rezinlerin dentin tübüllerine penetrasyonunun yeterli olmadığı bildirilmiştir (149). Ayrıca çürükten etkilenmiş dentinde kollajenolitik aktivitenin arttığı ortaya konulmuştur (42,107). Tüm bu etkenlerin sonuçları etkilememesi için, çalışmamızda çürükten etkilenmemiş ve herhangi bir defekti olmayan sağlam premolar dişler kullanıldı.

Şengün ve ark. (70) yaptıkları çalışmada, dokuz farklı adeziv sistemin farklı derinliklerdeki dentin dokusuna bağlanma dayanımını inceledikleri çalışmalarında, sonuç olarak merkezi ve perifer dentin bölgelerinin bağlanma dayanımları arasında bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Buna karşın bazı araştırmacılar, adeziv sistemlerin

bir kısmının dentin derinliğine karşı hassasiyetinin fazla olabileceğini ve derin dentinde elde edilen bağlanma dayanımının, yüzeysel dentinden daha düşük olabileceğini belirtmişlerdir (182). Yaptığımız çalışmada, tüm gruplarda yalnızca “merkezi” dentin bölgesinden elde edilen test çubukları kullanıldı. Böylece dentinin bölgesel farklılığı ve dentin tübüllerinin bağlanma dayanımına etkisi en aza indirildi.

Üç aşamalı total-etch adezivler, rutin klinik uygulamada “altın standart” olarak kabul edilmektedir (75,183). Self-etch adezivler ise, asitle pürüzlendirme ve yıkama işlemlerini içermediklerinden, uygulama zamanını kısaltmaları, teknik hassasiyeti en az seviyeye indirmeleri nedenleriyle günümüzde sıklıkla tercih edilmektedir (184). Yapılan araştırmalarda, iki basamaklı self-etch adezivler ile, total-etch sistemlerde elde edilen sonuçlarla kıyaslanabilir düzeyde başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir (75,184,185). Çalışmamızda günümüzde sıklıkla kullanılmakta olan, üç aşamalı total-etch adeziv; Syntac ve orta derecede kuvvetli asidik primere (pH=1,6) sahip iki aşamalı self-etch adeziv; AdheSE kullanıldı. Çalışmamızın bulgularına göre üç aşamalı total-etch adeziv (Syntac) ve iki aşamalı self-etch adeziv (AdHeSE) uygulanan örneklerin dentine bağlanma dayanımı arasında fark bulunmaması yukarıda belirtilen bulgularla benzerlik gösterdi.

Total-etch adeziv sistem (Excite) ile self-etch sistemin (AdHeSE) karşılaştırıldığı bir çalışmada; sınıf I ve II kavitelere yapılan restorasyonların klinik başarısı karşılaştırılmıştır (185). Bu adezivlerle birlikte kompozit rezin olarak Tetric Ceram ile restore edilen dişlerin; vitalitesi, sekonder çürük oluşumu, postoperatif duyarlılığı ve restorasyonların marjinal bütünlüğü, marjinal renklenmesi, yüzey yapısı, anatomik formları ile dolgularda gözlenen defektler incelenmiştir. İki yıl sonunda her iki adeziv sistemle yapılan restorasyonların klinik başarısının % 97 olarak bulunduğu bildirilmiştir. Adeziv sistemlerin başarısının klinik araştırmalar esas alınarak değerlendirildiği, sistematik bir literatür derlemesinde orta asiditede iki basamaklı self-etch adezivlerin, manipulasyonu kolay, teknik hassasiyeti daha az ve klinik olarak da daha yüksek başarı oranı gösterdiği rapor edilmiştir (75).

Frankenberger ve Tay (186) yaptıkları *in vitro* bir çalışmada, iki ve üç basamaklı total-etch ile, tek ve iki basamaklı self-etch adezivlerin marjinal bütünlüklerini karşılaştırmışlardır. Araştırma sonucunda, içerisinde çalışmamızda da kullanılan adezivlerin bulunduğu üç basamaklı total-etch (Syntac) ve iki basamaklı

self-etch (AdHeSE) adezivlerin marjinal bütünlükleri daha başarılı bulunmuştur. Ayrıca aynı çalışmada iki ve üç basamaklı self-etch adezivlerin, mine ve dentin yüzeylerine bağlanmada tek basamaklı sistemlerden daha etkin oldukları bildirilmiştir.

In vitro çalışmalarda, laboratuvar ortamında ağız içi koşullar taklit edilip, klinik uygulamalara ait sonuçlar tahmin edilmeye çalışılmaktadır (76). Laboratuvar testleri, bir değişken değerlendirilirken, diğer değişkenlerin sabit tutulabildiği, genellikle kolay uygulanabilen, hızlı ve ucuz yöntemlerdir (4). Fakat bu testlerle ağız içerisindeki tüm koşulların aynı anda sağlanması mümkün değildir. Bu yüzden *in vitro* çalışmaların sonuçlarına dayanarak, klinik uygulamaların başarılarının tam anlamıyla tahmin edilebilmesi güçtür. Klinik çalışmaların, adeziv sistemlerin değerlendirilmesi ve geliştirilmesinde en uygun yöntem olduğu kabul edilmektedir (23). Ancak *in vivo* ve *in situ* çalışmalar, hasta takibi ve uygulama yapılması açısından zor, zaman alıcı ve maliyetlidir. Ayrıca bu çalışmalarda, ağız hijyeni, yaş, oklüzyon durumu gibi hastaya bağlı faktörler ile hekimin becerisi, kullanılan ışık kaynağı, dişin izole edilmesi gibi faktörler sonuçları etkileyebilmektedir. Bununla birlikte tüm bu faktörlerin standart hale getirildiği, iyi planlanmış, ağız ortamındaki tüm etkenlerin dahil olduğu *in vivo* çalışmalar, adeziv ve restorasyonların klinik başarısının değerlendirilmesinde daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (23). Yapılan farklı çalışmalarda, tam bir standardizasyon sağlamanın zor olmasından dolayı, aynı materyal ile farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu durum materyalin klinik performansını tahmin etmeyi zorlaştırmaktadır. Dolayısıyla *in vitro* ve *in vivo* çalışma sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir (23).

Çalışmamızda standardizasyonu sağlamak amacıyla 12-18 yaş aralığındaki bireylerin, tam olarak sürmüş ve fonksiyonda olan, sağlam, ortodontik tedavi amacıyla simetrik olarak çekim endikasyonu konulmuş, alt veya üst çenede bulunan premolar dişlerine *in vivo* uygulamalar yapıldı. Klinik olarak, ağız ortamında ısısız değişimler, çiğneme kuvvetleri gibi şartlara maruz kalan dişlerin çekilmesinden sonra, kesitler alınarak örnekler hazırlandı ve dentine olan bağlanma dayanımları laboratuvar ortamında *in vitro* olarak değerlendirildi.

In vivo çalışma koşullarına uygun hasta bulma zorluğundan dolayı, dört ayrı test grubunda değerlendirme yapabilmek için gereksinim duyulan diş sayısının

azaltılması amacı ile her dişte iki kavite açıldı. Böylece 10 hastanın 20 adet premolar dışında 40 kavite hazırlanarak çalışma gerçekleştirildi.

Adezivlerin dentine olan bağlanma dayanımlarının değerlendirildiği çalışmalarda, kompozitlerin farklı yapısından kaynaklanabilecek etkileri en aza indirmek amacıyla tek tip kompozit kullanımı önerilmektedir (187). Son yıllarda nanoteknolojinin restoratif materyallerin üretiminde de kullanılması ile iyi cilalanabilir, aşınmaya dayanıklı, daha iyi estetik ve optik özellikler gösteren nanopartiküllü hibrit kompozit rezinler üretilmiştir (188). Çalışmamızda ön ve arka dişlerde kullanılabilen, universal bir kompozit olan ve mekanik özellikleri çeşitli çalışmalarda başarılı bulunan nanohibrit yapıda kompozit; Tetric N-Ceram kullanıldı. Yapılan çalışmalarda, kompozit renk ve opasitesinin rezin materyalin polimerizasyon derinliğini etkilediği, renk tonunun koyulaşmasıyla polimerizasyon derinliğinde azalma olduğu bildirilmiştir (189). Çalışmamızda standardizasyonu sağlamak amacıyla tüm restorasyonlarda A2 renkte kompozit kullanıldı.

Kompozit rezinlerde gözlenen polimerizasyon büzülmesinin en aza indirgenebilmesi için, materyalin tabakalama (inkremental) tekniği ile uygulanması ve her tabakanın kalınlığının 2 mm'yi geçmemesi önerilmektedir. Ayrıca ışık kaynağının, polimerize edilecek yüzeye mümkün olan en yakın mesafede konumlandırılması gerektiği bildirilmiştir (190). Bu çalışmada da kompozit rezin, kaviteye 2 mm'yi geçmeyecek tabakalar halinde yerleştirilmiş ve LED ışık kaynağı restorasyona en yakın konumda uygulanmıştır.

Yapılan bağlanma dayanım çalışmalarının bir kısmında, dentin adezivlerin aynı markaya ait kompozit rezinle beraber kullanılması önerilirken, farklı firmalara ait adeziv sistemler ve kompozit rezinlerin birbirleri arasında değiştirilerek kullanılmasının, adeziv sistemlerin dentine bağlanma dayanımları üzerine bir etkisi olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (191,192). Çalışmamızda sonuçları etkilememesi amacıyla aynı üretici firmaya ait adeziv sistem ve kompozit kullanılması tercih edildi.

Rezin restorasyonlarla birlikte uygulanan adeziv sistemlerin, üretici firmaların uygulama talimatlarına uygun bir şekilde kullanılmaları başarılarını etkilemektedir. Bununla ilgili olarak adeziv sistemlerin kullanımı sırasında yapılan hataların, dentine bağlanma kalitesini anlamlı ölçüde azalttığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır

(193,194,195). Bu çalışmada tüm uygulamalar aynı hekim tarafından ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı.

Çalışmalarda dişlerin, çekimini takiben bağlanma dayanım testleri yapılana kadar ve tüm çalışma aşamaları sırasında dehidratasyonunu engellemek amacıyla bir saklama solüsyonunda tutulması gerektiği belirtilmiştir. Bu amaçla formalin, timol, etanol, serum fizyolojik, distile su gibi pek çok farklı solüsyon önerilmiştir (196,197). Dental materyallerin diş yapısına adezyon testiyle ilgili ISO TR 11450 standartları raporunda (2003), dişlerin akan su altında, kan ve diğer dokular uzaklaştırıldıktan sonra, distile su içerisinde saklanmasının uygun olduğu bildirilmiştir (198). Çalışmamızda, uygulama yapılan dişler, travmatize edilmeden çekilerek, üzerlerindeki organik artıklar uzaklaştırıldı ve dikkatli bir şekilde incelendi. Dişler, çekildikten sonra mikrogerilim bağlanma dayanım testi yapılana kadar, 37°C'de distile su içinde saklandı ve en fazla üç ay içerisinde kullanıldı.

Adeziv sistemlerin diş dokularına bağlanma kuvvetini değerlendirmek amacıyla bağlanma dayanım testleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bu testler, dentin ile rezin materyal arasındaki bağlanma ne kadar iyi olursa, restorasyonların polimerizasyon büzülmesi ve ağız içi fonksiyonlara olan direncinin de o kadar iyi olacağı düşüncesine dayanmaktadır (3). Bu testler, makro ve mikro olarak yapılabilmektedir (72). Geçmiş yıllarda materyallerin düşük bağlanma değerleri göstermeleri nedeniyle makro testler ile değerlendirilmekteydi. Bu testlerde 3 mm² ve daha geniş bağlanma yüzeyleri kullanıldığı için, test sırasında, homojen olmayan bir stres birikimi ve restorasyon yüzeyinde lokal stres alanları oluştuğu gözlenmiştir (28). Bağlanma dayanım değerleri giderek daha geliştirilen materyaller ve bağlanma tekniklerine bağlı olarak, restoratif materyallerin de diş dokularına bağlanma dayanımlarında bir artış gözlenmektedir. Bu nedenle günümüzde daha yüksek bağlanma değerlerinin tespit edilebildiği mikro testler, özellikle de mikro gerilim bağlanma dayanım testleri sıklıkla kullanılmaktadır. Rezin-dentin bağlantısının uzun dönemde değerlendirilmesi için bu test yönteminin ideal olduğu çeşitli araştırmalarda bildirilmiştir (72,79).

Yüksek bağlanma dayanımı gösteren materyallerin, gerilme veya makaslama yöntemleri ile test edildiğinde; rezin-dentin ara yüzünde homojen olmayan stres dağılımlarına bağlı olarak, dentinin zayıf olduğu bölgelerde koheziv kırılmalar

görüldüğü bildirilmiştir. Bu durumda koheziv kırılmalar ile ilgili elde edilen değerlerin, rezin-dentin ara yüzüne ait gerçek bağlanma değerlerini göstermediği, daha çok rezin veya dentinin mekanik özelliklerine ait değerler olduğu bildirilmiştir (28,72,79,199). Dentindeki koheziv kırılmaların önlenmesi için, test sırasında kuvvetlerin bağlanma yüzeyine eşit olarak dağıtılması gerekir. Mikro gerilim bağlanma dayanım testi ile stres dağılımının daha homojen ve stres birikiminin daha az olması sağlanabilmektedir. Nitekim küçük yüzeylerde kuvvet dağılımı daha iyi olduğu için, bu testte daha çok adeziv kırılma tipi görülür. Adeziv kırılmanın daha çok gözlenmesi, bağlanma dayanımının daha iyi değerlendirilmesini sağlamaktadır. Mikro gerilim bağlanma dayanım test yöntemi ile; bir diştten makro testlere göre daha fazla sayıda ve dişlerin farklı bölgelerinden örnekler elde edilebilmektedir. Ayrıca bu test ile, çok küçük alanlar ve düzensiz yüzeylere ait bağlanma değerleri de ölçülebilmektedir. Dentin-rezin çubuklarının yüzey alanının yaklaşık 1 mm² olması nedeniyle kırılma yüzeylerinin SEM ile incelemesi daha kolay yapılabilir. Bir diştten çok sayıda dentin örnekleri elde edilebilmesi nedeniyle, örnekler arası farklılıklar azaltılabilir (72,79). Mikrogerilim bağlanma testinin dezavantajları ise; laboratuvar işlemlerinin daha ayrıntılı olması ve teknik hassasiyet gerektirmesi, 5 MPa'nın altındaki bağlanma dayanımlarının ölçülmesinin güç olması, özel ekipman gerektirmesi ve örneklerin çok küçük olması nedeniyle çok çabuk dehidrate olmasıdır (79). Sonuç olarak, mikrogerilim testlerinin etkili bir test yöntemi olduğu ve uygun koşullarda yapılması halinde, adezivin klinik uygulama sonuçlarını iyi bir şekilde yansıtabileceği bildirilmiştir (23,76,78,79,200,201). Bizim çalışmamızda da bağlanma dayanımının değerlendirilmesi amacıyla mikrogerilim bağlanma dayanım test yöntemi tercih edilmiştir.

Mikrogerilim bağlanma dayanım testi yapılırken örneklerin hazırlanma aşamalarının da önemli olduğu bildirilmiştir. Örnekler, dişlerden çubuk (beam shaped stick) veya kum saati (hourglass shaped) şeklinde seri kesitler alınarak hazırlanabilmektedir (78). Örneklerin kum saati şeklinde hazırlanması ile stresin ara yüzde daha iyi dağıldığı düşünülmektedir. Fakat bu yöntem yüksek bir teknik hassasiyete gerektirir ve dikkatli yapılması durumunda, preparasyon sırasında meydana gelen titreşimin bağlanma ara yüzeyine iletilmesi nedeniyle defektler meydana gelebilmektedir. Bu durumun adezivin performansını düşürdüğü bildirilmiştir. Bağlanma ara yüzeyinde frezle preparasyon yapılması da bu riski

arttırmaktadır (76). Çubuk şeklinde hazırlanan örneklerde ise daha az travma oluşması ve 5 MPa gibi düşük bağlanma dayanımı değerlerinin ölçülebilmesi mümkün olmaktadır (20,199). Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda dentin ve kompozitten oluşan örnekler, çubuk şeklinde hazırlandı.

Mikrogerilim test yönteminin en büyük dezavantajı test çubukları elde edilmesi esnasında meydana gelen streslerdir (202). Bu çalışmada, çubukların hazırlanması aşamasında en fazla başarısızlık, en düşük bağlanma değerleri gösteren self-etch adeziv kontrol grubunda (Grup S) gözlemlendi. Test çubuğu elde etme yönteminin tüm gruplarda standart olması ve Grup S'deki örneklerin de en düşük bağlanma değerleri göstermesi nedeniyle, bağlanma dayanımını değerlendirmede mikrogerilim test yönteminin kullanılmasının uygun bir yöntem olabileceği fikrine varıldı. Hazırlanan dentin-rezin test çubuklarının, mikro gerilim test cihazına uygulanacak kuvvete paralel şekilde yerleştirilmesinin de önemli olduğu bildirilmiştir. Bu şekilde yerleştirilmeyen örneklerin üzerinde gerilim kuvvetlerinden farklı kuvvetler oluşabilecek ve homojen olmayan stres dağılımları ortaya çıkacaktır. Bunun sonucunda koheziv kırılma tipi oranında artış gözlenebileceği bildirilmiştir (78,199,202). Çalışmamızda buna uygun olarak, dentin-kompozit çubuklarının uzun aksı, mikrogerilim test cihazının uzun aksına paralel olarak yerleştirilmiştir.

Mikrogerilim test cihazında sabitlenen çubuklara farklı hızlarda yükleme (kırma) (crosshead speed) uygulanabilmektedir. ISO standartlarına göre yükleme hızı 0,45 mm/dk ile 1,05 mm/dk arasında olmalı ve kuvvetin en fazla 5 N/dk sabit artışla uygulanması gerekmektedir (198). Bazı çalışmalarda yükleme hızının mikrogerilim bağlanma dayanım değerlerine etki etmediği ileri sürülmüştür (202-204). Ancak uygulanan çekme kuvvetinin kopma yüzeylerini etkilememesi için, yükleme hızının mümkün olduğunca düşük olması gerektiği de bildirilmiştir. Farklı yükleme hızının kırılma tipleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, yüksek yükleme hızlarının koheziv kırılma olasılığını arttırdığı bildirilmiştir (205). Bu nedenle çalışmamızda yükleme hızı 1 mm/dk ve yükleme kuvveti de 100 Newton olarak gerçekleştirildi ve yapılan kırılma analizi sonucunda koheziv kırılma oranının düşük olduğu bulundu.

Çalışmamızda *in vivo* olarak premolar dişlerde açılan kavitelere asitleme sonrası % 5 CAPE ön uygulanması ardından total-etch adezivle yapılan kompozit restorasyonların bağlanma dayanım değerleri, total-etch kontrol grubuyla

kıyaslandığında aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı ve daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Aynı şekilde kavitelere % 5 CAPE solüsyonu uygulanması sonrasında iki aşamalı self-etch adezivle rezin kompozit uygulanan dişlerin bağlanma dayanım değerlerinin, self-etch kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular ışığında CAPE uygulamasının her iki adeziv grubunda da bağlanma dayanımını arttırdığı sonucuna varıldı ($p<0,05$). Dentinde MMP enzimlerinin bulunduğu yapılan çeşitli araştırmalarda saptanmıştır (110-112). Jin ve ark.nın (171) yaptıkları çalışmada, CAPE'nin MMP-9 aktivitesini inhibe ettiği jelatin zigmografi yöntemi ile gösterilmiştir. Çalışmamızda da adeziv öncesinde CAPE ön uygulaması ile rezin-dentin arasındaki bağlanma dayanımında artış gözlemlendiği şeklindeki bulgumuz, CAPE'nin dentindeki MMP enzimlerini inhibe ettiği ve dentindeki kollajenlerin bozulmasının önlenerek daha güçlü bir bağlanma sağlandığı görüşünü desteklemektedir.

Kafeik asit fenitil esterinin, dentinde gerek total-etch gerek self-etch adezivle kullanıldığında mikrogerilim bağlanma dayanımını arttırdığı saptanan çalışmamızda CAPE ile yapılan *in vivo* bir çalışmaya rastlanmadığından karşılaştırma yapılamadı. Dündar ve ark. (16) yaptıkları *in vitro* çalışmada, CAPE'in dentinde MMP enzimlerinin aktivitesinin inhibe edilmesi yoluyla hibrit tabakada meydana gelen bozulmayı önlediğini ve nanosızıntıda azalma meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar CAPE uygulan örneklerin bağlanma dayanım değerlerinde ise anlamlı bir azalma meydana gelmediğini belirtmişlerdir.

Rezin restorasyonlarda dentindeki MMP aktivitesini inhibe etmek amacıyla adeziv uygulamaları öncesinde CHX kullanılan ve CHX'in restorasyonların bağlanma dayanımına etkisinin araştırıldığı birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışma bulunmaktadır. Bu araştırmalarda CHX uygulamasının, restorasyonların dentine bağlanma dayanımını arttırdığı bildirilmiştir (122,133,147,206). MMP inhibitörü olarak CHX'in kullanıldığı *in vivo* bir çalışmada, mikrogerilim bağlanma dayanım değerleri klorheksidin uygulanan grupta 14 ay sonra sabit kalırken, kontrol grubunda anlamlı düzeyde azalma olduğu gözlenmiştir (122). Ayrıca hibrit tabakanın TEM ile incelendiği bu çalışmada, CHX uygulanan grupta kollajen ağın bütünlüğünü koruduğu, kontrol grubunda ise kollajen ağda bozulmalar olduğu saptanmıştır.

Ricci ve ark. (147) süt azı dişlerinde, dentin yüzeylerine asitleme sonrası MMP inhibitörü olarak % 2 CHX uyguladıkları *in vivo* bir çalışmada, bağlanma dayanımında zamanla gözlenen azalmanın CHX grubunda daha uzun sürede (10-12 ay), kontrol grubunda ise daha kısa sürede (1-5 ay) saptandığını rapor etmişlerdir.

Yapılan *in vitro* bir çalışmada süt dişlerine total-etch adeziv uygulaması öncesinde 30 sn % 2 CHX uygulanan grupta 6 ay sonunda bağlanma dayanım değerleri, sadece total-etch uygulanan kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur (206).

Breschi ve ark. nın (133) rezin restorasyonlarda MMP inhibitörü olarak % 2 ve % 0,2 konsantrasyonlarında CHX uyguladıkları çalışmalarında, 2 yıl sonunda kontrol grubunda örneklerin mikrogerilim bağlanma dayanım değerleri % 67 azalma gösterirken, CHX uygulanan örneklerin ise % 16-30 azalma gösterdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada, dentin-adeziv ara yüzünün TEM ile incelemesi sonucu kontrol grubunda hibrit tabakada degradasyonu gösteren, gümüş partikülleri içeren büyük boşluklar gözlenirken, CHX grubunda çok daha küçük boşluklara rastlandığı bildirilmiştir. Ayrıca CHX uygulanan restorasyonlarda daha yüksek mikrogerilim bağlanma dayanımı değerlerinin gözlemlendiği, nanosızıntının daha az görüldüğü ve aynı zamanda daha kaliteli bir hibrit tabakanın oluştuğu saptanmıştır.

Rezin restorasyonlarda rezin-dentin bağlanma ara yüzünün ve hibrit tabakanın incelenmesinde taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve geçirmeli elektron mikroskobu (TEM) kullanılmaktadır (207,208). Çalışmamızda total-etch ve self-etch adezivlerle birlikte MMP inhibitörü olarak kafeik asit fenil ester uygulanan örneklerin rezin-dentin arayüzü SEM ile incelendiğinde, tüm gruplarda sıkı bir rezin-dentin bağlantısı olduğu ve hibrit tabakanın bütünlüğünü koruduğu izlenmiştir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda MMP inhibitörü olarak sıklıkla CHX kullanılmış ve rezin-dentin ara yüzü TEM ile incelenmiştir. Bu çalışmalarda çalışmamızdakine benzer şekilde CHX'nin adezivlerden önce kullanılmasının rezin-dentin arayüzü ve hibrit tabaka üzerine olumlu etkileri olduğu bulunmuştur. Ancak MMP inhibitörü olarak CAPE kullandığımız çalışmamızda rezin-dentin bağlanma arayüzünü ve kırılma yüzeylerini SEM ile incelememiz nedeniyle bu konuda birebir karşılaştırma yapma olanağı bulunamadı.

Rezin restorasyonlarda, MMP inhibitörü olarak CHX uygulamasının rezin-dentin bağlanma ara yüzü ve hibrit tabakaya etkisinin incelenmesinde TEM ile yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Hebling ve arkadaşlarının yaptıkları *in vivo* bir çalışmada (129), süt molar dişlerde hazırlanan Sınıf I kavitelerde dentin yüzeylerine asitleme sonrası MMP inhibitörü olarak klorheksidin uygulanmış, örneklerin altı ay sonra yapılan TEM incelemesinde hibrit tabakada bozulma gözlenmezken, kontrol grubunda bozulmalar olduğu gözlenmiştir. MMP inhibitörü olarak klorheksidinin kullanıldığı diğer bir *in vivo* çalışmada, rezin-dentin arayüzü TEM ile incelenmiş ve total-etch adeziv uygulanmasından önce klorheksidinin uygulandığı grupta, hibrit tabakada herhangi bir bozulmaya rastlanmazken, sadece total-etch adeziv uygulanan kontrol grubundaki tüm örneklerde hibrit tabakanın bozulduğu gözlenmiştir (146). Carrilho ve ark. (122) hibrit tabakanın TEM ile incelendiği çalışmalarında, MMP inhibitörü olarak klorheksidin uygulanan yaşlandırılmış örneklerde hibrit tabakanın bozulmadan kaldığını, kontrol grubunda ise kollajen liflerin yıkımı sonucu rezin-dentin bağlantısının bütünlüğünün birçok alanda kaybolduğunu rapor etmişlerdir (122).

MMP inhibitörü olarak CHX'in kullanıldığı ve bunun bağlanma dayanımında olumlu bir etki oluşturmadığını bildiren çalışmalar da vardır. Campos ve ark. (209), self-etch adezivlerle birlikte uygulanan % 2'lik CHX'in, rezin restorasyonların dentine olan bağlanma dayanımı değerlerini anlamlı derecede azalttığını bildirmişlerdir. Breschi ve ark. (133) yaptıkları *in vitro* çalışmalarında, % 0,2'lik CHX kullanımının dentine olan bağlanma dayanımını azalttığını, ancak kontrol grubuna kıyasla bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise, farklı konsantrasyonlardaki (% 0,5 ve % 2) CHX'in, total-etch adezivle birlikte kullanıldığı restorasyonlarda, dentine olan bağlanma dayanımı değerlerinin, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber azaldığı bildirilmiştir (210).

Breschi ve ark. (134) yaptıkları *in vitro* çalışmada, çekilmiş insan dişlerinde fosforik asit ile demineralize edilmiş dentin yüzeylerine, MMP inhibitörü olarak 30 saniye galardin uygulamasından sonra, total-etch adeziv (Scotchbond 1XT) uygulanan örneklerin bağlanma dayanım değerlerini 24 saat ve 12 aylık süreler sonunda kontrol grubuyla karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, galardinin 24 saat sonunda bağlanma dayanım değerleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe sebep

olmadığını, 12 ay sonunda ise anlamlı düzeyde bir azalma görüldüğünü, fakat bu azalmanın kontrol grubunda daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada galardin uygulamasının rezin-dentin ara yüzeylerinde nanosızıntı oluşumunu azalttığı da bildirilmiştir

Yapılan *in vitro* bir çalışmada, asit uygulaması sonrası dentin yüzeylerine CHX, etanol, CHX+etanol uygulanan ve hiçbir uygulama yapılmadan sadece adeziv uygulanarak kompozit ile restore edilen gruplara ait mikrogerilim bağlanma değerleri, *in vitro* 6 ay, *in situ* 14 gün sonra değerlendirilmiş ve bu süreler sonunda tüm gruplarda bağlanma dayanımında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu saptanmıştır (211). Bu çalışmada, CHX ve /veya etanol uygulamasının rezin-dentin arayüzünde bozulmayı önlemede etkili olmadığı bildirilmiştir.

Mikrogerilim bağlanma dayanım testi sonrasında çubukların yüzeylerinde meydana gelen kopmalar; adeziv, karma (miks), koheziv dentin ve koheziv kompozit kırılma şeklinde değerlendirilmektedir (176). Bu çalışmada, test sonrası mikroskop altında incelenen örneklerde kırılma tipleri değerlendirilmiş, bütün gruplarda en yüksek oranda görülen kırılma tipinin adeziv kırılma olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, yapılan birçok mikrogerilim bağlanma çalışması ile benzerlik göstermektedir (212,213). Ayrıca bu bulgu, mikrogerilim bağlanma dayanım testinin, gerilim streslerinin bağlanma ara yüzeyine düzgün dağıtılmasını sağlayabilen bir test yöntemi olduğu görüşünü doğrulamaktadır ve adezivin performansının doğru olarak test edilebildiğini göstermektedir. Adeziv kırılma tipinin daha yüksek oranda görülmesinin, bağlanma dayanımının daha iyi değerlendirilmesini sağladığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (78,79,199,214). Çalışmamızda buna uygun olarak adeziv kırılma tipinin en fazla görüldüğü CAPE uygulanan total-etch grubunda (Grup TC), en yüksek mikrogerilim bağlanma değerleri gözlenirken, self-etch kontrol grubunda (Grup S) ise bu değerler diğer gruplardan düşük olarak belirlendi.

Mikrogerilim testi öncesinde örnek hazırlama aşamasında kopan çubukların istatistiksel olarak değerlendirmeye katılıp katılmaması konusunda kesin bir görüş birliği yoktur. Yapılan birçok mikrogerilim bağlanma dayanımı çalışmasında bu örnekler değerlendirme dışında bırakılmaktadır. Çünkü test öncesi kopan örneklerin kırılmasına neden olan ara yüzdeki kuvvetlerin tam ayırımı yapılamamaktadır

(199,214,215). Bu değerlendirmelerden hangisinin seçildiğinden çok, bu örneklerin istatistiksel değerlendirmelerde göz önüne alınıp alınmadığının belirtilmesinin önemli olduğu bildirilmiştir (215). Bizim alışmamızda da test öncesi kopan örnekler istatistiksel analize dahil edilmedi.

Bu çalışmada mikrogerilim bağlanma dayanımı testi ve SEM incelemesi sonuçlarına göre; CAPE n uygulamasının gerek total-etch ve gerekse self-etch adezivle yapılan rezin restorasyonların dentine bağlanma dayanımı üzerinde olumlu bir etki oluşturduğu, hibrit tabakada herhangi bir bozulmaya neden olmadığı, reziz-dentin ara yüzünde sıkı bir bağlanma sağlandığı belirlenerek CAPE'in MMP inhibitörü olarak kullanılabileceği fikrine varıldı. Konu ile ilgili daha fazla sayıda örnekle yapılan, uzun süreli *in vitro* ve *in vivo* alışmalarla kesin sonuca varılabilecektir.

BÖLÜM VI

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Dentinde MMP enzimlerinin aktivitesini inhibe edici etkisi olduğu bildirilen CAPE'in, total-etch ve self-etch adezivler öncesinde kullanımının rezin restorasyonların dentine bağlanma dayanımı üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda;

- Yapılan mikrogerilim bağlanma dayanım testi (MTBS) sonucunda CAPE ön uygulamasının, total-etch ve self-etch adeziv sistemler ile yapılan rezin restorasyonların dentine olan bağlanma değerlerini anlamlı olarak arttırdığı belirlendi.
- CAPE ön uygulaması yapılarak total-etch veya self-etch adeziv uygulanan rezin restorasyonların dentine bağlanma dayanım değerleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı.
- Resin restorasyonların CAPE uygulaması yapılmadan total-etch veya self-etch adezivle uygulanması halinde dentine bağlanma değerlerinin anlamlı bir farklılık göstermediği belirlendi.
- Mikrogerilim bağlanma dayanım testi sonucu kırılma tipi bulguları incelendiğinde, dentin-kompozit çubuklarında en yüksek oranda adeziv tip kırılma saptandı. Adeziv kırılma, en fazla CAPE ön uygulaması yapılan total-etch grubunda, en az ise self-etch kontrol grubunda saptandı.
- CAPE ön uygulaması yapılan total-etch ve self-etch adeziv grupların SEM incelemesinde hibrit tabakanın bütünlüğünü koruduğu gözlemlendi. Total-etch ve self-etch adeziv uygulanan örneklerin rezin-dentin ara yüzünün iki kontrol grubunda da hibrit tabakanın düzenli bir şekilde izlendiği ve ara yüzde sıkı bir bağlantının olduğu görüldü.

Rezin restorasyonlarda CAPE ön uygulamasının, gerek total-etch gerekse self-etch adezivlerle uygulanan restorasyonların dentine bağlanma direncini arttırabileceği, bu endojen dentin enzimlerinin aktivitelerinin önlenmesiyle rezin-dentin ara yüzünde zaman içinde oluşabilecek kollajen fibrillerin parçalanmasının azaltılabileceği, böylece daha uzun ömürlü ve dayanıklı restorasyonların yapılabileceği sonucuna varıldı.



BÖLÜM VII

KAYNAKLAR

1. Newbrun E. Cariology. Quintessence Publishing Co, Inc, USA; 1989.
2. Van Meerbeek B, Perdigao J, Lambrechts P, Vanherle G. Enamel and dentin adhesion. Schwartz RS, Summitt JB, Robbins JW (Ed.). Fundamentals of Operative Dentistry. A Contemporary Approach. Illinois: Quintessence Publishing Co. Inc, 1996; 141-186.
3. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. Dent Mater 1995;11(2):117-125.
4. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. Oper Dent 2003;28(3):215-235.
5. Van Meerbeek B, Perdigao J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. J Dent 1998;26(1):1-20.
6. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. J Biol Chem 1999;274:21491-21494.
7. Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. J Dent Res. 2015;94(2):241-251.
8. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid- etched dentin by etch - and -rinse adhesives. Biomaterials 2006;27:4470-4476.
9. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A et al. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. Eur J Oral Sci 2006;114(2):160-166.
10. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldini S et al. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer: a review. Dent Mater 2013;29(10):999-1011.

11. Liu Y, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res* 2011;90(8):953-968.
12. 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):163-176.
13. Son S, Lewis BA. Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: Structure- activity relationship. *J Agric Food Chem* 2002;50: 468-472.
14. Lee KW, Kang NJ, Kim JH, Lee KM, Lee DE, Hur HJ, Lee HJ. Caffeic acid phenethyl ester inhibits invasion and expression of matrix metalloproteinase in SK-Hep1 human hepatocellular carcinoma cells by targeting nuclear factor kappa. *B. Genes Nutr* 2008;2(4):319-322.
15. Hwang HJ, Park HJ, Chung HJ, Min HY, Park EJ, Hong JY, Lee SK. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on cancer cell metastasis mediated by the down-regulation of matrix metalloproteinase expression in human HT1080 fibrosarcoma cells. *J Nutr Biochem* 2006;17(5):356-362.
16. Dündar M, Ozcan M, Çömlekoglu ME, Şen BH. Nanoleakage inhibition within hybrid layer using new protective chemicals and their effect on adhesion. *J Dent Res* 2011;90(1):93-98.
17. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* 1955;34(6):849-853.
18. Dayangaç B. Kompozit rezin restorasyonlar. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd Sti; 2000.
19. Marshall SJ, Bayne SC, Baier R, Tomsia AP, Marshall GW. A review of adhesion science. *Dent Mater* 2010;26(2):11-16.
20. Perdigao J, Swift EJ. Fundamental Concepts of Enamel and Dentin Adhesion. In: Roberson TM, editör. *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry*. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier, 2006; 235-268.
21. Erickson RL. Surface Interactions of dentin adhesive materials. *Oper Dent* 1992;5:81-94.
22. Summitt JB, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS, Dos Santos J. *Fundamentals of Operative Dentistry, A Contemporary Approach*. 3th ed. London: Quintessence Publishing Co. Ltd; 2006.

23. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: Methods and results *Journal of Dental Research* 2005;84:118-132
24. Albers HF. Resin Bonding. Tooth-Colored Restoratives. Principles and Techniques. Hamilton, Canada: BC Decker Inc, 2002; 127-156.
25. Slavkin HC, Diekwisch T. Evolution in tooth developmental biology: of morphology and molecules. *Anat Rec* 1996;245(2);131-150.
26. Meckel AH, Griebstein WJ, Neal RJ. Structure of mature human dental enamel as observed by electron microscopy. *Arch Oral Biol* 1965;10(5):775-783.
27. White SN, Luo W, Paine ML, Fong H, Sarikaya M, Snead ML. Biological organization of hydroxyapatite crystallites into a fibrous continuum toughens and controls anisotropy in human enamel. *J Dent Res* 2001;80(1):321-326.
28. Braga RR, Meira JB, Boaro LC, Xavier TA. Adhesion to tooth structure: a critical review of "macro" test methods. *Dent Mater* 2010;26(2):38-49.
29. Goes MF, Sinhoreti MA, Consani S, Silva MA. Morphological effect of the type, concentration and etching time of acid solutions on enamel and dentin surfaces. *Braz Dent J* 1998;9(1):3-10.
30. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjaderhane L, Carvalho RM, Carrilho M et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater* 2011;27(1):1-16.
31. Van Meerbeek B, Lambrechts, Inokoshi S, Braem M, Vanherle G. Factors affecting adhesion to mineralized tissues. *Oper Dent* 1992;5:111-124
32. Torneck C.D. Dentin Pulp Complex. In: Ten Cate, A.R. *Oral Histology. Development, Structure and Function*. Mosby, St. Louis, 1998; 150-196
33. Marshall GWJr, Marshall, SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent* 1997;25(6):441-458.
34. Thomas HF, Carella P. Correlation of SEM and TEM of human dentinal tubules. *Arch Oral Bio* 1984;28:641-646.
35. Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 1976;21(6):355-362.
36. Inoue S, Van Meerbeek B, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G et. al. Effect of remaining dentin thickness and the use of conditioner on micro-tensile bond strength of a glass-ionomer adhesive. *Dent Mater* 2001;17(5):445-455.
37. Swift EJJr, Perdigao J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art. *Quintessence Int* 1995;26(2):95-110.

38. Wilson HF, Roulet FJ, Fuzzi M. *Advances in Operative Dentistry*. London: Quintessence Publishing Co. Ltd; 2006.
39. Van Meerbeek, B, Van Landuyt, K, De Munck, J, Inoue, S, Yoshida, Y.,Perdigao, J. *Bonding to Enamel and Dentin*. J. B. & J. W. R. Summitt, T. J. Hilton & R. S. Schwarz (ed.). *Fundamentals of Operative Dentistry: Quintessence Publishing Co, Inc; 2006*.
40. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Suzuki K, Inove S. Four year water degradation of a resin – modified glass ionomer adhesive bonded to dentin. *European Journal of Oral Sciences* 2004;112:73-83
41. Pashley EL, Talman R, Horner JA, Pashley DH. Permeability of normal versus carious dentin. *Endod Dent Traumatol* 1991;7:207-211.
42. Nakajima M, Sano H, Zheng L, Tagami J, Pashley DH. Effect of moist vs dry bonding to normal vs caries-affected dentin with Scotchbond Multi-Purpose Plus. *J Dent Res*. 1999;78(7):1298–1303.
43. Zhang Y, Agee K, Nor J, Carvalho R, Sachar B, Russell C, Pashley D. Effects of acid-etching on the tensile properties of demineralized dentin matrix. *Dent Mater* 1998;14(3):222–228.
44. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997;25(5):355-372.
45. Kugel G, Ferrari M. *The science of bonding: from first to sixth generation*. J Am Dent Assoc 2000;131:20-25.
46. Bowen R.L. Adhesive bonding of various materials to hard tissues, II. Bonding to dentin promoted by a surface active comonomer. *J Dent Res* 1965;44:895-902
47. Freedman G. *Contemporary Esthetic Dentistry*. USA: Elsevier Mosby; 2012.
48. Zorba YO, Bayındır YZ, Yıldız M. Geçmişten günümüze dentin bonding ajanlar. *Atatürk Üniv. Diş Hek Fak Derg* 2004;14:70-78.
49. Dunn JR. I Bond: the seventh-generation, one-bottle dental bonding agent. *Compend Contin Educ Dent* 2003;24(2):14-18.
50. Van Meerbeek B, Vargas S, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P et al. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Operative Dentistry* 2001;6:119-144.

51. Swift EJ Jr. Dentin/enamel adhesives: review of the literature. *Pediatric Dentistry* 2002;24: 456-461
52. Gwinnett AJ. Histologic changes in human enamel following treatment with acidic adhesive conditioning agents. *Arch Oral Biol* 1971;16(7):731-738.
53. Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int* 1993;24(9):618–631
54. 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):265-273.
55. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Tay FR, Oguchi H et al. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. *J Dent* 2002;30(2-3):99-105.
56. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res* 2003;82(2):141-145.
57. Kanca J. Wet bonding effect of drying time and distance. *American Journal of Dentistry* 1996; 9:273-276.
58. Gwinnett AJ, Tay F, Weis. Bridging the gap between: Overly dry and overwet bonding phenomenon optimization of dentin hybridization and tobolar seal. *Quintessence International*, 1996;359-363.
59. Kanca J. Resin bonding to wet substrate. 1. Bonding to dentin. *Quintessence Int* 1992;23(1):39-41.
60. Tyas MJ, Burrow MF. Adhesive restorative materials: a review. *Aust Dent J* 2004;49(3):112-121.
61. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995;20(1):18-25.
62. Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B, et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995;20(4):160-167.
63. Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater* 2001;17(4):296-308.
64. Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater* 1994;10(4):236-240.

65. Yoshiyama M, Carvalho R, Sano H, Horner J, Brewer PD, Pashley DH. Interfacial morphology and strength of bonds made to superficial versus deep dentin. *Am J Dent* 1995;8(6):297-302.
66. Hashimoto M, Fujita S, Kaga M, Yawaka Y. In vitro durability of one-bottle resin adhesives bonded to dentin. *Dent Mater J* 2007;26(5):677-686.
67. Tay FR, Pashley DH. Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent* 2003;16(1):6-12.
68. Pashley DH, Tay FR. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: Etching effects on unground enamel. *Dent Mater* 2001;17(5):430-444.
69. Dayangaç, B. Kompozit Restorasyonlar: Quintessence Yayıncılık; 2011.
70. Şengün A, Yalçın M, Kocabaşoğlu A. Yedinci Jenerasyon Adeziv Sistemlerin Dentine Makaslama Bağlanma Dayanımlarının Karşılaştırılması 2009;19(3):156-160.
71. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H et. al. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res* 2004;83(6):454-458.
72. Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, Fernandes CA, Tay F. The micro-tensile bond test: a review. *Journal of Adhesive Dentistry* 1999;1:299-309.
73. 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):906-911.
74. Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Snauwaert J, Hellems L, Lambrechts P, Vanherle G. Evidence of chemical bonding at biomaterial hard tissue interfaces. *J Dent Res* 2000;79:709-714
75. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dent Mater* 2005;21:864-881.
76. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater* 2010;26(2):100-121.

77. Abdalla AI, El Zohairy AA, Aboushelib MM, Feilzer AJ. Influence of thermal and mechanical load cycling on the microtensile bond strength of self-etching adhesives. *Am J Dent* 2007;20(4):250-254.
78. Salz U, Bock T. Testing adhesion of direct restoratives to dental hard tissue – a review. *J Adhes Dent* 2010;12(5):343-371
79. 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):50-62.
80. Birdekal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol* 1993;64:474-484.
81. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biological Chemistry* 1997;378:151–160.
82. Ryan ME, Golub LM. Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy. *Periodontol* 2000;24:226–238.
83. Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodont Res* 1993;28:500-510.
84. Reel B. Matriks Metalloproteinaz Enzimleri ve Ateroskleroz. *Türkiye Klinikleri J Med* 2006;26: 527–537.
85. Folgueras AR, Pendás AM, Sánchez LM, López-Otín C. Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies. *Int J Dev Biol* 2004;48:411-424.
86. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005;9:267-285.
87. Pilcher BK, Dumin JA, Sudbeck BD, Krane SM, Welgus HG, Parks WC. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J Cell Biol* 1997;137:1445-1457.
88. Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci* 1962;48:1014-1022.
89. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003;92:827-839
90. Lynch CC, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases in tumor-host cell communication. *Differentiation*.2002;70(9-10):561-573.
91. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Diseases* 2004;10:311-318.

92. Woessner JF. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FSAB J* 1991;5:2145-2154.
93. Brew K, Dinakarpanthian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 2000;1477: 267-283.
94. Varun BR, Nair BJ, Sivakumar TT, Joseph AP. Matrix metalloproteinases and their role in oral diseases: A review. *Oral Maxillofac Pathol J* 2012;3:186-191.
95. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol* 1997;74:111-122.
96. Coussens LM, Fingleton B. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science* 2002;295:2387-2392.
97. Galardy R, Cassabonne M, Giese C, Gilbert J, Lapierre F, Lopez H et al. Low molecular weight inhibitors of corneal ulceration. *Ann N Y Acad Sci* 1994;732:315-323.
98. Chaussain-Miller C, Fioretti G, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res* 2006;85:22-32
99. Ryan ME, Rammamurthy S, Golup LM. Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment. *Curr Opin Periodontol* 1996;3:85-96.
100. Golub LM, Sorsa T, Lee HM, Ciancio S, Sorbi D, Ramamurthy NS, Gruber B, Salo T, Kontinen YT. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J Clin Periodontol.* 1995;22(2):100-109.
101. Golub LM, Lee HM, Ryan ME, Giannobile WV, Payne J, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res* 1998;12:12-26.
102. 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):1622-1629.
103. Van Strijp AJ, Jansen DC, DeGroot J, ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. *Caries Res.* 2003;37(1):58-65.
104. Martin de Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Arch Oral Biol* 2000;45:757-765.

105. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, Enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res* 2002;81:603-607.
106. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83(3):216-221.
107. Dayan D, Binderman I, Mechanic GL. A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix. *Arch Oral Biol*. 1983;28(2):185-187.
108. Wahlgren J, Salo T, Teronen O, Luoto H, Sorsa T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and periapical root-canal exudates. *Int Endod J* 2002;35:897-904.
109. Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odont Scand* 2007;65:1-13.
110. Mazzoni A, Mannello F, Tay FR et. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res* 2007;86:436-440.
111. Mazzoni A, Pashley DH, Tay FR. Immunohistochemical identification of MMP-2 and MMP-9 in human dentin: correlative FEI-SEM/TEM analysis. *J Biomed Mater Res* 2009;88:697–703.
112. Mazzoni A, Papa V, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Ruggeri A Jr et al. Immunohistochemical and biochemical assay of MMP-3 in human dentine. *J Dent* 2011;39(3):231–237.
113. Boushell LW, Kaku M, Mochida Y, Bagnell R, Yamauchi M. Immunohistochemical localization of matrix metalloproteinase-2 in human coronal dentin. *Arch Oral Biol* 2008;53(2):109-116.
114. Boukpepsi T, Menashi S, Camoin L, Tencate JM, Goldberg M, Chaussain-Miller C. The effect of stromelysin-1 (MMP-3) on non-collagenous extracellular matrix proteins of demineralized dentin and the adhesive properties of restorative resins. *Biomaterials* 2008;29(33):4367–4373.
115. Shimada Y, Ichinose S, Sadr A, Burrow MF, Tagami J. Localization of matrix metalloproteinases (MMPs-2,8,9 and 20) in normal carious dentine. *Aust Dent J* 2009;54(4):347–354.
116. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldini S et al. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation

by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater* 2013;29(1):116–135.

117. Charadram N, Farahani RM, Harty D, Rathsam C, Swain MV, Hunter N. Regulation of reactionary dentin formation by odontoblasts in response to polymicrobial invasion of dentin matrix. *Bone* 2012;50(1):265-275.

118. Bartlett JD, Beniash E, Lee DH, Smith CE. Decreased mineral content in MMP-20 null mouse enamel is prominent during the maturation stage. *J Dent Res* 2004;83:909-913.

119. Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T et al. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *J Dent Res* 2001;80(6):1545-1549.

120. Van Strijp AJ, Van Steenberghe TJ, Ten Cate JM. Bacterial colonization of mineralized and completely demineralized dentine in situ. *Caries Res* 1997;31(5):349-355.

121. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Montecelli F, Osotio R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin. *JOE* 2006;32(9):862-868.

122. Carrilho MR, Geraldini S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 2007;86:529-533.

123. Mazzoni A, Nascimento FD, Carrilho M, Tersariol I, Papa V, Tjäderhane L et al. MMP activity in the hybrid layer detected with in situ zymography. *J Dent Res* 2012;91(5):467-472.

124. 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):90-101.

125. Zhang SC, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci* 2009;1:163-176.

126. Fedarko NS, Jain A, Karadag A, Fisher LW. Three small integrin binding Ligand N- linked glycoproteins (SIBLINGs) bind and activate specific matrix metalloproteinases. *Faser J* 2004;18:734-736.

127. Ingman T, Sorsa T, Lindy O, Koski H, Konttinen YT. Multiple forms of gelatinases type IV collagenases in saliva and gingival crevicular fluid of periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1994;21:26-31.
128. Vuotila T, Ylikontiola L, Sorsa T, Luoto H, Hanemaaijer R, Salo T et al. The relationship between MMPs and pH in whole saliva of radiated head and neck cancer patients. *J Oral Pathol Med* 2002;31:329-338.
129. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005;84(8):741-746.
130. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjaderhane L, Carvalho RM, Carrilho M et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater* 2011;27(1):1-16.
131. Tjaderhane L, Sulkala M, Sorsa T, Teronen O, Larmas M, Salo T. The effect of MMP inhibitor Metastat on fissure caries progression in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1999;878:686-688.
132. Lauhio A, Salo T, Tjaderhane L, Lahdevirta J, Golub LM, Sorsa T. Tetracyclines in treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet* 1995;346(8975):645-646.
133. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjaderhane L et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. *Dent Mater* 2010;26(4):320-325.
134. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjaderhane L et al. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater* 2010;26(6):571-578.
135. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Tay FR, Pashley DH. The inhibitory effect of polyvinylphosphonic acid on functional matrix metalloproteinase activities in human demineralized dentin. *Acta Biomater* 2010;6(10):4136-4142.
136. Sabatini C. Effect of a chlorhexidine-containing adhesive on dentin bond strength stability. *Operative Dentistry* 2013;38(6):609-617.
137. Garcia MB, Carrilho MR, Nor JE, Anauate-Netto C, Anido-Anido A, Amore R, Tjaderhane L, Bretz WA. Chlorhexidine inhibits the proteolytic activity of root and coronal carious dentin. *Caries Research* 2009;43(2):92-96.
138. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6(3):437-439.

139. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 1986;57(6):370-377.
140. Kidd EA. Role of chlorhexidine in the management of dental caries. *Int Dent J* 1991;41(5):279-286.
141. Chibinski, A.C, Pochapski, M.T, Farago, P.V, Santos, F.A, Czlusniak, G.D. Clinical evaluation of chlorhexidine for the control of dental biofilm in children with special needs. *Community Dent Health* 2011; 28(3):222-226.
142. Brannstrom M, Nyborg H. Cavity treatment with a microbicidal fluoride solution: growth of bacteria and effect on the pulp. *J Prosthet Dent* 1973;30(3):303-310.
143. Al-Omari WM, Al-Omari QD, Omar R. Effect of cavity disinfection on postoperative sensitivity associated with amalgam restorations. *Oper Dent* 2006;31(2):165-170.
144. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira, FB, Zaia AA, Valdrighi L et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J* 2006;36(4):267-275.
145. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. *Oper Dent* 2007;32(2):107-111.
146. Brackett MG, Tay FR, Brackett WW, Dib A, Dipp FA, Mai S, Pashley D. In vivo chlorhexidine stabilization of hybrid layers of an acetone-based dentin adhesive. *Operative Dentistry* 2009;34(4):379-383.
147. Ricci HA, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds *European Journal of Oral Sciences* 2010;118(4):411-416.
148. Stanislawczuk R, Reis A, Loguercio AD. A 2-year in vitro evaluation of a chlorhexidine-containing acid on the durability of resin-dentin interfaces. *Journal of Dentistry* 2011;39(1):40-47.
149. Carvalho RM, Tjäderhane L, Manso AP, Carrilho MR, Augusto C. Dentin as a bonding substrate. *Endodontic Topics* 2012;21(1):62-88.
150. Zhou J, Tan J, Chen L, Li D, Tan Y. The incorporation of chlorhexidine in a two-step self-etching adhesive preserves dentin bond in vitro. *J Dent* 2009;37:807-12.

151. Zhou J, Tan J, Yang X, Xu X, Li D, Chen L. MMP-inhibitory effect of chlorhexidine applied in a self etching adhesive. *Journal of Adhesive Dentistry* 2011;13(2):111-115.
152. Stanislawczuk R, Reis A, Malaquias P, Pereira F, Farago PV, Meier MM, & Loguercio AD. Mechanical properties and modeling of drug release from chlorhexidine-containing etch-and-rinse adhesives. *Dental Materials* 2014;30(4):392-399.
153. Stanislawczuk R, Pereira F, Munoz MA, Luque I, Farago PV, Reis A, Loguercio AD. Effects of chlorhexidine-containing adhesives on the durability of resin dentine interfaces. *Journal of Dentistry* 2014;42(1):39-47.
154. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Russell CM, Pashley DH. Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. *J Dent Res* 1995;74:1093-1102.
155. Osorio R, Erhardt MCG, Pimenta LAF, Osorio E, Toledano M. EDTA treatment improves resin dentin bonds resistance to degradation. *J Dent Res* 2005;84:736-740.
156. Sauro S, Toledano M, Aguilera FS, Mannocci F, Pashley DH, Tay FR, Watson TF, Osorio R. Resin dentin bonds to EDTA-treated vs. acid-etched dentin using ethanol wet-bonding. *Dent Mater* 2010;26:368-379.
157. Vagish Kumar, L.S. Propolis in dentistry and oral cancer management. *N Am J Med Sci* 2014;6:250–259.
158. Dziedzic A, Kubina R, Wojtyczka RD, Kabała-Dzik A, Tanasiewicz M, Morawiec T. The antibacterial effect of ethanol extract of Polish propolis on mutans streptococci and lactobacilli isolated from saliva. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013;2013:681-891.
159. Coutinho A. Honeybee propolis extract in periodontal treatment: A clinical and microbiological study of propolis in periodontal treatment. *Indian J Dent Res* 2012;23:294.
160. Önçağ Ö, Çoğulu D, Uzel A, Sorkun K. Efficacy of propolis as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. *Gen Dent* 2006;54:319-322.
161. Martin MP, Pileggi R. A quantitative analysis of Propolis: a promising new storage media following avulsion. *Dent Traumatol* 2004;20:85-89.

162. Grunberger D, Banerjee R, Eisinger K, Oltz EM, Efros L, Caldwell M, Estevez V, Nakanishi K. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia* 1988;44(3):230-232.

163. Ozturk G, Ginis Z, Akyol S, Erden G, Gurel A, Akyol O. The anticancer mechanism of caffeic acid phenethyl ester (CAPE): review of melanomas, lung and prostate cancers. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012;16(15):2064-2068.

164. Frenkel K, Wei H, Bhimani R, Ye J, Zadunaisky JA, Huang MT, Ferraro T, Conney AH, Grunberger D. Inhibition of tumor promoter-mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. *Cancer Res* 1993;53:1255-1261.

165. Bhimani RS, Troll W, Grunberger D, Frenkel K. Inhibition of oxidative stress in HeLa cells by chemopreventive agents. *Cancer Res.* 1993; 53: 4528-4533

166. Lee SK, Song L, Mata-Greenwood E, et al. Modulation of in vitro biomarkers of the carcinogenic process by chemopreventive agents. *Anticancer Res.* 1999;19:35-44

167. Natarajan K, Singh S, Burke TR Jr, Grunberger D, Aggarwal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF- κ B. *Proc. Natl. Acad. Sci* 1996;93,9090-9095.

168. Özyurt H, Irmak MK, Akyo O, Sogut S. Caffeic acid phenethyl ester changes the indices of oxidative stress in serum of rats with renal ischemia-reperfusion injury. *Cell Biochem Funct* 2001; 19: 259-263

169. Lee YJ, Liao PH, Chen WK, Yang CY. Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on oral cancer cells. *Cancer Lett.* 2000; 153:51-56

170. Kuo YY, Jim WT, Su LC, Chung CJ, Lin CY, Huo C et al. Caffeic Acid Phenethyl Ester is a Potential Therapeutic Agent for Oral Cancer. *Int J Mol Sci* 2015;16(5):10748-10766.

171. Jin UH, Chung TW, Kang SK, Suh SJ, Kim JK, Chung KH, et al. Caffeic acid phenyl ester in propolis is a strong inhibitor of matrix metalloproteinase-9 and invasion inhibitor: isolation and identification. *Clin Chim Acta* 2005;362:57-64

172. Wang Y, Li de L, Zhang XB, Duan YH, Wu ZH, Hao DS, Chen BS, Qiu GX. Increase of TNF α -stimulated osteoarthritic chondrocytes apoptosis and decrease of matrix metalloproteinases 9 by NF- κ B inhibition. *Biomed Environ Sci* 2013;26(4):277-283.

173. Uçan MC, Koparal M, Ağaçayak S. Influence of caffeic acid phenethyl ester on bone healing in a rat model. *J Int Med Res.* 2013;41(5):1648–1654.
174. Günay A, Arpag OF, Atilgan S, Yaman F, Atalay Y, Acikan İ. Effects of caffeic acid phenethyl ester on palatal mucosal defects and tooth extraction sockets. *Drug Design, Development and Therapy* 2014;8:2069–2074.
175. Djurica G, Danilovic V, Krsljak E. The effect of caffeic acid phenethyl ester on healing capacity and repair of the dentin-pulp complex: *in vivo* study. *Acta Veterinaria* 2008;58:99-108.
176. Woronko G, Germain H, Meiers J. Effect of dentin primer on the shear bond strength between composite resin and enamel. *Oper Dent.* 1996;21:116-121.
177. Manuja N, Nagpal R, Pandit IK. Dental adhesion: mechanism, techniques and durability. *J Clin Pediatr Dent.* 2012;36(3):223-234
178. Strobel S, Hellwig E. The effects of matrix-metallo-proteinases and chlorhexidine on the adhesive bond. *Swiss Dent J.* 2015;125(2):134-45.
179. Zheng P, Zaruba M, Attin T, Wiegand A. Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin. *Oper Dent.* 2015;40(1):80-86.
180. Tezvergil-Mutluay A, Mutluay MM, Gu LS, Zhang K, Agee KA, Carvalho RM et al. The anti-MMP activity of benzalkonium chloride. *J Dent* 2011;39(1):57–64.
181. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Uchiyama T, Tjaderhane L, Breschi L et al. Inhibition of MMPs by alcohols *Dental Materials* 2011;27(9):926-933.
182. Yoshikawa T, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Pashley DH. Effects of dentin depth and cavity configuration on bond strength. *J Dent Res.* 1999;78(4):898-905.
183. Perdigão, J. New developments in dental adhesion. *Dental Clinics of North America* 2007;51(2):333-357.
184. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003;28(3):215-235.
185. Bekes K, Boeckler L, Gernhardt CR, Schaller HG. Clinical performance of a self-etching and a total-etch adhesive system -2-year results. *J Oral Rehabil* 2007;34:855-861.

186. Frankenberger R, Tay FR. Self-etch vs etch-and-rinse adhesives: effect of thermo-mechanical fatigue loading on marginal quality of bonded resin composite restorations. *Dent Mater*. 2005;21(5):397-412
187. Soares CJ, Pereira CA, Pereira JC, Santana FR, do Prado CJ. Effect of chlorhexidine application on microtensile bond strength to dentin. *Oper Dent* 2008;33:183-188.
188. Mitra SB, Wu D, Holmes BM. An application of nanotechnology in advanced dental materials. *J Am Dent Assoc* 2003;134:1382-1390.
189. Ferracane DJ, Adoy P, Matsimo H, Mark VA. Relationship between shade and depth of cure for light-cured composites. *Dent Mater* 1988;2:80-84.
190. Lacy AM, Young DA. Modern concepts and material for the pediatric dentistry. *Pediatr Dent* 1996;18:469-475.
191. Pinzon LM, Powers JM, O'Keefe KL, Dusevish V, Spencer P, Marshall GW. Effect of mucoprotein on the bond strength of resin composite to human dentin. *Odontology*. 2011;99(2):119-128.
192. Hasshoff G, Schneider H, Merte K. Tooth-composite interface from specific and nonspecific adhesive restorative systems. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004;71(1):38-45.
193. Hansen SE, Swift EJ. Microleakage with gluma: effects of unfield resin polymerisation and storage time. *Am J Dent* 1989;2:266-268.
194. Tay FR, Gwinnet AJ, Pang KM, Wei SHW. Variability in microleakage observed in a total etch wet-bonding technique under different handling conditions. *J Dent Res*.1995;74:1168-1178.
195. Van Meerbeek B, Peumans M, Verschueren M. Clinical status of ten dentin adhesiv systems. *J Dent Res*. 1994;73:1690-1702.
196. Retief DH. Standardizing laboratory adhesion tests. *Am J Dent* 1991;4(5):231-236.
197. Gökay O, Yılmaz F, Akın S. Saklama solüsyonlarının kompozit rezinlerin mikrosızıntısı üzerine etkileri. *T Klin Diş Hek Bil* 1998;4:41-47.
198. International Organization For Standardization. Dental Materials-Guidance On Testing Of Adhesion To Tooth Structure. ISO TR 11405; 2003.
199. 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):78-93.

200. Van Landuyt KL, Peumans M, Fieuw S, De Munck J, Cardoso MV, Ermis RB, Lambrechts P, Van Meerbeek B. A randomized controlled clinical trial of a HEMA-free all-in-one adhesive in non-carious cervical lesions at 1 year. *J Dent* 2008;36(10):847-855.

201. Van Meerbeek B, Kanumilli PV, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Peumans M. A randomized, controlled trial evaluating the three-year clinical effectiveness of two etch & rinse adhesives in cervical lesions. *Oper Dent* 2004;29(4):376-385.

202. Sano H. Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. *J Dent Res*, 2006;85:11-14.

203. Poitevin A, De Munck J, Van Landuyt K, Coutinho E, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Critical analysis of the influence of different parameters on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. *J Adhes Dent*. 2008;10(1):7-16

204. Reis A, de Oliveira Bauer JR, Loguercio AD. Influence of crosshead speed on resin-dentin microtensile bond strength. *J Adhes Dent* 2004;6(4):275-278.

205. Hara AT, Pimenta LA, Rodrigues AL. Influence of crosshead speed on resin-dentin shear bond strength. *Dent Mater* 2001;17:165-169.

206. Leitune VC, Portella FF, Bohn PV, Collares FM, Samuel SM. Influence of chlorhexidine application on longitudinal adhesive bond strength in deciduous teeth. *Braz Oral Res*. 2011;25(5):388-392.

207. Sharma V, Rampal P, Kumar S. Shear bond strength of composite resin to dentin after application of cavity disinfectants - SEM study. *Contemp Clin Dent* 2011;2 (3):155-159.

208. De Munck J, Mine A, Van den Steen PE, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G. Enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces produced by mild self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci* 2010;118(5):494-501.

209. Campos EA, Correr GM, Leonardi DP, Pizzatto E, Morais EC. Influence of chlorhexidine concentration on microtensile bond strength of contemporary adhesive systems. *Braz Oral Res* 2009;23(3):340-345.

210. Manfro AR, Reis A, Loguercio AD, Imparato JC, Raggio DP. Effect of different concentrations of chlorhexidine on bond strength of primary dentin. *Pediatric Dentistry* 2012;34(2):11-15.

211. Simões DM, Basting RT, Amaral FL, Turssi CP, França FM. Influence of chlorhexidine and/or ethanol treatment on bond strength of an etch-and-rinse adhesive to dentin: an in vitro and in situ study. *Oper Dent*. 2014;39(1):64-71.

212. Perdigão J, Eiriksson S, Rosa BT, Lopes M, Gomes G. Effect of calcium removal on dentin bond strengths. *Quintessence Int* 2001;32(2):142-146.

213. Santos JN, Carrilho MR, De Goes MF, Zaia AA, Gomes BP, Souza-Filho FJ, Ferraz CC. Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. *J Endod* 2006;32(11):1088-1090.

214. Betamar N, Cardew G, Van Noort R. Influence of specimen designs on the microtensile bond strength to dentin. *J Adhes Dent* 2007; 9(2):159-168.

215. Reis A, Loguercio AD, Azevedo CL, de Carvalho RM, da Julio Singer M, Grande RH. Moisture spectrum of demineralized dentin for adhesive systems with different solvent bases. *J Adhes Dent* 2003;5(3):183-192.

EK 1

OLGU RAPOR FORMU

ADI- SOYADI:

TARİH:

DOĞUM TARİHi:

CİNSİYETİ:

TEL:

ADRES:

Uygulama yapılacak Diş No :

Uygulanan materyaller :

- 1: CAPE+Total-etch adeziv (Syntac) ve kompozit
- 2: Total-etch adeziv (Syntac) ve kompozit (kontrol grubu)
- 3: CAPE+Self-etch adeziv (AdheSE) ve kompozit
- 4: Self-etch adeziv (AdheSE) ve kompozit (kontrol grubu)

	Vestibül		Palatinal/Lingual	
	Mezyal	Distal	Mezyal	Distal
Uygulanan materyal				

Materyallerin uygulandığı tarih:

Dişin çekim tarihi:

MİKROGERİLİM DAYANIM TESTİ BULGULARI:

Grup 1:

Test çubukları	Uygulanan kuvvet (Newton)	Yüzey alanı (mm ²)	Gerilim değeri (MPa) Newton/ mm ²
1			
2			
3			
4			
5			

Grup 2:

Test çubukları	Uygulanan kuvvet (Newton)	Yüzey alanı (mm ²)	Gerilim değeri (MPa) Newton/ mm ²
1			
2			
3			
4			
5			

Grup 3:

Test çubukları	Uygulanan kuvvet (Newton)	Yüzey alanı (mm ²)	Gerilim değeri (MPa) Newton/ mm ²
1			
2			
3			
4			
5			

Grup 4:

Test çubukları	Uygulanan kuvvet (Newton)	Yüzey alanı (mm ²)	Gerilim değeri (MPa) Newton/ mm ²
1			
2			
3			
4			
5			

EK 2

ETİK KURUL RAPORU





ÖZGEÇMİŞ

09.05.1982 tarihinde İzmir’de doğdum. İlköğrenimimi Hakimiyeti Milliye İlkokulu’nda bitirdikten sonra orta öğrenimimi Alsancak Ortaokulu ve lise öğrenimimi Selma Yiğitalp Lisesi’nde tamamladım. 2001 yılında Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nde eğitimime başladım ve 2008 yılında mezun oldum. 2009 yılında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü’ne bağlı olarak Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı’nda doktora programına başladım.

