

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**NANO BOYUTLU HİDROKSİAPATİT DOLDURUCULARIN ADEZİV
REZİNLERİN REMİNERALİZASYON ETKİNLİKLERİ VE MİKRO
GERİLİM BAĞLANMA DAYANIMLARINA ETKİSİ**

Dt. Fevzi KAVRIK
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ

II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Dilşah ÇOĞULU

2018-İZMİR

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**NANO BOYUTLU HİDROKSİAPATİT DOLDURUCULARIN
ADEZİV REZİNLERİN REMİNERALİZASYON ETİNLİKLERİ
VE MİKRO GERİLİM BAĞLANMA DAYANIMLARINA ETKİSİ**

**Dt. Fevzi KAVRIK
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ**

**II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Dilşah ÇOĞULU**

**Bu tez İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 2015-TDR-SABE-0014 Proje numarası ile
desteklenmiştir.**

2018- İZMİR

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Pedodonti Anabilim Dalı Doktora Programı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21 / 12 / 2018

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Ana Bilim Dalı

II. Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilşah ÇOĞULU

Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Ana Bilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Behiye BOLGÜL

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Ana Bilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Nazan ERSİN

Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Ana Bilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Mehmet Sertaç PEKER

Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Ana Bilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Bilal YAŞA

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Ana Bilim Dalı

ONAY: Bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet KOYU
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**
(Bu seçenekte teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)
- **Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç)**
(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.)
- **Tezimin/Raporumun..... tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**
- **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

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

Fevzi KAVRIK

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Tez Danışmanım **Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ** danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve İzmir Kâtip elebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

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

Fevzi KAVRIK

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim, bu çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve sonuçlandırılmasında büyük pay sahibi olan, sevgisini ve desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ'a,

Ortak doktora programı vesilesi ile birlikte çalışma fırsatı bulduğum, doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen ve destekleyen ikinci tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Dilşah ÇOĞULU'ya,

Doktora tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasında bana yardımcı olan İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Bülent ÖZKAN'a ve Doç. Dr. Ferhan ELMALI'ya,

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Merve AKÇAY'a,

Eğitimim süresince birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Pedodonti Anabilim Dalı bölüm arkadaşlarıma ve bölüm personeline,

Son olarak; hayatım boyunca yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

NANO BOYUTLU HİDROKSİAPATİT DOLDURUCULARIN ADEZİV REZİNLERİN REMİNERALİZASYON ETKİNLİKLERİ VE MİKRO GERİLİM BAĞLANMA DAYANIMLARINA ETKİSİ

Giriş-Amaç: Bu çalışmanın amacı, farklı oranlarda nano boyutlu hidroksiapatit doldurucu içeren dentin bağlayıcı ajanların, nano indentasyon analizi, konfokal lazer taramalı mikroskopisi (KLTM) ve taramalı elektron mikroskopisi ve enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (SEM-EDS) yöntemleri yardımı ile remineralizasyon etkinliklerinin ve mikro gerilim bağlanma dayanımlarının (μ TBS) değerlendirilmesidir.

Materyal-Metot: Çalışmada 360 tanesi remineralizasyon etkinliğinin değerlendirilmesinde, 32 adedi ise bağlanma dayanımı testinde kullanılmak üzere 392 adet çürüksüz daimi molar diş kullanıldı. Çalışma %2 HA (ağırlıkça %2 oranında hidroksiapatit doldurucu içerir), %5 HA, %7 HA ve kontrol (doldurucu ihtiva etmez) grubu olmak üzere dört gruptan oluşturuldu. Nano boyutlu hidroksiapatit doldurucu, ultrasonik bir karıştırıcı yardımı ile Scotchbond Multi-Purpose (SBMP) adeziv sistemin adeziv rezinine karıştırıldı. Diş örnekleri, mid koronal dentin açığa çıkacak şekilde hassas kesme cihazı yardımı ile kesildi. Asit etch ve dentin primer uygulanmasını takiben çalışma gruplarına göre adeziv rezinler uygulandı ve 4mm kalınlıkta rezin kompozit ile restore edildi. 120 adet diş 24 saat süre ile 120 adet diş 30 gün süre ile 120 adet diş ise 90 gün süre ile olmak üzere üç ayrı zaman dilimi için simüle edilmiş vücut sıvısında inkübe edildi. Dentin dokusunun sertlik ve elastisite değerleri üç ayrı zaman dilimi için nano indentasyon yöntemi ile elde edildi (n=120). Mineral depozisyon alanlarının tespiti ve ölçümü KLTM yöntemi ile elde edildi (n=120). Dentin dokusunun elemental analizi SEM-EDS ile gerçekleştirildi (n=120). μ TBS analizi için restore edilen 32 adet diş her grupta 8 adet olmak üzere çalışma gruplarına göre ayrıldı. Dişler 1mm² lik kesitler elde edilecek şekilde hassas kesme cihazı ile kesildi ve immedat olarak universal test cihazı yardımı ile gerilime maruz bırakıldı.

Kopma değerleri ve kırık tipleri kaydedildi. Elde edilen tüm veriler istatistiksel olarak analiz edildi ($\alpha=0,05$).

Bulgular: Nano indentasyon analizine ait elastisite modülü bulgularına göre 90 günlük inkübasyon periyodu sonrası 1. ölçüm noktasında %7 HA grubu, diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$), diğer gruplar arası fark ise istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı ($p>0,05$). 1 gün ve 30 gün inkübasyon süresi sonrası ise 1. ölçüm noktasında gruplar arasında anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$). Sertlik modülü bulgularına göre; 1 gün ve 90 gün inkübasyon periyodu sonrası 1. ölçüm noktasında gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmazken ($p>0,05$), 30 gün inkübasyon periyodu sonrası ise 1. ölçüm noktasında %2 HA ve %7 HA grupları arasında anlamlı farklılık görüldü ($p=0,031$). KLTM analizi bulgularına göre; inkübasyon periyoduna bağlı olarak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edildi ($p=0,02$). 90 gün inkübasyon periyodu sonrası en yüksek mineral depozisyon değerleri %7 HA grubunda gözlemlendi. EDS analizi bulgularına göre Ca içeriği değerlerinin grup ve inkübasyon periyodu bağımsız değişkenlerinden etkilendiği ($p=0,00$), P içeriği değerlerinin grup ve inkübasyon periyodu bağımsız değişkenlerinden etkilendiği ($p=0,00$) ve Ca/P oranı değerlerinin grup ve bekleme süresi bağımsız değişkenlerinden etkilendiği ($p=0,017$) tespit edildi. Mikro gerilim bağlanma dayanımı bulgularına göre ise %7 HA grubuna ait bağlanma değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). Diğer gruplar arası fark ise istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p>0,05$). Ki kare analizine göre ise kırık tipi açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Sonuç: Hidroksiapatit doldurucuların adeziv rezinlerin remineralizasyon etkinliği üzerine olumlu etki oluşturduğu görüldü. HA içeren adeziv rezinlerin remineralizasyon etkinliği ve bağlanma dayanımı açısından en iyi sonuçların %7 HA grubunda olduğu tespit edildi. HA doldurucuların, adeziv rezinlerin immedat bağlanma dayanımı üzerine olumsuz etki oluşturmadığı, %7 oranında HA doldurucu kullanımının adeziv rezinlerin bağlanma dayanımının arttığı görüldü.

Anahtar kelimeler: Adeziv rezin, biyomimetik remineralizasyon, nano hidroksiapatit

ABSTRACT

EFFECT OF NANO-SIZED HYDROXYAPATITE FILLER ON REMINERALIZATION EFFICACY AND MICRO TENSILE BOND STRENGTH OF ADHESIVE RESINS

Introduction: The purpose of this study was to evaluate the remineralization efficacy of dentin bonding agents containing nano-sized hydroxyapatite filler by nano indentation, confocal laser scanning microscopy (KLTM), energy dispersive x-ray spectroscopy (SEM-EDS) and micro-tensile bond strength (μ TBS).

Materials and Methods: In the study, 360 teeth for evaluation of remineralization efficacy and 32 teeth for micro tensile bond strength test, totally 392 noncarious permanent molar teeth were used. The study consists four groups. 2% HA: containing 2% wt. hydroxyapatite (HA), 5% HA, 7% HA and control: no filler contain. Nano hydroxyapatite powder was mixed with Scotchbond Multi-Purpose (SBMP) adhesive by ultrasonic mixer. The teeth were sectioned one millimeter over the cemento-enamel junction by low-speed diamond blade under water cooling to expose mid coronal dentin. After acid etching and primer application bonding agents were applied in accordance with the manufacturer's instructions. Following dentin bonding application, 4 mm thick resin composite restoration was applied incrementally for each tooth. After restorative procedure, 120 teeth for 24 hours, 120 teeth for 30 days and 120 teeth for 90 days were incubated in simulated body fluid. Hardness (Hi) and elasticity (Ei) modules of dentine tissue were obtained by nano indentation method for three different time periods (n=120). Detection and measurement of mineral deposition areas were obtained by KLTM (n=120). Elemental analysis of dentine tissue was performed with SEM-EDS (n=120). For μ TBS analysis 32 molars were randomly assigned to the four adhesive groups comprising 8 molars each. Each tooth was cut on x and y axis by low-speed diamond saw to obtain specimens. Each specimen was fixed to a testing device and stressed until failure occurred. Failure modes were recorded. The obtained of all data were analyzed statistically ($\alpha=0.05$).

Results: According to the E_i of nano indentation analysis, after 90 days of incubation period, 7% HA group at 1st measurement level was statistically higher than other groups ($p < 0.05$). The differences between 2% HA, 5% HA and control were not statistically significant ($p > 0.05$). After 1 day and 30 days incubation periods, there were no statistically significant differences between all groups at 1st measurement level ($p > 0.05$). According to H_i modulus data; after 1 day and 90 days incubation periods, there were no statistically significant differences between the groups at 1st measurement level ($p > 0.05$), but after 30 days incubation period, there were statistically significant differences between 2% HA and 7% HA groups at 1st measurement level ($p = 0.031$). According to KLTm analysis data; there were statistically significant differences between the groups depending on the incubation periods ($p = 0.02$). After 90 days incubation period, highest mineral deposition values were found in 7% HA group. According to EDS analysis data; Ca content values were influenced by group and incubation period independent variables ($p = 0.00$), P content values were influenced by group and incubation period independent variables ($p = 0.00$) and Ca/P ratio values were influenced by group and incubation period independent variables ($p = 0.017$). The maximum mean value of μ TBS was 7% HA group. The minimum mean value of μ TBS was control group. There were no statistically significant differences between control, 2% HA and 5% HA groups. According to Chi-Square analysis in terms of fracture type, there were no statistically significant differences between the test groups.

Conclusion: Hydroxyapatite fillers have positive effect on remineralization activity of adhesive resins. It was concluded that, the best results were obtained in 7% HA groups in terms of remineralization efficiency and bond strength of HA-containing adhesive resins. Adding nano hydroxyapatite to adhesive resin did not affect its immediate μ TBS values to dentin negatively and It was observed that the use of HA filler at 7% wt increased the bond strength of the adhesive resins.

Key words: Adhesive resin, biomimetic remineralization, nano-sized hydroxyapatite

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI.....	ii
ETİK BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER.....	xiii
TABLolar	xiv
RESİMLER.....	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Diş Sert Dokuları	3
2.1.1 Mine	3
2.1.2 Dentin.....	3
2.2 Diş Çürüğü.....	4
2.3 Restorasyon.....	5
2.4 Adeziv Diş Hekimliği ve Dentin Bağlayıcı Ajanların Gelişimi.....	6
2.4.1 Adezyon	6
2.4.2 Smear Tabakası.....	8
2.4.3 Asitle ve Yıka Yaklaşımı (Etch and Rinse)	8
2.4.4 Kendinden Asitli Yaklaşım (Self-Etch)	9
2.5 Dentin Bağlayıcı Ajanların Sınıflandırılması.....	9
2.6 Rezin-Dentin Ara Yüzünün Bozulmasına Neden Olan Etmenler.....	10
2.6.1 Adeziv Rezinin Polimer Yapısının Degredasyonu	10
2.6.2 Nano Sızıntı	11
2.6.3 Matriks Metallo Proteinazlar (MMP'ler).....	12
2.6.4 Sistein Katepsinler	13
2.7 Rezin-Dentin Bağlantı Ara Yüzünün Bozulmasını Önlemeye Yönelik Deneysel Stratejiler.....	14
2.7.1 Hidrofilik Adezivlerin Dönüşüm Derecesini ve Esteraz Direncini Artırma ..	15
2.7.2 Kollajenolitik Enzim İnhibitörleri.....	16
2.7.3 MMP ve Katepsin Aktivitesini Durdurabilen Çapraz Bağlı Ajanların Kullanımı	17
2.7.4 Hidrofobik Rezinler için Etonol Islatıcıların (Ethanol Wet-Bonding) Kullanımı	18
2.7.5 Kalsiyum-Şelasyon Kuru Bağlanma	19
2.7.6 Dentinin Remineralizasyonu.....	20
2.8 Remineralizasyon Etkinliğini Değerlendirilmek Amacıyla Kullanılan Yöntemler	31
2.8.1 Mikro Sertlik	31
2.8.2 Nano Sertlik (Nano İndentasyon)	32
2.8.3 Konfokal Lazer Taramalı Mikroskopisi	32
2.8.4 Taramalı Elektron Mikroskopisi ve Enerji Dağılımlı x-ışını Spektroskopisi.	33

2.8.5	Transversal Mikro Radyografi	35
2.8.6	Mikro Bilgisayarlı Tomografi	35
2.9	Dentin Bağlayıcı Ajanların Bağlanma Dayanımı Ölçüm Yöntemleri	36
2.9.1	Makro Gerilim Bağlanma Dayanımı	36
2.9.2	Mikro Gerilim Bağlanma Dayanımı	37
3.	MATERYAL VE METOT	39
3.1	Hidroksiapatit Karakterizasyon ve Partikül Boyutu Analizi	39
3.2	DeneySEL Dentin Bağlayıcı Ajanın Hazırlanması	40
3.3	Simüle Edilmiş Vücut Sıvısının Hazırlanması	45
3.4	Diş Örneklerinin Hazırlanması	46
3.5	Nano İndentasyon Analizi	47
3.6	Konfokal Lazer Taramalı Mikroskopi Analizi	50
3.7	Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi Analizi	55
3.8	Mikro Gerilim Bağlanma Dayanımı Testi	57
3.9	İstatistiksel Analiz	61
4.	BULGULAR	62
4.1	Nano İndentasyon Analizine Ait Bulgular	62
4.1.1	Elastisite Modülüne Ait Bulgular	62
4.1.2	Sertlik Modülüne Ait Bulgular	69
4.2	Konfokal Lazer Taramalı Mikroskopi Analizine Ait Bulgular	76
4.3	Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisine Ait Bulgular	84
4.3.1	Kalsiyum İçeriklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular	84
4.3.2	Fosfor İçeriklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular	91
4.3.3	Ca/P Oranlarının Belirlenmesine Ait Bulgular	98
4.4	Mikro Gerilim Bağlanma Dayanımı Analizine Ait Bulgular	104
5.	TARTIŞMA	108
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	133
	KAYNAKLAR	134
	EKLER	158
	ÖZGEÇMİŞ	160

SİMGELER VE KISALTMALAR

µm: Mikrometre
10-MDP: 10-Metakriloksidil dihidrojen fosfat
45S5: Bioglass
4-AETA: 4- akriloksietil trimellitik anhidrit
4-MET: 4- metakriloiloksietil trimellitik asit
4-META: 4-Metakriloiloksietil trimellitit anhidrit
AKB: atomik kütle birimi
Bis GMA: Bisfenol A glisidil metakrilat
Ca/P: Kalsiyum fosfor oranı
Ca: Kalsiyum
CaP: Kalsiyum fosfat
CHX: Klorheksidin
CPP-ACP: Kazein fosfopeptit- Amorf kalsiyum fosfat
dk: dakika
DMP: Dentin matriks protein
DPP: Dentin fosfoporin
Ei: Elastisite Modülü
g: gram
GPDM: Glikofosforik asit dimetakrilat
HA: Hidroksiapatit
HCaP: hidroksikarbonize apatit
HCl: Hidroklorik asit
Hi: Sertlik Modülü
KLTM: Konfokal lazer taramalı mikroskopi
L: litre
MAC-10: Undekarboksilik asit
MANOVA: Çok yönlü varyans analizi
MDPB: Metakriloksidil piridinyum bromid
MEP: Metakriloksietil ftalat
ml: mililitre
mm: milimetre
MMP: Matriks Metallo Proteinaz
mN: milinewton
MPa: Megapascal
MPC: 2-metakriloiloksietil fosforilkolin
NCP: Nonkollajenöz protein
nm: Nanometre
°C: Santigrad derece

OH⁻: Hidroksil

One-way ANOVA: Tek yönlü varyans analizi

P: fosfor

pH: Logaritmik asidite ve bazidite değeri

PVPA: polivinil fosfonik asit

QTX: 2-hydroxy-3-(3, 4-dimethyl-9-oxo-9H-thio-xanthen-2-yloxy)-N, N, N-trimethyl-1-propanaminium chloride

SBF: Simüle edilmiş vücut sıvısı

SBMP: Scotchbond Multi-Purpose adeziv rezin

SEM/EDS: Taramalı elektron mikroskopisi ve enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi

SiOH: Silanol

s: saniye

STMP: Sodyum trimetafosfat

TMR: Transversal mikro radyografi

TPO: diphenyl (2, 4, 6-trimethylbenzoyl)-phosphine oxide

TRIS: Hidroksimetil aminometan

α : istatistiksel anlamlılık düzeyi

μ TBS: Mikro gerilim bağlanma dayanımı

ŞEKİLLER

Şekil 2-1: Nano indentasyon yönteminde kullanılan uç çeşitleri.....	32
Şekil 3-1: Diş örneklerinin hazırlanması.....	46
Şekil 3-2: Diş örneklerinden çubuk elde edilmesi	58
Şekil 4-1: Elastisite modülü değerlerinin dağılımı (HA: Hidroksiapatit)	68
Şekil 4-2: Sertlik modülü değerlerinin dağılımı (HA: Hidroksiapatit)	75
Şekil 4-3: KLTM analizi verileri (HA: Hidroksiapatit)	77
Şekil 4-4: Kalsiyum içeriği değerlerinin dağılımı (HA: Hidroksiapatit)	90
Şekil 4-5: Fosfor içeriği değerlerinin dağılımı (HA: Hidroksiapatit)	97
Şekil 4-6: Ca/P oranı değerlerinin dağılımı (HA: hidroksiapatit).....	103
Şekil 4-7: Mikro gerilim bağlanma dayanımı değerlerinin ortalama ve standart sapmaları	106
Şekil 4-8: Gruplara göre kırık tipi dağılımı (HA: Hidroksiapatit).....	106

TABLULAR

Tablo 3-1: Doldurucu içeriğine göre dentin bağlayıcı ajanlar	44
Tablo 3-2: Konfokal lazer taramalı mikroskop analizinde kullanılacak dentin bağlayıcı ajanların içeriği.....	44
Tablo 3-3: SBF hazırlamak için kullanılan kimyasal malzemeler (1 litre).....	45
Tablo 4-1: Elastisite modülü değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa).....	65
Tablo 4-2: Elastisite modülü değerlerinin gruplara göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa).....	66
Tablo 4-3: Elastisite modülü değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa).....	67
Tablo 4-4: Sertlik modülü değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa).....	72
Tablo 4-5: Sertlik modülü değerlerinin gruplara göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa).....	73
Tablo 4-6: Sertlik modülü değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa).....	74
Tablo 4-7: KLTM analizine ait mineral depozisyon alanı değerleri (Ort.±St. Sapma) (μm^2).....	77
Tablo 4-8: Kalsiyum içeriği değerlerinin bekleme süresine göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)	87

Tablo 4-9: Kalsiyum içeriği değerlerinin gruplara göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma).....	88
Tablo 4-10: Kalsiyum içeriği değerlerinin ölçüm alanlarına göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma).....	89
Tablo 4-11: Fosfor içeriği değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)	94
Tablo 4-12: Fosfor içeriği değerlerinin gruplara göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma).....	95
Tablo 4-13: Fosfor içeriği değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)	96
Tablo 4-14: Ca/P oranı değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)	100
Tablo 4-15: Ca/P oranı değerlerinin gruplara göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma).....	101
Tablo 4-16: Ca/P oranı değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)	102
Tablo 4-17: Mikro gerilim bağlanma dayanımı (μ TBS) değerlerinin ortalama ve standart sapmaları (Ort.± Std. sapma) (MPa).....	105

RESİMLER

Resim 3-1: Nano partikül boyutlu hidroksiapatit (Xi'an Realin Biotechnology Co., Xian, Shaanxi, ÇİN).....	40
Resim 4-1: 1 günlük bekleme süresi sonrası grupların KLTM analizi görüntüleri (x40 büyütme) A: Kontrol, B: %2 HA, C: %5 HA, D: %7 HA	78
Resim 4-2: 30 günlük bekleme süresi sonrası grupların KLTM analizi görüntüleri (x40 büyütme) A: Kontrol, B: %2 HA, C: %5 HA, D: %7 HA	79
Resim 4-3: 90 günlük bekleme süresi sonrası grupların KLTM analizi görüntüleri (x40 büyütme) A: Kontrol, B: %2 HA, C: %5 HA, D: %7 HA	80
Resim 4-4: 1 günlük bekleme süresi sonrası %2 HA grubu (x60 büyütme) Rhodamin B tespit boyası ile derin dentin alanlarına ait tübül kesit görüntüsü (işaretli alan)	81
Resim 4-5: 1 günlük bekleme süresi sonrası %7 HA grubu (x60 büyütme) Rhodamin B tespit boyası ile derin dentin alanlarına ait tübül kesit görüntüsü (işaretli alan)	82
Resim 4-6: 1 günlük bekleme süresi sonrası %7 HA grubu (x60 büyütme) Rhodamin B tespit boyası ile derin dentin alanlarına ait tübül kesit görüntüsü.	83
Resim 4-7: μ TBS analizine ait kırık tipi görüntüleri (x250) (AD: Adeziv rezin, D: Dentin, C. Resin kompozit) Oklar dentin dokusundaki koheziv kırılmaları göstermektedir.....	107

1. GİRİŞ

Diş çürüğü, oral bakterilerin dolaylı yollar ile neden olduğu tahribata bağlı olarak diş dokusunun, organik ve inorganik komponentlerinin yıkıma uğraması sonucu oluşan hastalıktır. En yaygın kronik hastalıkların başında gelmektedir (1). Ülkemizde ve gelişmekte olan ülkelerde, diş çürüğü temel bir sağlık problemi olarak önemini korumaktadır. Diş çürüğünün tedavisi, enfekte dokuların uzaklaştırılması ve oluşturulan kavitenin restorasyonu ile yapılmaktadır. Bu sayede kaybedilen diş dokuları tekrar kazandırılmakta ve hastanın estetik ve fonksiyonel gereksinimleri karşılanmaktadır. Restoratif tedavilerde kullanılan materyallerin büyük çoğunluğunu rezin kompozitler oluşturmaktadır (2, 3). Rezin kompozit materyallerin diş dokusuna bağlanabilmesi için bir ara katman oluşturacak bağlayıcıya ihtiyaç duyulmaktadır çünkü diş dokusu organik ve inorganik komponentlerden oluşan kompleks bir yapıdır (3, 4). Rezin kompozitlerin diş dokusuna bağlanmasını sağlamak amacıyla geliştirilen ve bu ara tabakayı oluşturmak için kullanılan materyallere dentin bağlayıcı ajanlar adı verilmektedir. Dentin bağlayıcı ajanlar, üreilmeye başlandığı ilk günlerden itibaren sürekli geliştirilmiş ve günümüzde diş dokusuna bağlanma kuvveti oldukça arttırılmıştır (5).

Rezin restorasyonların başarısını etkileyen faktörler incelendiğinde; sekonder çürük, marjinal madde kayıpları, restorasyon ya da dişte oluşan fraktürler ve mikro sızıntı başarısızlığa yol açan faktörler olarak sıralanabilir. Adeziv diş hekimliğinde rezin-dentin ara yüzünün sağlamlığı, kaygı duyulan etkenlerin başında gelmektedir (6). Rezin-dentin ara yüzünün bozulması; su absorpsiyonu, tükürük enzimleri nedeniyle metakrilat monomerleri arası bağlantıların bozulması ve endojen kaynaklı olarak dentin matriksinden salgılanan matriks metallo proteinaz (MMPs) enzimlerinin etkisiyle kollajen fibrillerin yıkılması ile oluşur (7, 8). Rezin restorasyon başarısızlıklarını ise ağırlıklı olarak sekonder çürükler oluşturmaktadır. Çünkü bahsi geçen marjinal madde kayıpları, restorasyon yada dişte oluşan fraktürler ve mikro sızıntı gibi başarısızlıkların çoğunun istenmeyen fakat beklenen sonucu sekonder çürük olmaktadır (9).

Sekonder çürük; restorasyon altında bırakılan çürük doku veya rezin restorasyonlarda meydana gelen büzülme ve/veya restorasyonun kırılması nedeniyle oluşan mikro sızıntıdan kaynaklı olarak dentine ulaşan mikroorganizmaların oluşturduğu çürük formasyonudur (10). Özellikle rezin restorasyonlarda polimerizasyon sırasında oluşan büzülmeye bağlı olarak dentin-adeziv ara yüzünde mikro boşluklar oluşmaktadır. Bu boşluk alanlarında oluşan bakteri ve oral sıvı girişi, sekonder çürük gelişimine sebebiyet vermektedir (11). Araştırmacılar bu olumsuz durumu engellemek amacıyla rezin materyallerin polimerizasyon büzülmesini engellemeye yönelik çalışmalar yapmaktadırlar (12-14). Sekonder çürük gelişimini engellemeye yönelik zaman içerisinde yapılan bu tip çalışmalar sadece rezin materyallerin fiziksel özelliklerini geliştirmekle sınırlı kalmamış, dentin bağlayıcı ajanları geliştirmeye yönelik araştırmalar da önemini gün geçtikçe artırmıştır. Kompozit rezin restorasyonların mikro sızıntısını önlemek, kavite sınırlarında sekonder çürük gelişimini engellemek, var olan mikroorganizmaları elimine etmek amacıyla çok sayıda bağlayıcı sistem üretilmiştir. Ancak, üretilen bu sistemler mevcut halleri ile bahsi geçen sorunları tam olarak önleyememiştir (15). Bir diğer problem ise çürükten etkilenmiş dentin dokusunun yapısındaki azalmış olan kalsiyum ve fosfat iyonları nedeniyle bağlanma kuvvetinin sağlam dentin dokusundaki kadar yüksek değerlerde elde edilememesidir. Bu çürükten etkilenmiş dokuların, remineralizasyonunu sağlamak amacıyla kalsiyum ve flor salan restoratif materyaller geliştirilmiştir (16, 17).

Dentin bağlayıcı ajanların remineralizasyon kapasitelerini geliştirmeye yönelik çalışmalar, non-invaziv diş hekimliği açısından önemlidir ve eksikliği hissedilen özelliklere sahip materyallerin geliştirilmesi tedavi kalitesinin ve ömrünün artırılması için isabetli olacaktır. Ayrıca, dişte madde kayıplarına, hatta ileri dental tedavi gereksinimlerine sebep olan, ülke için ekstra maliyet, zaman ve iş gücü kaybı anlamına gelen başarısızlıklar azaltılabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Diş Sert Dokuları

2.1.1 Mine

Diş minesi, asellüler, yüksek oranda mineralize ve kristalize bir yapıdır. İnorganik yapısını hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) oluşturur. Minenin inorganik içeriği (yaklaşık %90 inorganik yapı), dentin (yaklaşık %70 inorganik yapı) ve semente (yaklaşık %45 inorganik yapı) göre daha fazladır (18). Mine ameloblastlar tarafından üretilen vücudun en sert yapısıdır. Yapısı itibari ile mine çok az ya da hiç kollajen fibril ihtiva etmez. Minenin organik komponentini nonkollajenöz bir protein olan ve minenin organik yapısının yaklaşık %90'nını oluşturan amelogenin sağlar (18). Aşırı sert ve translüsens yapısı ile mine, dişin kron olarak tabir edilen tüm yüzeyini örter. Üretildikten sonra ameloblastların yok olması nedeniyle tamir olma ya da yeniden üretilme yeteneğine sahip değildir. Gelişen asit atakları sonucu düşen pH nedeni ile çözünmektedir ve tükürük gibi tamponlayıcı ya da remineralize edici ajanlar yardımı ile remineralize olma yetisine sahip bir dokudur (19).

2.1.2 Dentin

Dentin, ağırlıkça yaklaşık %70'i inorganik, %20'si organik matriks ve %10'u sudan oluşan sert bir dokudur. Yaşa bağlı olarak bu oranlarda farklılıklar görülebilmektedir. Dentin odontoblastlar tarafından üretilir ve inorganik kısmını hidroksiapatit oluşturur. Organik kısmının %90'nını kollajen fibril oluştururken %10'luk kısmını ise proteoglikanlar, fosfoproteinler, yağlar, büyüme faktörleri ve glikoproteinler oluşturur. Mineye göre daha elastik bir yapıya sahip olan dentin, bu özelliği ile üzerini kaplayan minenin kırılmalara karşı direncini artırır. Tübüler bir yapıya sahiptir ve dentinin yapısında bulunan suyun büyük çoğunluğu bu tübüller içerisinden yer alır. Tübüller aynı zamanda odontoblastların uzantılarını ihtiva eder (20). Bu uzantılar, pulpadan başlar ve mine dentin sınırına kadar uzanır. Uyarın

oluşumuna karşı pulpayı korumak amacıyla dentin cevabı bu odontoblast uzantıları sayesinde mine dentin sınırı boyunca oluşturulabilir. Dentin tübüleri içerisinde, pulpadaki terminal kapillerden kaynaklı olarak plazma sıvısına benzer bir sıvı akışı mevcuttur. Bu sıvının hareketinin dentin hassasiyetinin gelişmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (21). Dentin tübüleri ters koni şekilli olup çapları pulpadan koronale ilerledikçe daralma göstermektedir. Bu nedenle pulpa kısmında kanal ağzı genişliği yaklaşık 2-3 mikrometre (μm) iken, mine dentin sınırına bakan kanal ağzlarının genişlikleri yaklaşık 0,2-0,3 μm 'dir. Yine birim alana düşen dentin tübül sayısı pulpaya yakın yerlerde yaklaşık 6000/ mm^2 iken, mine dentin sınırında bu sayı yaklaşık 20000/ mm^2 'dir (22, 23). Dentin kanallarını saran dentin formuna peritübüler dentin, kanallar arasını dolduran kısmı ise intertübüler dentin olarak adlandırılır. Peritübüler dentinin kollajen içeriği intertübüler dentine göre daha azken, sertliği ise intertübüler dentine göre daha fazladır (24).

2.2 Diş Çürüğü

Diş çürüğü, diyetdeki karbonhidratların bakteriyel fermantasyonu sonucunda oluşan asidik yan ürünlerle gelişen asit ataklarına karşı, diş sert dokularının organik ve inorganik yıkımı ile sonuçlanan, kronik ve yavaş gelişen bir hastalıktır (25). Diğer bir deyişle diş yüzeyinde yer alan biyofilmde gerçekleşen metabolik olaylara bağlı olarak diş yüzeyindeki inorganik yapılarda oluşan kimyasal çözünme ve bu çözünmeyi takiben gerçekleşen organik yıkımdır (26). Organik ve inorganik yıkım diş sert dokularında geri dönüşümsüz kavitasyonların oluşması ile sonuçlanır. Diş çürüğü, mine, dentin ve sement gibi diş sert dokularında gelişebilir.

Mikroorganizmaların diş yüzeylerine ve kendi aralarında yapışmalarına olanak veren ve mikroorganizmaların organize ve etkileşim halinde bir arada bulunduğu ekstraselüler polimer yapılı matrikse biyofilm adı verilir. Mikroorganizmalar biyofilm yapısı içerisinde çevre etkenlerden korunurlar ve diş yüzeyinden kolayca uzaklaştırılmazlar (27). Biyofilm, plağın pH'ında dalgalanmalara neden olan mikrobik aktivite ile karakterizedir. Bu durum, bakteriyel asit atakları, tükürük, diş sert dokuları ve zaman faktörleri arasında bir denge oluşması ile sonuçlanır. Dolayısıyla diş yüzeyi devamlı surette biyofilm ve oral çevreyle dinamik bir denge

içerisinde bulunmaktadır. Tükürük minör ve majör tükürük bezlerinden salınan komplike bir salgıdır. Temel olarak yıkama ve kayganlaştırma etkisi ile çiğneme ve yutma sırasında gıdaların ıslanmasını ve oral dokuların korunmasını sağlar. Ayrıca içerdiği tamponlama mekanizmaları ile diş yapısının demineralizasyonunu önlerken, içerdiği iyonlar sayesinde remineralizasyona da katkı sağlamaktadır. pH, kritik bir değerin altına düştüğü zaman, öncelikle tükürük tamponlama mekanizması devreye girer ve ağız ortamının dengesinin korunmasını sağlar. Ancak pH dengelenemez ise diş yüzeyindeki mineraller çözülmeye başlar ve dişten ayrılan iyonlar pH dengesi kurulana kadar çözülmeye devam eder bu olayların neticesinde mine, dentin veya sementin demineralizasyonu oluşur. Ortam pH'ı arttıkça tükürükte çözülmüş halde olan iyonlar tekrar diş yüzeyine çökmeye başlar ve mineral kazanımı (remineralizasyon) oluşur (28, 29). Demineralizasyon ve remineralizasyon işlemi, gün boyunca sık aralıklarla gerçekleşir. Bu döngünün demineralizasyon yönünde bozulması, diş sert dokularında mineral kayıplara neden olur ve lezyon bu erken dönemde teşhis edilebilirse süreç geri döndürülebilir ve invaziv olmayan tedavi prosedürleri uygulanabilir. Ancak demineralizasyon devam ederse süreç kavite ile sonuçlanır. Bu durumda ise operatif tedavi prosedürleri yani restorasyon gereksinimi doğar (26).

2.3 Restorasyon

Diş sert dokularında gerçekleşen kayıpların estetik ve fonksiyonel olarak tekrar yerine konması dental restorasyon olarak adlandırılır. 20. yüzyılın başlarında G.V. Black'in literatürde tanımladığı kavite preparasyon prensipleri, rezin restorasyonların klinik kullanıma sunulması ile büyük oranda terk edilmiştir. Günümüzde Black'in tanımladığı "extension for prevention" yerine, preparasyonların mümkün olduğunca küçük olması gerekliliği önerilmektedir. Bu nedenle Black prensipleri klinik rutinde daha az uygulama alanı bulmaktadır. Güncel yaklaşım, demineralize dokunun gerektiği kadar uzaklaştırılması ve preparasyon sınırlarının, kullanılacak restoratif materyale göre sınırlandırılması şeklindedir. Adeziv teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak rezin restorasyonlar, günümüz diş hekimliğinde en sık tercih edilen restoratif materyallerdir. Bu materyaller, diş hekimlerinin mümkün olan en küçük

preparasyonları yapabilmesine ve diş sert dokularının korunmasına olanak vermektedir (26).

2.4 Adeziv Diş Hekimliği ve Dentin Bağlayıcı Ajanların Gelişimi

2.4.1 Adezyon

Terminolojik olarak adezyon ya da bonding (bağlanma), bir maddenin diğerine tutunmasıdır. Yüzey ya da madde "adherent" olarak adlandırılır. İki maddeyi bir arada tutan ve bu iki maddenin ayrılmasına karşı direnç gösteren ve üstüne gelen kuvveti bağlantı boyunca ileten materyal ise "adeziv" ya da "bonding" ajan olarak adlandırılır. Bağlanmanın gerçekleşebilmesi için iki adherent birbirlerine çok yakın olmalıdır. İki adherentin birbirine yakın olmasının yanı sıra adezivin yeterli ıslatabilirliğinin de olması gerekmektedir. Islatabilirliğin yeterliliği yüzey geriliminin, yüzey enerjisinden düşük olması ile gerçekleşir. Islatma, adeziv damlasının yüzey ile yaptığı açı ile karakterizedir ve temas açısı olarak adlandırılır. Eğer adeziv katı yüzey boyunca yayılmış ise temas açısı sıfırdır ve tam ıslatma gerçekleşir. Mine, öncelikli olarak yüzey enerjisi yüksek olan hidroksiapatitten oluşur, dentin ise hidroksiapatitin yanı sıra yüzey enerjisi düşük kollajen fibriller de içerir. Dentin dokusunun organik içeriğinin yanı sıra tübüler yapıda olması, tübül yapısı boyunca uzanan odontoblastik uzantıların bulunması ve yine tübül boyunca dentin sıvı akışı ve bu sıvıya bağlı olarak nemli bir doku olması, bu dokuya adezyonu daha da zor hale getirmektedir (30). Dolayısıyla mine dokusuna bağlanma, dentin dokusuna kıyasla daha iyi gerçekleşir. Ağız ortamında yüzey enerjisine etki eden bir diğer faktör ise tükürük ve içerdiği komponentlerdir. Bu nedenle dentin bağlayıcı uygulama sırasında yüzeyin olabildiğince temizlenmesi gerekmektedir. Bu sayede yüzey gerilimi azalırken yüzey enerjisi artar ve başarılı bir bağlanma gerçekleşir (31).Diş hekimliğine fosforik asit uygulamasının girişi ile bağlanma dayanımında ciddi oranda artış gerçekleşmiştir. Asit, mine yüzeyinden hidroksiapatit ayrılmasını sağlamakta ve mikro pürüzlü bir yüzey oluşumunun sağlamaktadır. Ayrıca yüzey gerilimini azaltmakta ve ıslanabilirliği artırmaktadır. Dentinde ise kollajen fibrilleri destekleyen hidroksiapatiti uzaklaştırmakta ve tübüllerin açılmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca yüzey gerilimini

azaltarak ıslanabilirliğin zor olduğu dentin yüzeyinin yüzey enerjisinin artmasına yardımcı olmaktadır (31).

Mineye bağlanma sırasında rezin bağlayıcı ajan, asit etching ile oluşturulan düzensiz yüzey ile ilk olarak mikro mekanik kilitlenme ile bağlanır. Bu mikro mekanik kilitlenme yüksek oranda dentinde de gerçekleşir. Mikro mekanik kilitlenmeye ek olarak kimyasal bağlanma ve zayıf oranda Van der Waals kuvveti, adeziv ile diş yüzeyi arasında bağlanmada rol oynar (31). Kimyasal bağlanma ise adeziv ajana Fenil-P, 10-Metakriloksidil dihidrojen fosfat (10-MDP), metakrilsoksidil piridinyum bromid (MDPB), 4- metakriloksietil trimellitat anhidrit (4-META), 4- metakriloksietil trimellitik asit (4-MET), undekarboksilik asit (MAC-10), 4- akriloksietil trimellitik anhidrit (4-AETA), metakriloksietil ftalat (MEP) gibi fonksiyonel asidik monomerlerin eklenmesi ile sağlanır. Bu fonksiyonel monomerler hidroksiapatit ile kimyasal etkileşime girerek kimyasal bağlanma sağlarlar (32).

Dentinin asitlenmesi, Fusayama'nın 1979'da asitle ve yıka (etch and rinse) konseptini tanıtmaya kadar tam anlamıyla kabul edilmemiştir (33). Bu yöntemde, yine %37'lik fosforik asit yardımı ile mine ve dentinin her ikisi de asitlenmektedir. Fusayama'nın çalışması, bu yöntemle sadece bağlantı kalitesinin artmadığını, sanılan aksine işlemin pulpada hasar oluşturmadığını da göstermiştir. Daha sonraki çalışmalarda, asitlenen dentin yüzeyi boyunca hidrofilik monomerlerin, kollajen ağına arasına girerek çok sayıda mikro kilitlenme alanı yaratarak kollajen ve rezinden oluşan "hibrit tabaka" adı verilen bir yapı oluşturduğu gösterilmiştir. 1990'lı yıllara geldiğimizde, dentinin asitlenmesi genel olarak kabul gören bir kavram haline almıştır (34).

Dentinin asitlemesi, mineye kıyasla daha fazla teknik hassasiyet gerektirmektedir. Bunun nedeni, dokunun yüksek organik içerik ve su ihtiva etmesidir. Minede asitleme işlemi sonrası hidrofobik monomerlerin iyi bir bağlantı oluşturabilmesi için yüzeyin çok iyi kurutulması gerekir. Dentinde ise asitleme sonrası yüzeyde bırakılan nem kritik bir öneme sahiptir. Eğer aşırı kurutulursa, kollajen matriks büzülür ve çöker. Bu durumda rezin, matriks boyunca akamaz ve yüzeyde başarılı bir bağlantı gerçekleşemez. Benzer şekilde yüzey çok ıslak bırakıldığında ise

rezin, matriks kompartmanlarındaki su ile yer değiştiremez ve bağlantının kalitesi düşer. Bu nedenle dentine bağlanma sırasında primer uygulaması gerekmektedir. Bu uygulama, asitleme sonrası kalan suyun uzaklaştırılması ve kollajenlerin ıslatılmasına yardımcı olan ara bir basamaktır (34).

2.4.2 Smear Tabakası

Kavite preparasyonu sırasında döner aletler ya da el aletleri ile diş yüzeyinden uzaklaştırılan çürük doku, sağlam dokuya ait mine ve dentin talaşları, kollajen fibriller, bakteri ve artıkları, tükürük komponentleri ile su gibi birçok bileşenden oluşan ve iatrojenik olarak oluşturulan tabaka smear tabakası olarak adlandırılır. Bu tabaka kavite yüzeyi boyunca uzanır, dentin tübüllerini tıkar ve rezin materyallerin bağlanmasını güçleştirir (35).

Günümüzde smear tabakasının neden olduğu zayıf bağlanma dayanımını arttırmaya yönelik iki strateji mevcuttur. Birincisi, smear tabakasının tamamen kaldırılmasıdır ki "etch and rinse" ya da "total etch" olarak adlandırılan, mine ve dentinin her ikisinin de asitlendiği asitle ve yıka prosedürüdür. İkincisi ise smear tabakasının kısmen uzaklaştırılarak, modifiye edildiği ve bağlayıcı ajanın bu tabakaya penetre olabildiği "self etch" olarak adlandırılan kendinden asitli prosedürdür (36).

2.4.3 Asitle ve Yıka Yaklaşımı (Etch and Rinse)

Asit uygulaması ile smear tabakasının tamamen uzaklaştırılmasını sağlayan ve dokuda mikro pürüzlendirme oluşturarak mekanik kilitlemeye olanak sağlayan sistemleri tanımlayan bir ifadedir. İki ya da üç basamak şeklinde uygulamaya izin veren alternatifleri mevcut olan bu sistemlerde asit ile smear tabakası ve kollajen fibrilleri destekleyen hidroksiapatit yapı uzaklaştırılmaktadır. Daha sonra rezinin bu kollajenlerin arasına akması ve difüze olması sağlanarak, oluşan mikro pöröz alanların rezin ile dolması ile mekanik kilitleme ve kollajen fibrillerin arasına giren rezinin stabil hale gelmesi ile hibrit bir yapının elde edilmesi mümkün olmaktadır. Günümüzde bağlanmanın en üst düzeyde sağlanabildiği ve altın standart olarak kabul edilen sistemlerdir (34, 36).

2.4.4 Kendinden Asitli Yaklaşım (Self-Etch)

Smear tabakasının kısmi olarak uzaklaştırıldığı ve modifiye edildiği yaklaşımdır. Adeziv içeriğin asidik karakterde olması nedeniyle ayrı bir asitleme basamağına gereksinim duyulmaz. Resinin infiltrasyonu uygulama sırasında kendiliğinden gerçekleşmektedir ve uygulama sırasında teknik hassasiyet “asitle ve yıka” sistemlerine göre daha azdır. Bu sebeple uygulama hatası oluşma ihtimali daha düşüktür. Asiditesine göre düşük (pH= 2 veya daha yüksek) orta (pH=1-2 arası) ve yüksek (pH=1 veya daha az) kendinden asitli adezivler olarak alt gruplara ayrılırlar. Asiditenin artışı; resinini penetrasyonunda da artış sağlar, ayrıca pürüzlendirme daha etkin gerçekleşir. Bu sayede bağlantı kuvvetinin ve kalitesinin artması amaçlanmaktadır (34, 36).

2.5 Dentin Bağlayıcı Ajanların Sınıflandırılması

Dentin bağlayıcı ajanların gelişimi üretici firmaların tanımına göre nesil (jenerasyon) sınıflandırması olarak adlandırılmaktadır ve aslında ajanların kronolojik sınıflandırmasıdır. Bir diğer sınıflandırma türü ise asitle ve yıka (total etch) adezivler ve kendinden asitli (self-etch) adezivler olmak üzere klinik uygulama basamakları ve adezyon mekanizmasını kapsayan sınıflandırmadır. Kronolojik sınıflandırma baz alındığında günümüzde 4. nesil ve sonrası bağlayıcı sistemler kullanılmaktadır. İlk üç nesil olan bağlayıcı ajanlar ise kullanımdan çıkmıştır (31, 34). Dördüncü ve beşinci nesil dentin bağlayıcılar “asitle ve yıka” yaklaşımına sahip sistemler iken, altıncı ve yedinci nesil bağlayıcılar “kendinden asitli” yaklaşımındaki sistemlerden oluşmaktadır. Son yıllarda geliştirilen bir diğer grup dentin bağlayıcı ise “multi-mod” adezivler olarak da adlandırılan universal adezivlerdir. Bu adezivler, diğer kendinden asitli sistemlerden farklı olarak, “asitle ve yıka”, “kendinden asitli” ve “seçici asitleme (selective etching)” olarak adlandırılan üç farklı klinik yaklaşımda da kullanılabilirleri ile klinisyenler için tercih edilebilir nitelik kazanmışlardır (34). Bazı araştırmacılar tarafından bu grup adezivler yedinci nesile dâhil edilirken, bazı araştırmacılar ise bunları sekizinci nesil olarak sınıflandırmaktadır. Bu adezivler, altıncı ve yedinci nesil ajanlardan farklı olarak spesifik fosfat monomeri, silan veya amid grubu içerirler (37). Bu nedenle daha uzun bağlantı stabilitesi ve uzun

restorasyon ömrü sağlayacakları iddia edilmektedir (38). Yedinci nesil bağlayıcı ajanlar ise günümüzde popülaritesini hala korumaktadır.

2.6 Rezin-Dentin Ara Yüzünün Bozulmasına Neden Olan Etmenler

Adeziv diş hekimliğinin temel dayanağı, diş sert dokuları ile restoratif materyal arasında güvenilir bir kimyasal bağ elde etmektir. Hibrit tabaka, bu bağlantının en önemli ögesidir. Restorasyonun klinik başarısı, sadece hibrit tabakanın immediat kalitesine değil, daha da önemlisi uzun süreli stabilite ve dayanıklılığına bağlıdır (34). Ancak, hibrit tabaka zamanla bozulur. Hibrit tabakanın bozulması klinik uygulamalara kompozit materyal ile diş sert dokuları arasındaki bağın zayıflamasına, mikroorganizmaların geçişine ve sonrasında restorasyon kayıplarına veya ikincil çürük formasyonuna yol açar. Hibrit tabakanın bozulması fiziksel ve kimyasal etkileşimlere bağlıdır. Çiğneme kuvvetleri, makaslama kuvvetleri, sıcaklık değişimleri ile beraber genleşme ve büzülme kuvvetleri gibi birçok fiziki etmen bu konuda etkili olduğu gibi, asit atakları, enzim aktiviteleri gibi birçok kimyasal etmen de bu yapının bozulmasında rol oynadığı yapılan araştırmalar ile ortaya konulmuştur (39). Hibrit tabakanın bozulmasına neden olan etmenleri Frassetto ve ark (2016) şu şekilde sınıflandırmışlardır;

- Adeziv rezinin polimer yapısının degradasyonu
- Nano sızıntı
- Matriks metallo proteinazlar (MMP)
- Sistein katepsinler şeklinde sıralanabilir (40).

2.6.1 Adeziv Rezinin Polimer Yapısının Degradasyonu

Adeziv rezinin polimer yapısının degradasyonu, demineralize dentine penetre olan rezinin hidrolizi ve çözünmesi sonucu gerçekleşir (41). Çözünme, polimerizasyon sonrası adeziv rezinin gevşek çapraz bağları veya hidrofilik alanlarına su girmesi ile kolaylaşır. Dişe uygulandıktan ve polimerize edildikten sonra, adeziv rezinin hidrofilik komponentleri, adezivin faz ayrımı ve hidrofobik foto-aktivatör ile hidrofilik faz arasındaki uyumsuzluk nedeniyle sınırlı monomer/polimer dönüşümü sergiler (42,

43). Zayıf polimerizasyon gösteren hidrofilik faz nemli ortamda çabuk bozulma gösterir. Rezin içerisinde gerçekleşen faz ayrışması, suyun hareketi ile beraber hibrit tabaka boyunca uzanır ve göllenme oluşana kadar devam eder (44). Rezinin sardığı kolajen matriks, rezin kaynaklı oluşan bozulmalar neticesinde açığa çıkar ve proteolitik enzimlerin aktivitelerine karşı savunmasız hale gelir (8). Hidroksil, karboksil ve fosfat gruplarının yanı sıra, ester ve üretan gibi hidrolitik olarak duyarlı grupların yer aldığı metakrilat rezinlerin yapısı, ağız ortamında kimyasal ve enzimatik bozulma ile hidrolize edilebilir (32).

Restorasyonun oral sıvılara uzun süre maruz kalmasına bağlı olarak su, rezine nüfuz etmeye başlar. Su, zayıf çapraz bağlardan ya da hidrofilik komponentlerden difüzyon yoluyla matrikse sızabilir veya polimerizasyon sırasında rezin molekülleri arasında sıkışabilir (7). Matrikse nüfuz eden su, lubrikant gibi davranarak polimer zincirlerini zayıflatır ve plastisize eder. Mekanik kuvvetler karşısında aşınmaya maruz kalan adeziv, hem su hem de enzimlerin daha fazla kollajene nüfuz etmesine izin vererek matriks bozulmasını hızlandırabilir. Su mevcudiyeti metakrilat materyallerde ester bağlarının kimyasal hidrolizini de teşvik eder. Tükürüğe maruz kalan metakrilat yapının lokalize olarak bozuk bölgeleri, ester bağlarının hidrolizini büyük ölçüde hızlandıran esterozların erişmesine daha fazla maruz kalır ve bozulma süreci geri dönülmez hale gelir. Hidroliz, hibrit tabaka içindeki rezin bozunmasının temel nedeni olarak kabul edilir ve bu durum zaman içinde bağ mukavemetinin azalmasına katkıda bulunur (40).

2.6.2 Nano Sızıntı

Birçok çalışma, saptanabilir ara yüz boşluğu görülmemesine rağmen küçük iyonların veya moleküllerin hibrit tabakaya yayılabildiğini göstermiştir (45-47). Nano sızıntı, asitle ve yıka sistemlerde demineralize edilen dentin alanı ile infiltre olan rezin alanı arası uyumsuzluğa bağlı olarak rezin-dentin boyunca gelişir (48). Kendinden asitli adeziv sistemlerde, asidik rezin monomerlerin simültane olarak dentini demineralize etmesi ve rezinin infiltre olması sonucu nano sızıntının engellenebileceği düşünülmektedir (40). Ancak Tay ve arkadaşları (2002) çalışmalarında, nano sızıntının sadece demineralizasyon miktarı ve rezin infiltrasyon uyumsuzluğuna bağlı olarak

gelişmediğini bildirmişlerdir (49). Tek aşamalı kendinden asitli adeziv sistemler, yüksek oranda hidrofilik monomer içerir ve polimerizasyon sonrası geçirgen yapılı ve ara yüz boyunca suyun hareketine izin veren hibrit tabaka oluştururlar (40, 49). Ayrıca asitlenmiş dentinde veya rezinin içinde rezidüel olarak hapsolan su, polimerizasyonun tamamlanamadığı alanların oluşmasına ve rezin-dentin matriksin geçirgenliğinin artmasına sebep olabilir (50). Dolayısıyla asitle ve yıka ve kendinden asitli sistemlerin her ikisinde de rezinin infiltrasyon oranı farklıdır ve her iki yaklaşımda da hibrit yapının oluşumu sırasında kollajen fibrillerin rezin ile sarılması tam olarak gerçekleştirilemez (40).

2.6.3 Matris Metallo Proteinazlar (MMP'ler)

Dentinin organik matriksinde yer alan bir enzim ailesi olan MMP'ler dentinde patolojik ve fizyolojik süreçte muhtemel yıkıcı etkilerinden dolayı son yıllarda fazlasıyla dikkat çekmektedir (40). MMP'ler çinko ve kalsiyum bağımlı endopeptidaz sınıfındandır ve hemen hemen tüm hücre dışı matriks bileşenlerini degrade etme yeteneklerinden dolayı birçok biyolojik ve patolojik süreçte rol alan önemli bileşenlerdir (51). MMP'lerin sağlam ve çürük dentindeki kollajen yıkımı üzerine ilk kanıtlar 80'li yıllarda literatürde tanımlanmıştır (52). Dentinde bulunan MMP'ler, dentin matriksin salgılanması sırasında odontoblastlar tarafından üretilir ve dentinin oluşumuna dâhil oldukları düşünülmektedir (53). Dentin matriksinde; stromelysin-1 (MMP-3), kollajenaz (MMP-8), ve jelatinaz A, B (MMP-2 ve MMP-9) olmak üzere en az dört MMP tespit edilmiştir. Kollajen matriksinin mineralizasyondan sonra, MMP'lerin inaktif formları çürük prosesi sırasında yeniden ekspozit olur ve potansiyel olarak aktive olana kadar kalsifiye olmuş matriste sıkışıp kalır. Bununla birlikte, aktive olmuş MMP'ler asidik pH'da kararlı olmakla birlikte nötr pH'da optimum şekilde çalışırlar (54). Asitlerin nötralizasyonu, dental tamponlama mekanizmaları (sert doku yıkımı) ya da tükürük tampon sistemleri ile gerçekleşir. Ancak nötr pH'da, aktive olmuş olan MMP'ler organik matris bileşenlerine zarar verirler (55).

2.6.4 Sistein Katepsinler

Sistein katepsinler, papain benzeri endopeptidazlardır ve canlı hücrelerin lizozomal kompartımanlarının hücre içi proteolizine katılırlar ve katepsinler ayrıca eksopeptidaz yani hücre dışı protein yıkımında da görev alırlar. Tip 1 kollajen ve proteoglikanların parçalanması gibi ekstraselüler matriks parçalanmasında görev alırlar (56, 57). MMP'lere benzer şekilde katepsinlerin de çürük oluşumu sırasında asidik ortamda aktive olduğu düşünülmektedir. Çürük oluşumunda ya da dentin bağlayıcı işlemi sırasında asidik ortamda sistein katepsinlerin MMP'ler ile birlikte organik yıkımdan sorumlu olduğu düşünülmektedir (58).

Restoratif tedavi sırasında, asitle ve yıka ya da kendinden asitli yaklaşım olsun, hibrit tabakanın stabilizasyonu, restorasyonun ömrü açısından büyük önem arz etmektedir (59). Bazı araştırmacılar, adeziv rezinin içerdiği asidik monomerlerin latent halde bulunan MMP'lerin aktive olmasına neden olduğunu bildirmişlerdir (60). Degredasyona bağlı olarak adezyonun zayıflaması, diş ile restorasyon arasında boşluklar oluşmasına sebebiyet verebilir. Bu sebeple, endojen kaynaklı proteaz enzimlerinin inhibisyonu, kollajen matriks bütünlüğünün korunması ve dolayısıyla stabil, sağlam ve uzun ömürlü bir adeziv restorasyon için kritik bir öneme sahiptir (52).

Mineye oranla daha fazla su ve organik içeriğe sahip olması nedeniyle dentine bağlanma, mineye kıyasla daha zor olmaktadır. Her ne kadar asit ile pürüzlendirme yapılarak mikro pöröz bir yapı elde edilmekte ve dentin tübüllerine olan penetrasyon artırılmaya çalışılsa da, kollajen liflerin ve dentin tübüllerinin içerisinde bulunan su, bağlanma oranını önemli ölçüde azaltmaktadır (31). Araştırmacılar pek çok çalışmada mikro sızıntı üzerinde durmakta ve esas olarak adeziv ile kompozit rezinlerin arasında zamanla oluşan boşlukların zararına değinmektedir (11, 14, 61-63). Ancak gerek dentinin içerdiği su oranı, gerekse dentin tübüllerine yeterli penetrasyonun olmaması gibi etkenler göz önüne alındığında hibrit tabaka olarak adlandırılan rezin-dentin bağlantı noktasında nano düzeydeki boşlukların her halükarda var olduğundan bahsedilmektedir. Bu boşlukların; yukarıda bahsi geçen sebeplerle ve oluşturulan pürüzlü alanın ve monomer dağılımının düzensizliğine bağlı olarak hibrit tabakanın

altında olduğu düşünölmekte ve nano sızıntı potensiyeli taşıyan bu boşluk alanının yaklaşık 20-100 nanometre (nm) boyutlarında olduğu bildirilmektedir (45).

Rezin kompozit restorasyonların en yaygın yenilenme sebebi sekonder çürük oluşumudur. Dentinin biyomimetik remineralizasyonu, MMP aktivitesini inhibe etmek gibi stratejilerin de yer aldığı yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine çalışılmaktadır (52).

2.7 Rezin-Dentin Bağlantı Ara Yüzünün Bozulmasını Önlemeye Yönelik Deneysel Stratejiler

Son 20 yılda, dentin bağlayıcı teknolojisindeki gelişmeler sayesinde resin kompozit restorasyonların bağlanmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Dentin bağlayıcı ajanlarda kaydedilen bu gelişmelere paralel olarak minimal invaziv bir yaklaşım benimsenmeye başlanarak, estetik restorasyonların popülaritesi de oldukça artmıştır (58). Ancak tüm bu gelişmelere rağmen dentin bağlayıcı ajanların rezin-dentin bağlantı stabilitesi, rezin-mine bağlantı stabilitesine kıyasla hala zayıf kalmaktadır (64). Bu durumun en temel nedeni ise dentinin organik komponentlerinin mineye kıyasla oldukça fazla olması ve dentin bağlayıcı ajanın bu organik komponent yapıya tutunmak ile ilgili yetersizlikleridir. Dentine bağlanma sırasında başarılı bir bağlanmanın gerçekleşmesi için optimum seviyedeki nem, istenen bir durum iken uzun dönemde restorasyonun başarısını olumsuz yönde etkilemektedir (44). Günümüz dentin bağlayıcı ajanları, başlangıçta yüksek bağlanma kalitesi göstermesine rağmen, uzun dönemde bu bağlanma değerlerinde belirgin bir düşüş gözlenmektedir. Restorasyonun ömrü açısından bondun stabilitesi çok önemlidir. Çünkü degradasyon bağlantıyı zayıflatır ve restorasyon ile diş arasında boşlukların oluşmasına ve bakteriyel sızıntıya neden olur (65).

Son yıllarda çalışmalar, rezin-dentin bağlantısının uzun dönemde başarısını arttırmaya yönelik bazı stratejik araştırmalar üzerine yoğunlaşmaktadır. Bu stratejiler aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır;

- Hidrofilik adezivlerin dönüşüm derecesini ve esteraz direncini artırma

- Geniş spektrumlu kollajenaz enzim inhibitörlerinin ve anti MMP aktivitesine sahip fonksiyonel monomerlerin geliştirilmesi
- MMP aktivitesini dönüşümsüz olarak durdurabilen çapraz bağlı ajanların kullanılması
- Etanol ile ektrafibriler ve intrafibriler kollajen matriksten suyun uzaklaştırılması ve hidrofobik rezinin bu alanları doldurmasına yönelik etanol bazlı ıslak bağlanma çalışmaları
- Kalsiyum-şelasyon kuru bağlanma
- Dentinin remineralizasyonu
 - Top down – Bottom up yaklaşım
 - Dentinin biyomimetik remineralizasyonu
 - Biyoaktif doldurucular
 - Kalsiyum/Sodyum Fosfat-Fillosilikat
 - Kalsiyum silikat
 - Amorf kalsiyum fosfat
 - Hidroksiapatit'dir (58).

2.7.1 Hidrofilik Adezivlerin Dönüşüm Derecesini ve Esteraz Direncini Artırma

Rezin degradasyonu direkt olarak su absorpsiyonu ile ilişkilidir. Rezinin komponentlerinde görülen bozulmalar ya da tükürük yapısındaki esterazların asitlik/baziklik artışı gibi değişimler, su varlığında gerçekleşir. Ortamda bulunan suyun, polimer yapısı içine sızması veya polimer yapı içinde suyun hapsolmesi ile rezinin ester bağlarında hidrolitik yıkılmalar gerçekleşir. Suyun etkin olduğu nemli ortamlarda hidrofilik adezivlerin polimerizasyonunun kamforokinon gibi hidrofobik bir foto-aktivatör ile başlatılması optimum bir şekilde sonuçlanamaz. Polimerizasyonun başlangıç fazında monomerlerin etkin bir şekilde aktive edilememesi ise adeziv rezinin başarılı bir hibrit tabaka oluşturmaya engel olur. Hibrit tabakanın başarılı bir şekilde oluşturulamaması neticesinde kollajen fibriller rezin adeziv tarafından yeterince sarılamaz ve açıkta kalarak degradasyona maruz kalırlar. Bu durum ise uzun dönemde restorasyonun başarısını olumsuz etkiler (58). Bu nedenle araştırmacılar, dentin bağlayıcı ajanlar için hidrofilik bir foto-aktivatör

kullanımının adezivde degradasyon direncini arttıracakını bildirmişlerdir. Bu amaçla aktivatör olarak QTX [2-hydroxy-3-(3, 4-dimethyl-9-oxo-9H-thio-xanthen-2-yloxy)-N, N, N-trimethyl-1-propanaminium chloride], yeni uzun ve dallanmış kimyasal zincirli esterazaya dirençli hidrofilik üretan ile modifiye edilmiş rezin monomerler ve suda çözünebilir taç eteri içeren sodyum asilfosfin oksit, TPO [diphenyl (2, 4, 6-trimethylbenzoyl)-phosphine oxide] gibi bazı hidrofilik foto-aktivatörler su varlığında polimerizasyonun geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır (43, 66-68).

Bu foto-aktivatörlerin, hızlandırıcıların ve çapraz bağlayıcı rezin monomerlerinin kullanımı, su varlığında dahi rezin-dentin arayüzünün başlangıçtaki dinamik-mekanik özelliklerini artırabileceği gibi, polimer matrislerin heterojenliğini ve nano-faz ayrımını da azaltabilmektedir (69). Bununla birlikte bu stratejiler; özellikle suyun, kollajen fibril matrisin derin kompartımanlarında mevcut olduğu durumlarda adeziv rezin monomerlerin demineralize kollajen matrisi sızdırmaz şekilde sarmasında belirgin bir artışına neden olamamaktadır (58).

2.7.2 Kollajenolitik Enzim İnhibitörleri

Matriks Metallo Proteinazlar, rezin infiltrasyonu tamamlanmamış hibrit tabakanın kollajenlerinde bağlanmayı olumsuz yönde etkileyecek şekilde degradasyona sebep olurlar (70). Bu nedenle dentin bağlayıcı ajanların uygulanmasından önce demineralize kollajen matrisine MMP inhibitörlerinin uygulanması, rezin-dentin bağlantısının ömrünün uzatılmasında mantıklı ve yararlı bir yöntem olarak görülmektedir (8).

Klorheksidin, biguanit yapıda antimikrobiyal bir ajandır ve başarılı bir MMP inhibitörüdür (58). Araştırmacılar, adeziv uygulama sırasında nonspesifik MMP inhibitörü olarak klorheksidin kullanmışlardır (8, 71, 72). Materyalin, asitle ve yıka yaklaşımında direkt olarak demineralize dentine uygulanabileceği bildirilirken asit conditioner içerisine veya bağlayıcı ajanın yapısına da katılabileceği rapor edilmiştir. (72, 73). Klorheksidin sağladığı avantajlar değerlendirilerek, klorheksidin içeren dentin bağlayıcı ajan da üretilmiş ve “Peak® Universal Bond” ticari adıyla dental marketlerde kendine yer bulmuştur (71, 74).

Polivinil fosfonik asit MMP inhibe etme yetisine sahip bir diğ er ajandır (58). Tezvergil-Mutluay ve arkadaları demineralize dentinde polivinil fosfonik asidin MMP aktivitesini inhibe ettiğini ve klorheksidine alternatif olarak kullanılabileceğini belirtmektedirler (75).

Kimyasal olarak modifiye edilmiş tetrasiklinler de non spesifik MMP inhibitörüdürler. Ancak oksidasyon sonrası renklenme gösterdikleri için pek tercih edilmemektedirler (58).

Dörtlü amonyum tuzları MMP inhibitörü aktivitesine sahip bir diğ er antimikrobiyal ajan grubudur. Kolay elde edilebilmeleri ve son yıllarda MMP inhibitör etkileri çeşitli derecelerde olan birçok dörtlü amonyum metakrilat rezin monomerinin keşfedilmesi bu antimikrobiyal ajanın dentin bağlayıcı ajanlara katılması için istek uyandırmıştır (58). Ticari olarak kullanılan ve en bilinen dörtlü amonyum metakrilat ise 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB)'dir (76).

2.7.3 MMP ve Katepsin Aktivitesini Durdurabilen Çapraz Bağlı Ajanların Kullanımı

Glutaraldehit, genipin, proantrosiyanidin, karbodimid gibi çapraz bağli ajanlar, deneysel amaçlı olarak rezin-dentin bağlantısının ömrünü uzatmak amacıyla kullanılmaktadır (58). Bu ajanlar, asitle demineralize olmuş dentin kollajenleri ile çapraz bağ oluşturarak dentin kollajenlerinin kısa vadeli olarak mekanik özelliklerini geliştirir, enzimatik yıkıma karşı kollajenin hassasiyetini azaltır ve rezin-dentin stabilitesini arttırlar (77, 78). Ayrıca, dentin kollajenlerinin moleküller arası ve molekül içi çapraz bağlarını güçlendirir ve termal, enzimatik ve bakteriyel kollajen degradasyonuna karşı kollajen fibrillerin direncini arttırlar (79). Spesifik olmayan MMP inhibitörlerinin kullanımına benzer şekilde bu çapraz bağli ajanlar, MMP ve sistein katepsin inaktivasyonu ile hibrit tabakaya katılan ve sudan zengin ortamda zayıf haldeki kollajen matriksin stabil şekilde kalmasını sağlarlar (58).

2.7.4 Hidrofobik Rezinler için Etonol Islatıcıların (Ethanol Wet-Bonding)

Kullanımı

Kullanılan asitle ve yıka tipi dental adezivlerde, bağlanma sırasında kollajen matriksten suyun uzaklaştırılması için çözücüler kullanılır. Bu çözücüler kollajen matriksten suyun uzaklaşmasını sağlarken, çözücünün uzaklaştırılmasını takiben kollajen fibrillerin büyük oranda büzülmesine neden olurlar (47). Çözücü olarak %100 saf alkol kullanılması, diğer çözücülere benzer şekilde kollajen fibrillerde büzülme oluşmasına neden olur. Ancak bu büzülme Bis-GMA (Bisfenol A glisidil metakrilat) gibi hidrofobik rezin monomerlerinin kollajen matriksten ayrılmasını önler. Diğer bir deyişle, dentin kollajenlerinin su yerine etanol ile ıslatılması, ilave bir kollajen matris büzülmesinden ödün vermeksizin, hidrofobik monomerlerin demineralize edilmiş kollajen matriks içine yayılması için olanak sağlar. Hidrofobik monomerlerin kollajen matriks içine yayılması, su emilimini, suda çözünmeyi, kollajenlerin hidrolitik yıkımını azaltır ve daha sağlam rezin-dentin bağlantısı oluşturmasını sağlar (80, 81).

İki tip etanol wet-bonding tekniği vardır. Basit olan ilk teknik, asit ile dağlama sonrası dentine bir dakika süre ile saf etanol uygulanması ve sonrasında etanolde çözülmüş hidrofobik adeziv rezin komponentlerinin yüzeye tatbik edilmesi şeklindedir (82). Ancak yöntem teknik hassasiyet gerektirmekle birlikte dentin permabilitesini yeterince azaltamamakta ve suyu uzaklaştırmada yetersiz kalmaktadır (83, 84). Kademeli etanol uygulama yöntemi ise düşük konsantrasyonda etanol çözeltisi ile başlayarak sırayla yüksek konsantrasyonda etanol uygulama işlemine dayanır (83). Ancak bu yöntem de zaman kaybına neden olur, klinik uygulaması zordur ve yine teknik hassasiyet gerektirir. Her iki yöntemde de etanol hava ile uçurularak kollajen matriksin içerisinde bulunan su uzaklaştırılır (85).

Hidrofobik rezinlerin dentine uygulanmasının zor olması nedeniyle alternatif olarak etanol wet-bonding tekniği ile hidrofilik rezin monomerlerin kullanılması gündeme gelmiştir. Hidrofilik monomerler ile gerçekleştirilen etanol wet-bonding tekniğinin bağlanma dayanımının oldukça yüksek olduğu bildirilmektedir (86). Islatıcı olarak su ile etanolün kıyaslandığı bir çalışmada, etanolün belirgin şekilde daha az

mikro permabilite gösterdiği bildirilmektedir. Araştırmacılar etanol wet-bonding tekniğinin hidrofilik monomerlerin kullanımında dahi kollajen matriksin içine rezin geçişinin daha iyi olduğunu ve rezin monomerlerinin kollajen fibrilleri daha iyi örttüğünü bildirmişlerdir (87). Bu uygulamada etanolün, hidrofilik adeziv rezinden yeterince uzaklaştırıldığından emin olunmalıdır. Aksi takdirde etanolün, polimerize matriksi su emilimine karşı daha duyarlı kılacağını bildirmektedirler (88). Bu sebeple hidrofilik özelliği daha az olan rezin monomerlerin dental adezivlerde kullanılmasının daha kabul edilebilir ve sağlam rezin-dentin bağlantısı oluşturabileceği düşünülmektedir (58).

2.7.5 Kalsiyum-Şelasyon Kuru Bağlanma

Bu yöntem, ektrafibriler minerallerin, intrafibriler mineraller demineralize edilmeden, selektif olarak uzaklaştırılması prensibine dayanır. Kollajen fibrillerin intrafibriler alanları çok küçüktür ve bu alana molekül ağırlığı 600 akb (atomik kütle birimi ya da dalton)'den küçük moleküller girebilir. Fosforik asidin molekül ağırlığı 100 akb'dir ve intrafibriler kompartımanlara rahatlıkla girebilir. Fosforik asit, bu sayede ektrafibriler ve intrafibriler kompartımanlardaki mineralleri rahatlıkla çözerek dentini, demineralize ve yumuşak bir halde bırakır. Ancak fosforik asit yerine %15'lik sodyum poliakrilat (225.000 akb) gibi molekül ağırlığı daha büyük bir asit tercih edilmesiyle, intrafibriler kompartımanlardaki minerallerin çözülmeyeceği sadece ektrafibriler kompartımanların demineralize edilebileceği düşünülmektedir. Bu sayede kollajen fibriller mineralize halde kaldıkları için su ile durulama ve kurulama sonrası büzülme ve çökme göstermemesi, sert ve dik bir halde kalması beklenmektedir. Ayrıca hidrofobik monomerler ile bağlanmaya daha müsait bir yapı oluşacağı için dry bonding prosedürleri uygulanabileceği düşünülmektedir. Bu yöntemin bir diğer avantajı da kollajenlerin mineralize halde kalması sonucunda, açıkta desteksiz kollajen fibril kalmayacağı ve MMP'lerin aktive olamayacağı görüşüdür (89, 90). Poliakrilik asit gibi daha büyük molekül boyutuna sahip asitlerler yardımı ile hibrit tabakanın degradasyonunun engellenebileceği düşünülmektedir (90).

2.7.6 Dentinin Remineralizasyonu

2.7.6.1 Top down – Bottom up Yaklaşım

Nanoteknolojide biyomateryallerin üretimi top-down ve bottom-up olarak iki farklı yaklaşım ile tanımlanır (91). Biyomineralizasyonda Top-down yaklaşım, parsiyel demineralize dentin dokusunda var olan apatit kristallerinin, geleneksel yarı-kararlı kalsiyum ve fosfat iyonu içeren çözelti veya jeller kullanılarak epitaksiyel remineralizasyonu prensibine denir (92). Bu yaklaşımda organik matriks üzerinde spontan mineral depozisyonu gerçekleşmez, aksine var olan apatit çekirdeklerinin eptaksiyel büyümesi söz konusudur (91). Dolayısıyla top-down remineralizasyon, sadece parsiyel demineralize dokunun yapısında kalan apatit kristal çekirdekleri sayesinde gerçekleşebilir (93). Bu çekirdek kristallerin olmadığı aşırı mineral kayıplarında ise top-down remineralizasyonun gerçekleşmesi mümkün değildir (91).

Bottom-up yaklaşım ise, top-down yaklaşımın aksine daha büyük yapılar oluşturmak için moleküller ve atomlar gibi nanoskopik ölçekte materyallerin daha büyük yapılar oluşturmasıdır (94). Matriks proteinleri aracılığıyla amorf minerallerin üç boyutlu düzenlenmesini ve nano-kristal yapıların hiyerarşik bir sırayla yapılara yerleşmesini içeren biyomineralizasyon, bottom-up yaklaşımın mükemmel bir örneğini temsil eder (91). Biyomineralizasyonun süreci boyunca, matriks proteinleri mineral nükleasyonu ve büyümesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (95, 96). Çekirdek kristallerinin yokluğunda, matriksin protein-mineral etkileşimleri, homojen nükleasyondaki termodinamik engellerin aşılmasından sorumludur (91).

2.7.6.1.1 Dentinin Biyomimetik Remineralizasyonu

Hidrofobik rezinlerin kollajen fibrilleri sarması ve ortamda bulunan MMP ve katepsin gibi kollajenolitik ajanları bir kapsül gibi hapsedmesi iyi bir strateji gibi görünmekle birlikte hidrofobik monomerler yapıları gereği kollajen fibrillerin arasında bulunan suyun tam uzaklaştırılamaması nedeniyle fibrillerin arasına arzu edilen miktarda giremezler ve uzun dönemde kollajen yıkımına karşı koruyuculukları kısıtlı kalır (97). Hidrofilik monomer kullanılması ise bu soruna karşı geliştirilen bir

yöntemdir. Ancak hidrofilik monomerler başlangıçta su bulunan kollajen kompartımanlarında rahat bir şekilde yayılma gösterebilirler de, esterazlarla hidrofilik rezinin hidrolizi ve hidrofilik rezinin su absorpsiyonu, bağlantı yapısında bozulmalara ve kollajenolitik enzimlerin tekrar aktive olmasına olanak sağlamaktadır (58). MMP'ye maruz kalan kollajenlerin korunması için bu fibrillerin apatit kristalleri tarafından çevrili olması gerekmektedir. Dentine bağlanma sırasında suyun yerini apatit kristalleri aldığı zaman, rezin-dentin bağlantısının ömrünün 10 yıldan daha uzun sağlam kalabileceği bildirilmektedir (98). Dolayısıyla kollajenolitik enzimlerin fonksiyonel aktivitesini azaltmak için biyomimetik remineralizasyon yoluyla rezin-dentin bağlantısının ömrünü uzatmak, iyi bir strateji olacaktır.

Dentine bağlanma sırasında günümüzde kullanılan dentin bağlayıcı ajanlar, asitle ve yıka ya da kendinden asitli adezivler, ekstra fibriler ve intrafibriler kollajen kompartımanlarından suyun uzaklaştırılmasını ve rezinin bu kompartımanlara girmesini tamamiyle sağlayamamaktadır. Bu sorunun hibrit tabaka ile dentin arasında gelişecek nano sızıntı ile sonuçlandığı bilinmektedir (58). Biyomimetik mineralizasyon, biyomineralizasyonda meydana gelen olayı taklit etmek için nanoteknoloji ilkelerini kullanan bir stratejidir (99).

Denature olmamış kollajen matriks yapı, ilgili alanda hidroksiapatit kristal çekirdekleri var olduğu durumda, kalsiyum fosfat tuzlarının ortama çökmesi ile yeniden remineralize olma kabiliyetine sahiptir (58). Nanoteknolojik terminolojide, diş hekimliğinde kullanılan remineralizasyon teknikleri "top-down" olarak bilinen yaklaşımlardır (95). Kollajen matriksin, dentin bağlayıcı uygulama sırasında ya da bakteriler tarafından salınan asit atakları karşısında parsiyel olarak demineralize olması sonrasında ortamda hidroksiapatit kristal çekirdekleri kalır. Bu çekirdekler top-down yaklaşımı ile gerçekleşecek olan remineralizasyon için çok önemlidir. Ancak biyomineralizasyon sırasında organik iskelet içerisinde apatit kristali çekirdeği yoktur. Dolayısıyla biyomineralizasyon, homojen bir akümülyasyonun gerçekleştiği alternatif bir yol ile gerçekleşmektedir. Homojen çekirdek oluşum mekanizmalarından birisi, ekstraselüler polianyonik protein moleküllerinin salınması ve bu non-kollajen proteinlerin (NCP) amorf yapıdaki mineralleri tutması ile gerçekleşir. Bununla

beraber, asidik matriks fosfoproteinleri, organik iskelet içinde mineral çekirdeklenmesini ve bu çekirdeklerin büyümesini başlatmak için şablon olarak kullanılır (100). Terminolojide bu tip remineralizasyon ise "bottom-up" yaklaşım olarak adlandırılmaktadır. Bu yaklaşımda polivinil fosfonik asit (PVPA) ve sodyum trimetafosfat (STMP) gibi biyomimetik analoglar kullanılarak bu analogların dentin kollajen matriksine tutunması ve amorf kalsiyum fosfatı kollajene çekmesi amaçlanır. Diğer NCP analogları ise poliakrilik asit, fosforile çitosan, peptitler, agarose jel, polydopamin, poliamidoamin dendrimer, oligopeptitler, L-glutamik asit, sentetik peptitler, kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat'tır (CPP-ACP) (101, 102). NCP analogları yardımı ile nano ölçekli mineraller, parçacıklar şeklinde kendi kendilerine homojen olarak bütünleşmektedirler. Top-down remineralizasyon, ortamda bulunan apatit kristal çekirdekleri üzerine büyüme ile gerçekleşmesi nedeniyle hızlı bir süreç izler. Ancak bottom-up remineralizasyon daha yavaş bir süreçtir ve yaklaşık 3-4 aylık bir sürede tamamlanabilmektedir (95).

Günümüzde remineralizasyon amacıyla en sık kullanılan ajanların başında flor gelmektedir. Ancak flor, demineralize dentin dokusunda tekrar hidroksiapatit kristalin bir yapı oluşturmaz aksine, var olan sert dokuyu asit ataklarına karşı güçlendirir (58).

2.7.6.2 Biyoaktif Doldurucular

Biyoaktif materyaller; kalsiyum ve fosfat gibi iyonların bulunduğu sıvı ortamlarda bu iyonların tabaka şeklinde kendi yüzeylerinde çökelmelerini sağlayan materyallerdir. Özellikle vücut doku sıvıları gibi kalsiyum ve fosfat barındıran ortamlarda biyoaktif materyaller, kendi etraflarında spontan olarak karbonize hidroksiapatit yapılı yüzeysel bir tabaka oluşmasını sağlayarak sert ve yumuşak dokuların materyal ile adezyon göstermesini sağlarlar (103). Bu materyaller ayrıca, tıpkı kemik dokularında olduğu gibi diş sert dokularında da adeziv etki gösterirler ve simüle edilmiş vücut sıvısı (Simulated Body Fluid-SBF) içerisinde materyalin yüzeyinde hidroksiapatit birikimi gösterirler. Bu birikimin gözlenmesi, materyallerin biyoaktivitesini işaret eden önemli bir belirteçtir (104).

Biyoaktif bir dentin bağlayıcı ajanın, remineralizasyon etkinliği ve rezin-dentin ara yüzünde oluşan boşlukları doldurma gibi yararları bulunmaktadır (105). Özellikle sıvı ortam ile temas halindeyken, ortamda bulunan kalsiyum ve fosfatın çökmesini sağlayarak mikro sızıntının azaltılmasına ve rezin-dentin ara yüzünde oluşan boşlukların mineral ile dolarak bağlantı kalitesinin artmasına yardımcı olabilmektedirler (103). Üzerinde kristal depolanmasına olanak veren bu tip materyaller "self-healing" materyaller olarak adlandırılır ve restorasyonun ömrünün uzamasını sağlarlar (106). Son dönemlerde adeziv sistemlerden kaynaklanan başarısızlıkların azaltılması, restorasyonların mekanik ve fiziksel özelliklerini geliştirmek, çürükten etkilenmiş dentin dokusunda remineralizasyon gerçekleştirebilmek amacıyla adeziv sistemlere farklı boyutlara sahip, biyoaktif doldurucular eklenmektedir (107, 108). Bu doldurucular sayesinde adeziv tabakanın bağlanma kuvvetini arttırmak, elastisite modülünü düşürmek ve polimerizasyon büzülmesini azaltmak amaçlanmaktadır (107, 109). Ayrıca yeni geliştirilen nano boyutlu partiküller sayesinde dentin tübüllerine adezivin penetrasyonu kolaylaştırılarak bağlantı kuvvetinin artması sağlanmaktadır (108, 110). Bağlayıcı ajanlara deneysel olarak eklenen biyoaktif materyallerden bazıları; kalsiyum/sodyum fosfat-fillosilikat (biyoaktif cam), kalsiyum silikat, amorf kalsiyum fosfat ve hidroksiapatittir (111-117).

2.7.6.2.1 Kalsiyum/Sodyum Fosfat-Fillosilikat (Biyoaktif Camlar) Doldurucular

Son zamanlarda biyoaktif camlar, diş hekimliğinin pek çok alanına girmişlerdir. Biyoaktif camların birçok yeni özelliği ile beraber, biyomimetik remineralize edici rolü üstlenmeleri, vücudun kendi mineralizasyon özellikleri ile uyumluluk göstermeleri ve dokunun yapı ve fonksiyonlarını restore edici yönde hücre sinyallerini etkilemeleri en önemli özellikleridir (118).

Biyoaktif camlar, kalsiyum ve fosfat içeren sıvı ortamlarda aktivasyon göstermeleri ile karakterize bir cam türü olarak bilinen tipik cam türlerinden oldukça farklıdır. Bu aktivite, biyoaktif camların doku sıvılarında etkinleşmesiyle beraber, doku/biyoaktif cam ara yüzünde karbonize hidroksiapatit tabaka oluşmasına ve bu sayede toksik etki göstermeden kemik ya da yumuşak doku ile bağlanmasına da olanak

sağlar (118). En çok bilinen biyoaktif cam, 45S5 ile formüle edilmekte ve "Bioglass" ticari adı ile piyasada bulunmaktadır. Bioglass, yüksek biyo-uyumluluk gösteren bir kalsiyum/sodyum fosfat-fillosilikattır ve osteokondüktif bir materyal olarak geliştirilmesine rağmen doğal diş mineralleri ile kimyasal benzerlik göstermektedir (119). Bioglass, simüle edilmiş vücut solüsyonunda kalsiyum fosfat çökmesini ve ardından hidroksiapatit formunda kristalleşmeyi sağlayan özelliği sayesinde, biyoaktif bileşiklerin başında gelmektedir (120).

Kalsiyum/sodyum fosfat-fillosilikatların bileşen içerikleri temelde; okside kalsiyum, sodyum, fosfat ve silikatın ağırlıkça belirli oranda birleşmesi ile oluşur. Silika cam yapısının devamlılığını sağlarken, sodyum sıvı ortamda fizyolojik iyonik dengeyi ve pH'ın devamlılığını sağlar. Kalsiyum ve fosfat ise apatit oluşturmakla yükümlü minerallerdir (121).

Biyoaktif camlar, vücut sıvılarında kendi yüzeyinde kemik benzeri apatit tabakası oluşturma kabiliyetleri nedeniyle ortopedik araştırmalarda odak materyallerden biridir (122-124). Biyoaktif camların yüzeylerinde oluşan kimyasal etkileşimler belirgin şekilde açıklanamamaktadır. Biyoaktif camın yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonlar; doku varlığına bağlı olmaksızın kalsiyum ve fosfatça zengin ortama maruz kalınmasını takiben dakikalar içinde silikatın çözünmesi ve katyonların nötrlenmesi ve değişimleri ile başlar. Bu reaksiyonları takiben silanol (SiOH) oluşur. Silanolün hidratlanmış silika jel oluşturmak üzere polikondensasyonu, amorf bir kalsiyum fosfat tabakasının oluşumundan önce gerçekleşir. Reaksiyon hidroksikarbonize apatit tabakanın (HCAp) kristalizasyonu ile sonuçlanır (119, 125).

Bioglass (45S5), dentin dokularına direkt olarak uygulanarak dentin dokusunun remineralizasyonunda başarılı bir şekilde kullanılmasına rağmen, biyoaktif cam seramik mikro doldurucu, remineralizasyon kabiliyetine sahip dentin bağlayıcı ajan geliştirilmesi hala önemli bir hedef olarak görülmektedir (126). Pulpa kapaklanmasında ya da dentin hassasiyetinin azaltılması amacıyla kullanılan kalsiyum/sodyum fosfat-fillosilikatların partikül boyutu 300µm'ye kadar olabilmekteydi (127). Bu büyüklükte partikül boyutlarının kullanılmasının temel amacı kapama ya da dentin tübüllerinin tıkanmasıydı. Ancak dentin tübül çaplarının

ortalama 1-2,5µm olması nedeniyle, bu büyüklükte doldurucuların dentin bağlayıcı ajanlara katılması uygun görülmemektedir (128). Bu amaçla, Bioglass'ın küçük partikül yapısının (yaklaşık 5µm) çözünme kinetiği araştırmacılar tarafından değerlendirilmiş ve daha küçük partikül yapısında dahi materyalin apatit oluşturma kabiliyetinin devam ettiği bildirilmiştir (129, 130). Biyoaktif camların, dentin ile olumlu tepki verdiği, mekanik bir bağ oluşturduğu, diş minerali benzeri HCAp oluşturduğu ve ikincil çürüklerin önlenmesi için yararlı antibakteriyel özellikler gösterdiği bildirilmektedir (131-134). Adeziv rezinlerde, biyoaktif camların doldurucu olarak kullanılmasının polimerizasyon büzülmesini azaltacağı, marjinal sızıntı ve mikro sızıntıyı engelleyeceği düşünülmektedir (6).

2.7.6.2.2 Kalsiyum Silikat İçerikli Doldurucular (Portland Simanı)

Rezin-dentinden oluşan hibrit tabakanın içinde veya altında kalsiyum, hidroksil ve fosfat iyon salımını arttırmak için geliştirilen alternatif stratejiler ile kalsiyum silikat bazlı Portland simanların kalsiyum (Ca^{+2}) ve hidroksil (OH^{-}) salması mümkün olmaktadır. Bu malzemelerin kullanımı ile diş sert dokularının remineralizasyonu gerçekleştirilebilir (135, 136). Bu materyaller, kısa bir indüksiyon periyodunda yüzeylerinde apatit benzeri kristal oluşumunu indükleyebilirler ve biyolojik ortamda pozitif bir tepki ortaya çıkaran biyoaktif bir aktivite gösterebilirler (6, 137). Biyomimetik remineralizasyon yaklaşımı kullanarak, Portland simandan yavaş kalsiyum iyonu salınması ve daha sonra bu iyonların simüle edilmiş vücut sıvısı veya dentinin alt tabakasındaki fosfat türleri ile etkileşimi yoluyla rezin-dentin arayüzü içindeki dentin kollajenini yeniden mineralize etmek mümkündür (138). Biyomimetik remineralizasyon etkinliği göz önüne alındığında Portland simanlar, biyoaktif dentin bağlayıcı geliştirmeye yönelik çalışmalarda araştırmacıların dikkatini çekmiştir (6).

2.7.6.2.3 Amorf Kalsiyum Fostat Doldurucular (CaP)

Kalsiyum fostat doldurucu içeren rezin kompozitlerin geliştirilmesi ile beraber, ikincil çürük gelişiminin azaltılmasına yönelik önemli bir yaklaşım tanıtılmıştır. Bu kompozitler, ortama yüksek yoğunlukta kalsiyum ve fosfat salımı sağlayarak mine ve

dentin lezyonlarının remineralizasyonunda önemli rol oynamaktadır (139-141). Geleneksel CaP içeren kompozitlerin, CaP partikül boyutları mikron düzeyindedir (140, 142). Nano boyutlu CaP partiküllerin üretilmesiyle beraber geliştirilen nano CaP partikül içerikli rezin kompozitler, geleneksel CaP doldurucu içeren rezin kompozitlere benzer şekilde kalsiyum ve fosfat salımı sağlayabilmekte aynı zamanda rezin kompozitin mekanik özelliklerine katkı sağlayabilmektedir (141, 143). Kompozitlerin yanı sıra sekonder çürük gelişiminin önlenmesi için adeziv bondların da ikincil çürük gelişimini engellemesi önemli bir adımı oluşturmaktadır. Kavite preparasyonu sonrasında kavitede rezidüel bakteriler kalabilmektedir. Ayrıca mikro sızıntı oluşumu da, diş dokusu ile restorasyon arasına bakteri invazyonuna sebep olmakta ve ikincil çürük oluşumunun önünü açmaktadır. Bu amaçla adeziv rezinlere doldurucu olarak CaP eklenmesinin, adezivin remineralizasyon etkinliği kazanmasında yardımcı olabileceği bildirilmektedir (139). Dentin bağlayıcı ajanlarda doldurucu olarak nano boyutlu CaP kullanılması, yüzey alanında artışa bağlı olarak salımın artmasını sağlamaktadır ve nano partiküller bağlayıcı ajanın mekanik özelliklerini etkilemektedir. Ayrıca nano partiküllerin, bağlayıcı ajanın viskozitesinde belirgin bir etkiye sebep olmadığı ve bağlayıcı ajanın dentin tübülleri içerisine rahat bir şekilde akabildiği bildirilmiştir (139, 144).

Adeziv rezinler sadece diş dokusu ve restorasyon arasındaki bağlantıyı sağlamamakta, ayrıca demineralize kollajen iskeleti asit ve enzim ataklarına karşı koruma görevini de üstlenmektedir. Bu sayede hibrit tabakanın ömrünün uzaması sağlanabilmektedir. CaP'nin adeziv rezinlerde doldurucu olarak kullanılması, demineralizasyonun engellenmesi ve remineralizasyonun desteklenmesine olanak vermektedir (145).

2.7.6.2.4 Hidroksiapatit Doldurucular

Hidroksiapatit (HA) doldurucular, minimum doku toksisitesi ve yabancı cisim reaksiyonu ile beraber osteoindüktif ve osteojenik aktivite gösteren biyouyumlu materyallerdir. Kemik metabolizması için kritik öneme sahip kalsiyum ve fosfat salabilme özelliği, bu materyallerin karakteristik yapısını göstermektedir (103, 146). Medikal anlamda kemik grefti, ortopedik implant yüzeylerinin kaplanması gibi geniş

bir kullanım alanı olan HA, dental uygulamalarda da benzer şekilde greft materyali olarak ve dental implant yüzeylerinin kaplanmasında kullanılabilir (147, 148). Ayrıca HA, mine ve dentinin remineralizasyonu amacıyla da kullanılabilen, dikkat çekici ajanlardan biridir. Materyal, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ yapılı bir bileşiktir ve diş sert dokularının temel yapıtaşını oluşturmaktadır. Oldukça yüksek biyomimetik özelliğe sahip bir molekül olan bu materyal, proteinler ile iyi bir bağlanma özelliği gösterir (149). HA, demineralizasyona bağlı olarak kaybedilen yapısal iyonların tekrar kazanılmasına yardımcı olabilecek önemli bir kalsiyum ve fosfat kaynağıdır (150). İlk olarak Avrupa'da diş macunlarında remineralizasyon ajanı olarak kullanılmaya başlanan biyoseramik ajan, daha sonra çeşitli ağız bakım ürünlerinin yapısında da kullanılmaya başlanmış ve dental marketlerde satışa sunulmuştur (111, 149, 151, 152). Tschoppe ve arkadaşları, sığır mine ve dentinde HA içeren diş macunu ile amin florit içeren diş macunun remineralizasyon etkinliklerini kıyasladıkları çalışmalarında sığır dentininde, HA içeren macunun diğerine kıyasla belirgin olan remineralizasyon etkisinden bahsetmişlerdir (153). Bir diğer çalışmada Ebadifar ve arkadaşları yapay olarak oluşturulan mine lezyonlarında HA içeren diş macunlarının etkilerini incelemişler ve HA içeren diş macunu grubunun yapay mine lezyonlarının remineralizasyonunda daha etkili sonuçlar verdiğini göstermişlerdir (154). Kulal ve arkadaşları HA, Novamin, proargin içerikli 3 farklı hassasiyet giderici etkinliğe sahip diş macununu kıyasladıkları çalışmalarında, her bir ajanın hassasiyet gidermede etkili olduğunu, ancak HA içerikli macunun diğer macunlara kıyasla daha başarılı olduğunu belirtmektedirler (155). Najibfard ve arkadaşları başlangıç çürük lezyonlarının önlenmesinde flor içeren macunlara kıyasla etkili bir alternatif olabileceğini bildirmişlerdir (156). HA sadece diş macunlarında değil gargaralarda da etkin şekilde kullanılabilir. Haghgoo ve arkadaşlarının, nano HA içeren gargara ile sodyum florit içeren gargaraların başlangıç çürük lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkinliklerini değerlendirdikleri çalışmalarının sonucunda her iki gargaranın da etkin remineralizasyon sağladığını bildirmişlerdir (157). Swarup ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise %2'lik sodyum florit ile %10'luk nano HA içeren solüsyonların başlangıç çürük lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkinliklerini değerlendirdikleri çalışmalarında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir (150). HA'nın bilinen mutajenik, toksik veya herhangi bir

yan etkisi bildirilmediği için yutulmasında bir sakınca görülmemektedir (149). Dolayısıyla literatürde HA'nın enerji içeceklerinde kullanıldığı çalışmalara da rastlamak mümkündür. Min ve arkadaşları; enerji içeceklerinin sebep olduğu dental erozyonu engellemek amacıyla, enerji içeceğine %0,05, %0,1, % 0,25 oranında nano HA ekledikleri çalışmalarında, enerji içeceğine bağlı gelişen dental erozyonun etkili şekilde önlendiğini ve enerji içeceklerine %0,25 oranında HA eklenmesinin dental erozyondan korunmada etkili olabileceğini bildirmişlerdir (158).

Hidroksiapatitin kullanıldığı bir diğer alan ise restoratif materyaller olmuştur. Bu amaçla materyal, cam iyonomer simanların ve rezin kompozitlerin geliştirilmesinde doldurucu olarak kullanım alanı bulmuştur. Cam iyonomer simanlar, antikaryojenik, biyouyumlu ve diş sert dokularına ara bir basamağa gerek olmaksızın bağlanabilmeleri nedeniyle eşsiz restoratif materyallerdir (149). Moshaverina ve arkadaşları nano HA doldurucuların, cam iyonomer simanların mekanik özellikleri üzerine etkisini araştırmışlar ve HA doldurucuların; sıkıştırma, çift eksenli eğme ve çapsal germe testlerinde geleneksel cam iyonomer simanların dayanımlarını geliştirdiklerini bildirmişlerdir (159). Alatawi ve arkadaşları da çalışmalarında geleneksel cam iyonomerlere HA doldurucu eklenmesinin, materyalin iyon salımını, mekanik özelliklerini ve antibakteriyel etkinliğini artırdığını bildirmişlerdir (160). Benzer şekilde Arita ve arkadaşları da HA'nın iyon adsorban ve iyon değiştirebilen ajan olarak işlev gördüğünü ve cam iyonomer simanın mekanik ve kimyasal özelliklerini geliştirdiğini belirtmektedirler (161). HA gibi biyoseramik içeren cam iyonomerler, geleneksel cam iyonomerlere kıyasla umut vadeden restoratif materyal olarak değerlendirilmektedirler (149).

Literatürde HA içeren rezin kompozitlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar olduğu da görülmektedir. Liu ve arkadaşları, HA doldurucunun kontrol grubuna kıyasla kompozit rezinin mekanik dayanımını artırdığından bahsetmektedirler (162). Santos ve arkadaşları ise HA içeren kompozitlerin SBF içerisindeki biyoaktivitesini değerlendirdikleri *in vitro* çalışmalarında, silanize HA içeren kompozitlerin, simüle edilmiş bir vücut sıvısı içine 4 hafta bekletildikten sonra yüzeylerinde kompakt ve düzenli bir kalsiyum fosfat tabakası oluşturduklarını göstermişlerdir (163). Tarle ve

Par, biyoaktif kompozit malzemelerin başlıca faydalarını: asit ataklarına karşı kalsiyum, fosfat gibi iyonlar sağlayarak diş sert dokularını remineralizasyonu, dentin hipersensitivitesinin ve post operatif hassasiyetinin azaltılması, marjinal boşluklara iyon çökmesinin sağlanması, bakteriyel büyümenin inhibisyonu ve kompozit materyal ile dentin arasındaki bağlanmanın dayanıklılığının iyileştirilmesi şeklinde sıralamaktadır (164). Araştırmacılar çeşitli kalsiyum fosfat kaynaklarının (monokalsiyum fosfat, dikalsiyum fosfat, trikalsiyum fosfat, HA ve amorf kalsiyum fosfat) deneysel rezin kompozitlerde iyon salabilen doldurucular olarak kullanılabilirliği yönündeki görüşlerini bildirmektedirler.

Özellikle biyoaktif bir materyal olması ve remineralizasyon etkinliği gösterebilmesi nedeniyle adeziv rezinlerde doldurucu olarak kullanımı gündeme gelen hidroksiapatitin bu alandaki kullanımı ile ilgili (108, 165, 166). literatürde kısıtlı çalışma bulunsa da, adeziv rezinlere hidroksiapatit doldurucu eklenmesi ile özellikle hibrit tabakada zamana bağlı olarak gelişen degradasyonun azalabileceği ve bağlanma dayanımının artırabileceği düşünülmektedir (32, 167). Nano boyutlu hidroksiapatit doldurucu eklenmesinin ise, mikro ölçekli hidroksiapatit eklenmesine kıyasla daha fazla bağlanma gücü sağlayabileceği, artan yüzey alanına bağlı olarak daha fazla remineralizasyon etkinliği sağlanabileceği ve hibrit tabakada gözlenen degradasyonun çok etkin bir şekilde azaltılabileceği öngörülmektedir (168). Adeziv rezinde zamanla oluşan bozulmaların önüne geçilmesi ile rezin restorasyonlar daha uzun ömürlü olabilecektir (32, 107). Karyojenik bakteri kaynaklı asit atakları ya da doğrudan asit ataklarına karşı HA'nın, diş sert dokularında çözünmenin azalmasını ve ortamın pH'nın nötrlenmesine yardımcı olabileceği ve hibrit tabakanın oluşumuna katılan ve kollajen ağı destekleyen diş sert dokularının çözünmesini engelleyebileceği belirtilmektedir. HA doldurucu kullanımının bir diğer artışı ise hibrit tabakanın oluşumunda yer alan kollajen ağın, degradasyona bağlı olarak açığa çıkmasının engellenmesine yardımcı olup, dolaylı olarak kollajen ağın MMP'ler tarafından parçalanmasına engel olabilmesidir (8, 169).

Sadat-Shojai ve arkadaşları çalışmalarının sonucunda; HA'nın biyoaktivite gösterebildiğini söyleyerek, HA içeren adeziv rezinlerin, doldurucu içermeyen kontrol

grubuna kıyasla mekanik özelliklerinin ve bağlanma dayanımlarının daha iyi olduğundan bahsetmektedirler (108). Benzer bir diğer çalışmada da Leitune ve arkadaşları ağırlıkça %2 oranında HA içeren bağlayıcı ajanın, kontrol grubuna kıyasla daha iyi mekanik özellikler gösterdiğini bildirmişlerdir (168) Wagner ve arkadaşları da çalışmalarında %10 ve altında HA doldurucu içeren bağlayıcı ajanların, kontrol grubuna kıyasla daha iyi bağlanma dayanımı gösterdiğini belirtmektedirler (170).

Yukarıda bahsedildiği üzere; literatürde HA'nın adeziv rezinlerde doldurucu olarak kullanıldığı kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte HA doldurucu içeren adeziv rezinlerin dentin dokusu üzerinde gösterdikleri remineralizasyon etkinliğinin değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla bu alanda çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir (108, 171).

2.8 Remineralizasyon Etkinliğini Değerlendirilmek Amacıyla Kullanılan Yöntemler

Geliştirilen bir materyal, klinik olarak kullanımından önce bir dizi laboratuvar testine tabi tutulur. Bu testlerde geliştirilen materyalin olumlu ve olumsuz yönleri açığa çıkarılabildiği gibi, vaat ettiği özellikleri gösterebilme yetisi de sınanır. Ayrıca bu testler yardımı ile materyalin klinik kullanımını öncesinde optimum performansı ve olası yan etkilerinin görülmesi amaçlanır.

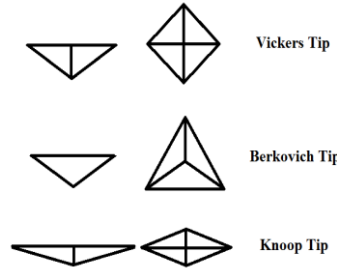
In vitro koşullarda remineralizasyon etkinliğinin değerlendirilmesinde birçok test yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları; mikro sertlik, nano sertlik (nano indentasyon), konfokal lazer taramalı mikroskopi (KLTM), taramalı elektron mikroskopisi ve enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (SEM/EDS) transversal mikro radyografi (TMR), Mikro bilgisayarlı tomografi (μ BT)'dir.

2.8.1 Mikro Sertlik

Bir materyalin plastik deformasyona karşı gösterdiği direnç, o materyalin sertliği olarak kabul edilir. Genelde test edilecek olan materyalden daha sert yapıya sahip bir uç (elmas) aracılığı ile sertlik testi gerçekleştirilir. Rockwell, Brinell, Vickers ve Knoop olmak üzere 4 adet mikro sertlik ölçüm metodu bulunmaktadır (172). Her ne kadar farklı metotlar olsalar da, temelde bu testler materyalin sertliği hakkında bilgi sunarlar. Bu yöntemlerin ortak özelliği test edilecek materyal üzerinde iz bırakma esasına dayanmalarıdır (24). Test ucu olarak kullanılan elmasın şekli ve yapısına göre farklı ölçüm metotları kullanılarak materyalin sertlik değeri elde edilmektedir. Bu yöntem, diş gibi sert dokuların sertliği hakkında kantitatif bir değerlendirmeye olanak sağlayarak özellikle dental araştırmalarda demineralizasyon/ remineralizasyon gibi mineral kazanımı ya da kaybı hakkında bilgi edinilmesine yardımcı olabilmektedir (172-174).

2.8.2 Nano Sertlik (Nano İndentasyon)

Nano indentasyonda cihazın konik yapıda, nano boyutlu bir ucu (tip) bulunmaktadır. Bu uç, test edilecek materyale bastırıldığında, materyalde plastik ve elastik deformasyonlar yaratarak, ucun yapısına göre (konik, yuvarlak, ya da piramit vb.) bir iz oluşur. Oluşan iz, materyalin plastik deformasyon sınırını aşar. Materyal bu basınca karşı bir tepki oluşturur. Bu tepki elastik toparlanmaya bağlı olarak gelişir. Ancak belirli bir noktadan sonra materyalin elastik toparlanması durur. Nano indentasyon cihazı bu oluşan tepki değerini materyalin elastisite modülü (E_i) olarak kaydeder. Ucun batma derinliği ve uygulanan kuvvete göre materyalin sertlik değeri (H_i) cihaz tarafından kaydedilir (175). İndentasyon testinin, mikro sertlik testinden farkı, sertlik ölçümünün yanı sıra materyalin elastisite modülünün ve plastik deformasyon değerlerinin de hesaplanmasına olanak sağlamasıdır. İndentasyon testinin bir diğer önemli farklılığı da 0,1 milinewton (mN) gibi düşük kuvvetlerde yük uygulayabilme kabiliyetidir (176). Bu nedenle nano indentasyon yöntemi, gerek dental materyaller gerek diş sert dokuları olsun mekanik özelliklerin incelendiği araştırmalarda tercih edilmektedir (177-180).



Şekil 2-1: Nano indentasyon yönteminde kullanılan uç çeşitleri

2.8.3 Konfokal Lazer Taramalı Mikroskopi

Konfokal lazer taramalı mikroskopi (KLTM)'de geleneksel mikroskoptan farklı olarak görünür ışık kaynağı yerine Argon ve Helyum-Neon tipi lazer ışını kullanılır. İncelenecek numune, floresans boyaları (Rhodamin-B, Xylenol Orange,

Lucifer Yellow vb.) yardımı ile işaretlenir. Kullanılmakta olan floresans boyaının kendine ait bir uyarılma (excitation) ve ışıma (emission) değeri bulunmaktadır. Bu değere bağı olarak lazer ışınının dalga boyu düzenlenir. İnceleme sırasında numune üzerinde floresans boya ile işaretlenmiş alanlar uyarılma sonrası farklı dalga boylarında ışıma yaparlar. Ancak mikroskopta girilen odak aralığı (pin hole ya da konfokal olarak adlandırılır) sayesinde istenen dalga boyuna sahip ışık geçirgenliği sağlanır ve incelenen alanın yüksek çözünürlüklü ve net görüntüsünün elde edilmesi mümkün olur. KLTM mikroskobu sayesinde 2 boyutlu görüntü elde edilebildiği gibi cihazın sağladığı programlar ile elde edilen kesitlerin üst üste bindirilmesi ve incelenen numunenin 3 boyutlu görsellerin elde edilmesi mümkün olmaktadır (181).

KLTM diş hekimliğinde; kanal dolgu patlarının dentin tübüllerine penetrasyon derinliğinin saptanmasında, kanal irrigasyon materyallerinin penetrasyon etkinliğinin değerlendirilmesinde, yapay çürük oluşturma çalışmalarında çürük penetrasyon miktarının saptanmasında, remineralizasyon çalışmalarında materyallerin remineralizasyon etkinliklerinin saptanmasında, dentin bağlayıcı ajanların mikro ve nano sızıntı miktarlarının değerlendirilmesinde ve dentin bağlayıcı ajanların remineralizasyon etkinliklerinin değerlendirilmesinde kullanılabilmektedir (6, 114, 182-189).

KLTM, incelenen numunenin kesitinin yüzey özelliklerinden ve içerdiği nemden etkilenmez ve elde edilecek görüntü kalitesinden ödün vermez. Bu nedenle numune hazırlama sırasında kolaylık sağlar. KLTM özellikle dentin dokusu gibi organik ve inorganik içerikli ve pürüzsüz kesit elde edilmesinin zor olduğu numunelerin incelenmesinde oldukça etkili bir yöntemdir (182).

2.8.4 Taramalı Elektron Mikroskopisi ve Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi

Yüksek çözünürlüklü ve 3 boyutlu olarak örneklerin incelenmesine olanak sağlayan taramalı elektron mikroskobu (SEM) ilk olarak 1937 yılında Manfred von Ardenne tarafından geliştirilmiştir. Geleneksel ışık mikroskobundan farklı olarak ışık

kaynağı yerine elektron tabancası yani elektron kullanılır. Yüksek voltaj uygulanan volfram bir telden ayrılan bu elektronlar anot bir plak tarafından yönlendirilip kondansör ve objektif merceklerden geçerek incelenecek örnek üzerine çarptırılır. Elektronların ortamda bulunan hava molekülleri ile etkileşiminin engellenmesi için inceleme vakumlu ortamda gerçekleştirilir. Örnek yüzeyine çarpan elektronlar sonucunda üç durum gerçekleşir. Birinci olayda; elektronlar örneği oluşturan atomların dış yörünge elektronları ile çarpışır ve saçılır. Bu çarpışma sonrası alınan elektronlara Auger elektronları denir ve örneğin yüzey topografisi hakkında bilgi sağlar. İkinci olayda; örneğe çarpan elektronlar, örneğin dış yüzeyini oluşturan atomların dış yörüngelerinde bulunan elektronların ayrılmasına neden olur. Oluşan bu düşük enerjili yörünge elektronları ikincil elektron olarak adlandırılır ve yüzey topografisi hakkından daha detaylı ve yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilmesini sağlar. Üçüncü olayda ise; örneğe çarpan elektronlar örneği oluşturan atomların iç yörüngesinden elektron kopmasına sebep olur. Atomik kararlılığın devamı için iç yörüngeden kopan elektronun yerine dış yörüngeden bir elektron geçer. Dış yörünge elektronları, iç yörünge elektronlarına göre daha yüksek enerji barındırırlar. Bu nedenle dış yörüngeden iç yörüngeye elektron sıçraması sırasında karakteristik X ışını salımı gerçekleşir. Salınan X ışını, ilgili atom hakkında bilgiler sağlar ve örneği oluşturan elementlerin saptanmasına yardımcı olur. Bu element analiz yöntemine ise Enerji Dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDS) denir (190-193).

Taramalı elektron mikroskobu, geliştirildiği ilk günden itibaren bilimin pek çok farklı dalında kullanım alanı bulmuştur. Başta fizik, kimya, biyoloji olmak üzere temel bilimler, tıp, diş hekimliği, mühendislik, jeoloji, arkeoloji gibi pek çok alanda hizmet verebilmektedir (190). SEM-EDS'nin bilim dünyasında bu kadar geniş kullanım alanı bulabilmesinin en temel nedeni, şüphesiz yüksek çözünürlük, yüksek ayırım gücü (yaklaşık 0,05nm'ye kadar), büyütme gücü (5x-300000x bant aralığında), 2-3 boyutlu görüntü elde edebilmesi ve element analizi (EDS) gerçekleştirebilmesinden kaynaklanmaktadır (190). Bu özellikleri ile SEM, diş hekimliğinde de kendine geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Diş sert dokularının incelenmesi, dentin bağlayıcı ajanların diş sert dokuları ile ilişkisi, mikro ve nano sızıntı araştırmaları, dental seramik ve kompozitlerin incelenmesi, dental restoratif

materyallerin kırık tipi analizleri, demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmaları, fissür örtücü çalışmaları, dental preparasyonda kullanılan materyallerin (frez, kanal eğesi, döner alet eğeleri vb.) özelliklerinin ve yıpranmalarının incelenmesi gibi pek çok araştırma alanında SEM-EDS'den faydalanılmaktadır (46, 110, 194-201).

2.8.5 Transversal Mikro Radyografi

Transversal Mikro Radyografi (TMR) yönteminde bir kesit boyunca dik bir açıyla iletilen x-ışınının kesit boyunca zayıflamasına bağlı olarak görüntü üzerine opak bölgeler oluşturulması, bu bölgelerin alüminyum kademeli referans kama ile karşılaştırılarak ölçülmesi ve böylece diş sert dokularının mineral içeriğinin nicel olarak hesaplanmasına dayalı bir mantık söz konusudur. TMR çürük çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Ancak düz ve paralel kesitler alınmasını gerektirir. Bu nedenle invaziv ve hassas bir yöntemdir. Bununla birlikte lezyon derinliği, mineral kaybı ya da remineralizasyon derinliği ve etkinliği hakkında değerlendirme yapılabilmesine olanak sağlar. TMR hem mine hem de dentin demineralizasyon-remineralizasyon çalışmalarında güvenle kullanılmaktadır (202).

2.8.6 Mikro Bilgisayarlı Tomografi

Geleneksel radyografi, x ışınları yardımı ile incelenmek istenen nesnenin iki boyutlu görüntüsünün elde edilmesi prensibine dayanır. Ancak farklı açılardan birçok defa alınan radyografik görüntülerin bilgisayar programları aracılığı ile işlenmesi ve düzenlenmesi ile incelenen numunenin üç boyutlu görüntüsünün elde edilmesi mümkündür. Bu yöntem ile elde edilen üç boyutlu görsele tomografi, yöntemine ise bilgisayarlı tomografi adı verilir. İki boyutlu görüntülerde her birim kare piksel olarak adlandırılır ve görüntünün kalitesi piksellerin küçüklüğü ve yoğunluğu ile belirlenir. Tomografide ise görüntüler üç boyutlu olduğu için her birim küp voksel olarak adlandırılır. Voksellerin sıklığı ve küçüklüğü görüntü kalitesini ortaya koyar. 5-50µm aralığında voksel oluşturma gücüne sahip cihazlar ise µBT olarak adlandırılır. µBT diş sert dokularının mineral yoğunluğu farklılıklarını %1'den az sapma ile ve yüksek çözünürlükte ölçülebilir (203). Bununla birlikte sağlam ya da çürük mine ve dentin

dokularının demineralizasyon-remineralizasyon çalışmalarında kullanılabilir ve mineral yoğunlukları hakkında kantitatif ölçüm yapabilir (204).

2.9 Dentin Bağlayıcı Ajanların Bağlanma Dayanımı Ölçüm Yöntemleri

Elektron mikroskopi yöntemleri, adeziv-mine/dentin bağlantısının karakterizasyonu hakkında detaylı bilgiler sunmasına rağmen, dentin bağlayıcı ajanların bağlanma dayanımının etkinliğini ölçmek için mekanik test yöntemleri gerekmektedir. Bağlanma mukavemeti ölçümlerinin amacı, bağlayıcı ajan ile diş sert dokusu arasındaki bağlantının gücü ve oral fonksiyonlar sırasında maruz kalınan kuvvetlere karşı mukavemeti hakkında bilgi elde etmektir. İdeal bağlanma dayanım testi basit ve makul derecede hızlı olmalıdır. Genel olarak laboratuvar testlerinin avantajları; sadeliği, verilerin belirli parametreler ölçüsünde nispeten çabuk toplanması, aynı anda birçok deney grubunun test edilebilmesi için bir çalışma setinin oluşturulabilmesi ve yeni geliştirilen malzeme, yöntem ya da tekniğin performansını mevcut altın standardın performansı ile doğrudan kıyaslayabilmesidir. Ayrıca testler sırasında olası değişkenlerin sabit tutulabilmesi ve sadece istenen parametrenin değerlendirilebilmesi, laboratuvar testlerinin bir diğer avantajıdır (205). Günümüzde dentin bağlayıcı ajanların bağlanma dayanımlarını ölçmek için bazı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler prensipte bağlanma yüzey alanına bağlı olarak makro veya mikro bağlanma dayanım testleridir (206).

2.9.1 Makro Gerilim Bağlanma Dayanımı

Bağlanma yüzey alanı 1mm^2 'den büyük numunelerin bağlanma dayanım testleri gerilim, push out, ya da makaslama dayanım testleri yardımı ile ölçülür. Bu yöntem simanların metal alaşımları ya da seramikler ile yaptıkları bağ kuvvetini ölçmek için kullanılır ve daha az popülerdir (207). Yorucu preparasyon işleri ve zaman alıcı bir yöntem olduğu için evrensel bağlanma dayanım testi olarak kabul görmemiştir. Ancak makro gerilim bağlanma dayanım testi, kök kanalına simante edilen postların retansiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılabilir (208). Diş

hekimliğinde kullanılan adezyon testleri içinde en popüler olan yöntem makaslama bağlanma dayanım testidir (206).

2.9.2 Mikro Gerilim Bağlanma Dayanımı

Sano tarafından 1994 yılında geliştirilen prosedüre göre dentin bağlayıcı ajanların bağlanma dayanımı; gerilme esnasında mikro gerilimli bağ kuvveti (μ TBS) testi ile ölçülür (209). Bağlanma yüzey alanı küçüldüğünde, stres dağılımının daha iyi olduğu ve büyük yüzey alanı ile gerçekleştirilen stres testlerine göre daha yüksek değerler elde edildiği bildirilmiştir (210). Bu durumun bağlanma yüzeyinde oluşabilecek kusurların ya da hataların elemine edilmesine bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir (210). Hava baloncukları, su kabarcıkları veya rezin-çözücü faz ayrım bölgeleri gibi bağlantıda oluşan kusurlar, bağ testi sırasında gerilim çoğaltıcı alanlar olarak etki etmektedir. Bu kusurlar, bağlantıyı oluşturan ara faz bileşenlerinden (rezin-kompozit tabaka, hibrit tabakanın üstü, sızdırılmış rezin-kollajen veya rezinin ulaşmadığı alanlar) birinin daha fazla strese maruz kalmasına, lokalize gerilmelerin başlamasına ve hızla yayılım gösteren çatlaklara neden olur. Bağlantı yüzey alanı daha küçük olan numunelerin rezin-dentin ara yüzü boyunca stres dağılımı daha düzgündür ve diş dokusunda koheziv bir kırık tipi yerine adeziv kırık oluşması daha yüksektir (209). Mikro gerilim bağlanma mukavemeti testleri için kullanılan numunelerde, test edilen bağlantı alanı, makro testlere kıyasla çok daha küçüktür ve yaklaşık olarak $0,8-1,44 \text{ mm}^2$ civarındadır. Mikro gerilim bağlanma dayanımı testi için örnek elde edilmesi teknik olarak hassasiyet gerektiren bir işlemdir. Bununla birlikte, mikro gerilim bağlanma dayanımı testlerinin; tek bir diştten birçok örnek elde edilebilmesi, stres dağılımının daha iyi sağlanabilmesi ve isteğe bağlı olarak perifer ya da merkezden dentin örneği alınabilmesi gibi avantajları vardır (209).

Bu tez çalışmasının amacı; farklı oranlarda nano ölçekte hidroksiapatit içeren dentin bağlayıcı ajanların, nano indentasyon, konfokal lazer taramalı mikroskopisi, enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi yöntemleri kullanılarak remineralizasyon etkinliklerinin ve mikro gerilim bağlanma dayanımlarının değerlendirilmesidir. Çalışmanın remineralizasyon etkinliği ve bağlanma dayanımı parametreleri adeziv

rezine ait farklı özelliklerin kıyaslanmasını gerektirmektedir. Bu sebeple çalışmada iki ayrı sıfır hipotez oluşturulması ihtiyacı doğmuştur. Dolayısıyla çalışmanın sıfır hipotezleri;

1. H_0 : Hidroksiapatit doldurucu eklenmesinin dentin bağlayıcı ajanların remineralizasyon etkinliği üzerine etkisi yoktur.
2. H_0 : Hidroksiapatit doldurucu eklenmesinin dentin bağlayıcı ajanların bağlanma dayanımları üzerine etkisi yoktur.

şeklinde oluşturulmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

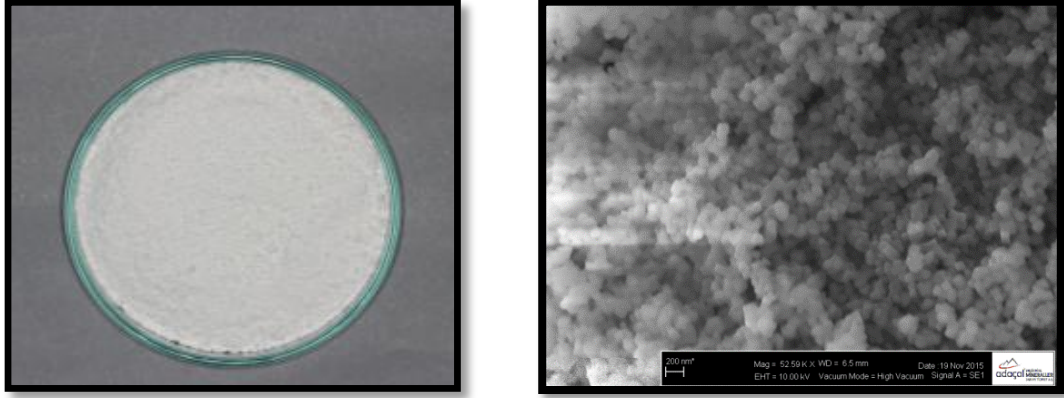
In vitro koşullarda gerçekleştirilen bu tez çalışması için İzmir Kâtip Çelebi Üniwersitesi Girişimsel olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2015/37 ve 2018/141 numaralı etik kurul onayı alındı.

Bu alışma aşağıda belirtilen sıra ile 8 temel aşamada gerçekleştirildi.

- Hidroksiapatit karakterizasyon ve partikül boyutu analizi
- Deneysel dentin bağlayıcı ajanın hazırlanması
- Simüle edilmiş vücut sıvısının hazırlanması
- Diş örneklerinin hazırlanması
- Nano indentasyon analizi ile dentin dokusuna ait yüzey sertliğinin değerlendirilmesi
- Konfokal lazer taramalı mikroskopi yöntemi ile mineral depozisyon alanlarının değerlendirilmesi
- Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi ile iyon analizinin gerçekleştirilmesi
- Mikro gerilim bağlanma dayanımı analizinin gerçekleştirilmesi

3.1 Hidroksiapatit Karakterizasyon ve Partikül Boyutu Analizi

Çalışmada doldurucu olarak kullanılacak olan nano boyuttaki hidroksiapatit (Xi'an Realin Biotechnology Co., Xian, Shaanxi, ÇİN) materyali temin edildikten sonra x-ray diffraction (XRD) yöntemi ile karakterizasyon ve taramalı elektron mikroskobu ile partikül analizi gerçekleştirildi (Adaal Endüstriyel Mineraller Sanayi ve Ticaret A.ř., Emirdağ, AFYON) ve elde edilen sonuçlara göre, kullanılması planlanan hidroksiapatitin %96 saflıkta, rhombohedral yapıda olduğu ve partikül boyutunun 40-160 nm arasında değerliklik gösterdiği tespit edildi.



Resim 3-1: Nano partikül boyutlu hidroksiapatit (Xi'an Realin Biotechnology Co., Xian, Shaanxi, ÇİN)

3.2 Deneysel Dentin Bağlayıcı Ajanın Hazırlanması

Deneysel bağlayıcı ajanın organik matriksini oluşturmak amacıyla, doldurucu içermeyen asitle ve yıka sisteme ait bir bağlayıcı ajan olan Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) kullanıldı.

Deneysel bağlayıcı ajan hazırlanması sırasında bağlayıcı ajanın ışıktan etkilenmemesi için ışık geçirmez siyah renkli plastik şişeler kullanıldı. Dört ayrı şişeye 3'er gram (g), yaklaşık 5 mililitrelik (ml) bağlayıcı ajan konuldu. Ölçüm öncesinde şişenin ağırlığının darası alındı. Duyarlılık aralığı 10^{-3} g olan hassas terazi (Denver Instruments, New York, ABD) yardımı ile 0,06 g, 0,21 g, 0,15 g'lık nano hidroksiapatit tozu ölçülerek ayrıldı. Ölçümler sırasında hidroksiapatit tozunun taşınması için kullanılan ölçüm kabının darası alındı. Daha sonra 3 g'lık bağlayıcı ajan içeren şişelere sırasıyla; ağırlıkça %2 (0,06 g), %5 (0,15 g), %7 (0,21 g) oranında doldurucu eklendi.

Homojen karışım elde edilebilmesi amacıyla ultrasonik bir karıştırıcı (UP400S, Hielscher Ultrasonics, Teltow, ALMANYA) kullanılarak bağlayıcı ajanlar 2 dakika (dk.) süre boyunca 0,5 devirde ve 50 genlikte homojenize hale getirildi. Karıştırma işlemi sırasında ısı oluşumunu önlemek amacıyla işlem 30 sn'lik aralıklarla gerçekleştirildi.

Konfokal lazer taramalı mikroskopi analizi için kullanılması planlanan deneysel bağlayıcı ajanlara ise ilave olarak ağırlıkça %0,1 oranında rodamin B tozu (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) eklendi ve homojenize olması amacı ile 15 sn süre ile ilave karıştırma işlemi gerçekleştirildi. Karıştırma işlemi sonrası dentin bağlayıcı ajanlar Tablo 3-1 ve Tablo 3-2’de gösterildiği şekilde gruplandırıldı.



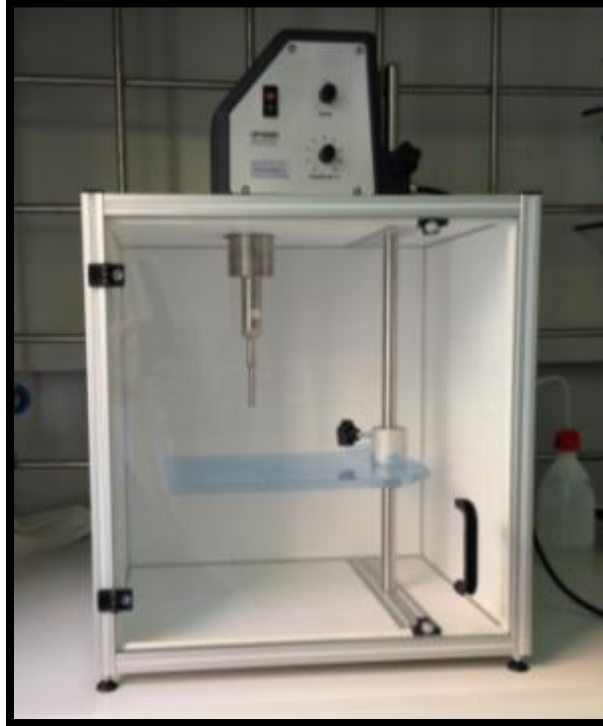
Resim 3-2:Çalışmada kullanılan, doldurucu içermeyen dentin bağlayıcı ajan (Adper Scotchbond Multi-Purpose; 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD)



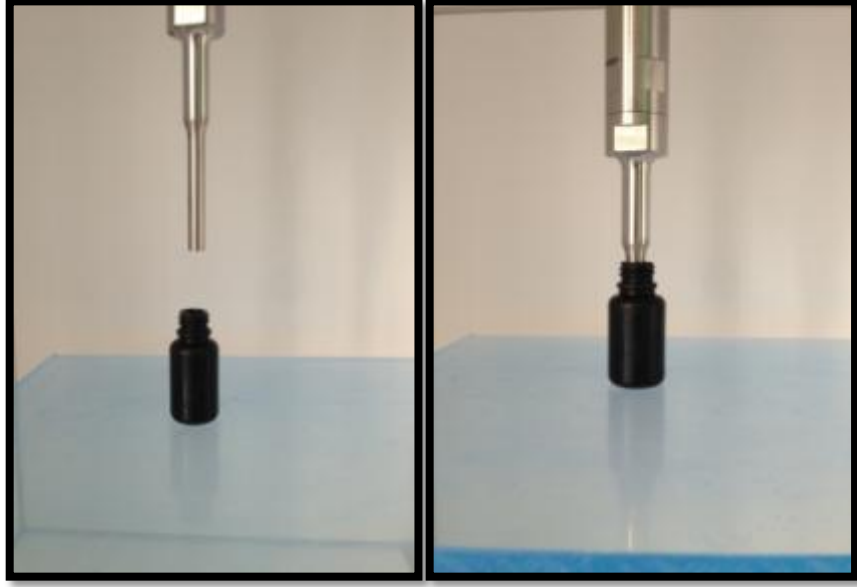
Resim 3-3: Asit etch (Adper Scotchbond Multi-Purpose, Scotchbond Universal Etchant; 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD)



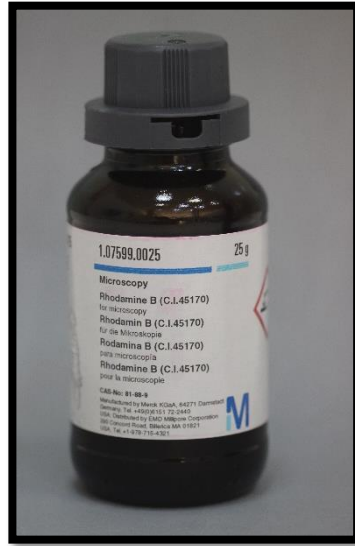
Resim 3-4: Ölçümler için kullanılan hassas terazi (Denver Instruments, New York, ABD)



Resim 3-5: Ultrasonik karıştırıcı (UP400S, Hielscher Ultrasonics, Teltow, ALMANYA)



Resim 3-6: Karıştırma işleminin gerçekleştirilmesi



Resim 3-7: Rodamin B tozu
(Merck KGaA, Darmstadt,
Almanya)

Tablo 3-1: Doldurucu içeriğine göre dentin bağlayıcı ajanlar

Gruplar	Doldurucu İçeriği
Kontrol	Kontrol grubu (%0 oranında HA partikülü içeren bağlayıcı ajan)
%2 HA	Ağırlıkça %2 oranında HA partikülü içeren bağlayıcı ajan
%5 HA	Ağırlıkça %5 oranında HA partikülü içeren bağlayıcı ajan
%7 HA	Ağırlıkça %7 oranında HA partikülü içeren bağlayıcı ajan

Tablo 3-2: Konfokal lazer taramalı mikroskop analizinde kullanılacak dentin bağlayıcı ajanların içeriği

Gruplar	Doldurucu İçeriği
Kontrol	Ağırlıkça %0 oranında HA + %0.1 rhodamin B
%2 HA	Ağırlıkça %2 oranında HA + %0,1 rhodamin B
%5 HA	Ağırlıkça %5 oranında HA + %0,1 rhodamin B
%7 HA	Ağırlıkça %7 oranında HA + %0,1 rhodamin B

3.3 Simüle Edilmiş Vücut Sıvısının Hazırlanması

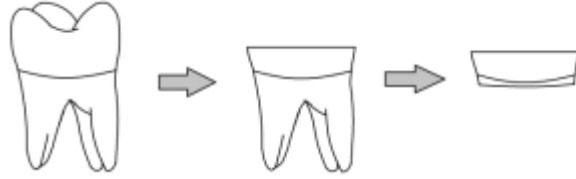
Materyallerin biyomimetik özelliklerinin değerlendirilmesinde ve biyoaktivite deneylerinde kullanılan “simüle edilmiş vücut sıvısı (SBF)” Kokubo yöntemi kullanılarak hazırlandı (211). Yönteme göre ilk olarak 750 ml saf su, 36,5 °C sıcaklığa ayarlandı ve kimyasal malzemeler Tablo 3-3’te verilen sırayla saf suya eklendi. Kimyasal malzemelerin su içerisinde tam olarak çözünmesine önem gösterildi. Çözeltinin pH değeri hidroklorik asit (HCl) ve TRIS (Hidroksimetil aminometan) eklenerek ayarlandı. pH değeri sağlandıktan sonra saf su ilave edilerek çözelti 1000 ml’ye tamamlandı. Son çözelti pH’sı 7,4 olarak sabitlendi. Çözeltinin şeffaf olması ve herhangi bir çökeltinin olmaması için çözelti her seferinde 1 L olarak hazırlandı. Hazırlanan çözelti maksimum 5 gün süre ile 5°C’de buzdolabında saklandı. Kullanım süresi dolan veya çökeltme görülen çözeltilerin tazesini hazırlandı.

Tablo 3-3: SBF hazırlamak için kullanılan kimyasal malzemeler (1 litre)

Sıra	Kimyasal Bileşik	Miktar
1	NaCl	7,996 g
2	NaHCO ₃	0,350 g
3	KCl	0,224 g
4	K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,228 g
5	MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,305 g
6	HCl (1kmol/m ³)	40 cm ³
7	CaCl ₂	0,278 g
8	Na ₂ SO ₄	0,071 g
9	NH ₂ C(CH ₂ OH) ₃	6,057 g

3.4 Diş Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmada çürük içermeyen periodontal problemler nedeni ile çekilmiş 392 adet insan molar dişi kullanıldı. Çekimden sonra dişler çalışma zamanına kadar (en fazla 1 ay süre için) +4°C’de % 0,1’lik timol solüsyonu içerisinde bekletildi. Planlanan testler yapılmadan önce, yumuşak doku artıkları ve eklentilerden arındırılan dişler, flor içermeyen pomza ve fırça yardımı ile temizlendi. Pomza artıklarının temizlenmesi için her diş 15 s yıkandı. Diş kökleri mine-sement sınırının 1 mm apikalinden kesildi. Dişler, servikal hatta paralel ve orta koronal dentin açığa çıkacak şekilde hassas kesme cihazı ile (Buehler Inc., Lake, Bluff, IL, ABD), 76 mm çapında ve 0,3 mm kalınlığında elmas separe (IsoMet Blade 5LC-Buehler Inc., Lake, Bluff, IL, ABD) kullanılarak kesildi. Kesilen yüzeyler su soğutması altında 600 gridlik zımpara yardımı ile 60 s zımparalandı.



Şekil 3-1: Diş örneklerinin hazırlanması



Resim 3-8: Hassas kesme cihazı (Buehler Inc., Lake, Bluff, IL, ABD)

3.5 Nano İndentasyon Analizi

Kökleri uzaklaştırılan ve koronal dentini açığa çıkarılarak hazırlanan dişlerden 120 adedi nano indentasyon analizi için kullanıldı. Hazırlanan dişler, üretici firmanın talimatları doğrultusunda 15 saniye fosforik asit (Scotchbond Etchant, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) uygulamasını takiben 15 saniye yıkandı ve 10 saniye hava spreyi ile hafifçe kurutuldu. Daha sonra 10 saniye aplikatör yardımı ile primer (Scotchbond Multi Purpose Primer, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) uygulaması yapıldı. Dişlere hazırlanan bağlayıcı ajanlar aplikatör yardımı ile yine üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygulandı ve 10 saniye polimerize edildi (Valo Cordless, Ultradent Products, South Jordan, Utah, ABD). Dentin bağlayıcı ajan uygulamasını takiben her diş 4 mm kalınlıkta rezin kompozit (Filtek Z550 Posterior Restorative, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) restorasyon, tabakalama yöntemi kullanılarak yapıldı ve 40 saniye 395-480 nm dalga boyuna sahip ışık gücü üretebilen cihazın standart modu seçilerek polimerizasyon gerçekleştirildi.

Restorasyon sonrası her gruptan 10 diş 1 gün boyunca, 10 diş 30 gün boyunca, 10 diş ise 90 gün boyunca SBF'de 37°C'de etüvde bekletildi. Bekleme süresi sonrası dişlerden hassas kesme cihazı ile vertikal olarak 1 mm kalınlıkta kesitler alındı. Elde edilen kesitler su soğutması altında sırasıyla 800, 1000, 1200 gridlik zımparaların yardımı ile zımparalandı. Zımparalama işlemi sonrası kesitler 24 saat süre ile oda sıcaklığında (22-25°C) kurumaya bırakıldı. Kurutulan örneklerin elastisite (Ei) ve sertlik (Hi) değerleri nano indentasyon test cihazı (DME Tools DS 95-90, IBIS, Herlev, Danimarka) yardımı ile hesaplandı. Ölçümler, 500 milinewton (mN) kuvvet altında ve Bekovich tip indenter ile adeziv tabakanın 10 mikrometre (μm) altından başlanılarak düz bir hat şeklinde 5 (± 1) μm aralık ile 5 noktadan 3'er kez tekrarlandı ve ortalaması alınarak elastisite ve sertlik değerleri kaydedildi.



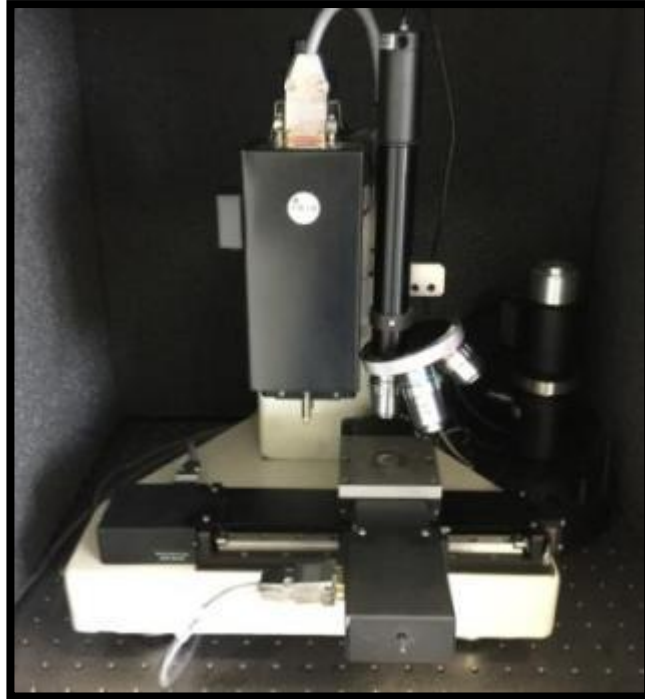
Resim 3-9: Polimerizasyonda kullanılan ışık cihazı (Valo Cordless, Ultradent Products, South Jordan, Utah, ABD)



Resim 3-10: Rezin kompozit (Filtek Z550 Posterior Restorative, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD)



Resim 3-11: Nano indentasyon test cihazı (DME Tools DS 95-90, IBIS, Herlev, Danimarka)



Resim 3-12: Nano indentasyon test cihazı (DME Tools DS 95-90, IBIS, Herlev, Danimarka)

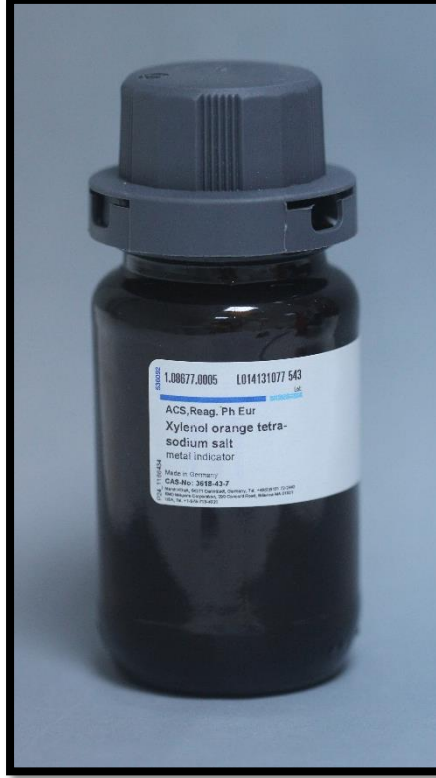
3.6 Konfokal Lazer Taramalı Mikroskopi Analizi

Kökleri uzaklaştırılan ve koronal dentini açığa çıkarılarak hazırlanan dişlerden 120 tanesi KLTM analizi için kullanıldı. Hazırlanan dişler, üretici firmanın talimatları doğrultusunda 15 saniye fosforik asit (Scotchbond Etchant, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) uygulamasını takiben 15 saniye yıkandı ve 10 saniye hava spreyi ile hafifçe kurutuldu. Daha sonra 10 saniye aplikatör yardımı ile primer (Scotchbond Multi Purpose Primer, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) uygulaması yapıldı. Dişlere hazırlanan bağlayıcı ajanlar aplikatör yardımı ile yine üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygulandı ve 10 saniye polimerize edildi (Valo Cordless, Ultradent Products, South Jordan, Utah, ABD). Dentin bağlayıcı ajan uygulamasını takiben her diş 4 mm kalınlıkta rezin kompozit (Filtek Z550 Posterior Restorative, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) restorasyon tabakalama yöntemi ile yapıldı ve 40 saniye 395-480 nanometre dalga boyuna sahip ışık gücü üretebilen cihazın standart modu seçilerek polimerizasyon gerçekleştirildi. Restorasyon sonrası her gruptan 10 adet diş 1 gün boyunca, 10 adet diş 30 gün boyunca, 10 adet diş ise 90 gün boyunca SBF'de 37°C'de etüvde bekletildi. Bekleme süreleri sonrası dişlerden hassas kesme cihazı ile vertikal olarak 1mm kalınlıkta kesitler alındı. Elde edilen kesitler ağırlıkça %0,5 oranında Xylenol Orange tespit boyası (XO: Merck HGaA, Darmstadt, Almanya) içeren sıvılarda 24 saat süre ile bekletildi.

Tespit boyasında bekletme işlemi sonrası kesitler su soğutması altında 10'ar saniye süre ile sırasıyla 800, 1000, 1200 gridlik zımparalar yardımı ile zımparalandı. Zımpara işlemi sonrası kesitler lam üzerine yerleştirildi ve konfokal lazer taramalı mikroskop (Leica TCS-SPE, Microsystems GmbH, Mannheim, Almanya) yardımı ile incelenecek kesitler elde edildi. Tarama işlemi için Helyum-Neon lazer kullanıldı. Xylenol orange tespit boyasına ait olan excitation/emission değerleri 488 ve 514 nm dalga boyu olarak ayarlandı.

Konfokal taramalı mikroskopi analizinden elde edilen görüntüler bilgisayara aktarılarak fotoğraf analiz programı olan ImageJ (Wayne Rasband MD, National

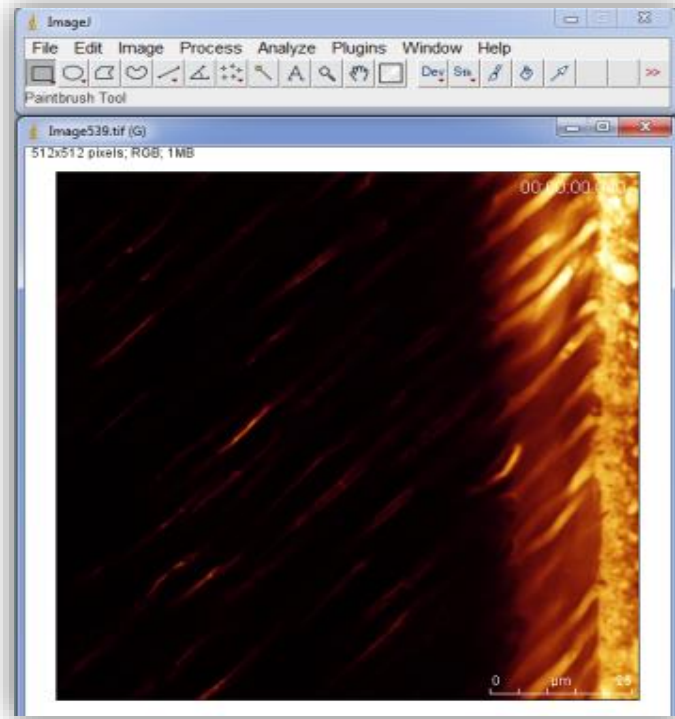
Institutes of Health, Bethesda, ABD) yardımı ile remineralizasyon alanlarının analizi gerçekleştirildi. Her bir görüntü üzerinde gerçekleştirilen ölçüm işlemleri üçer kez tekrarlandı ve ortalama değer final değer olarak kaydedildi.



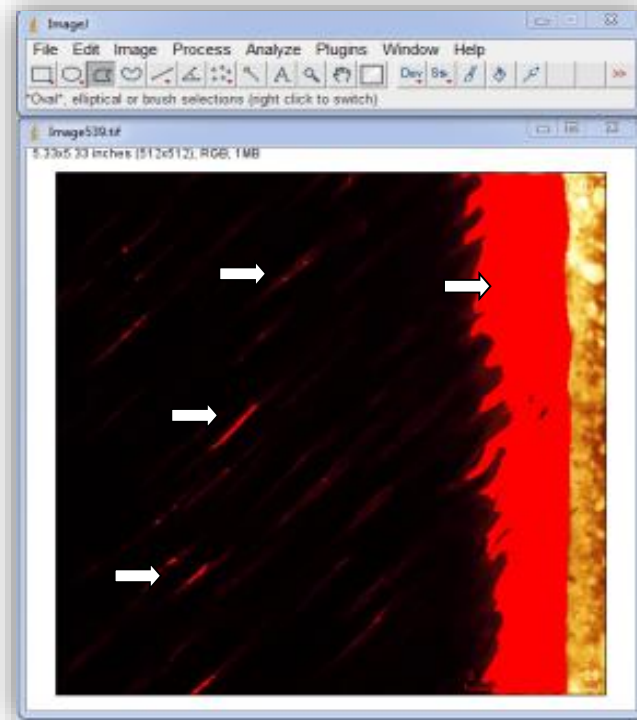
Resim 3-13: Xylenol orange tespit boyası (XO: Merck HGaA, Darmstadt, Almanya)



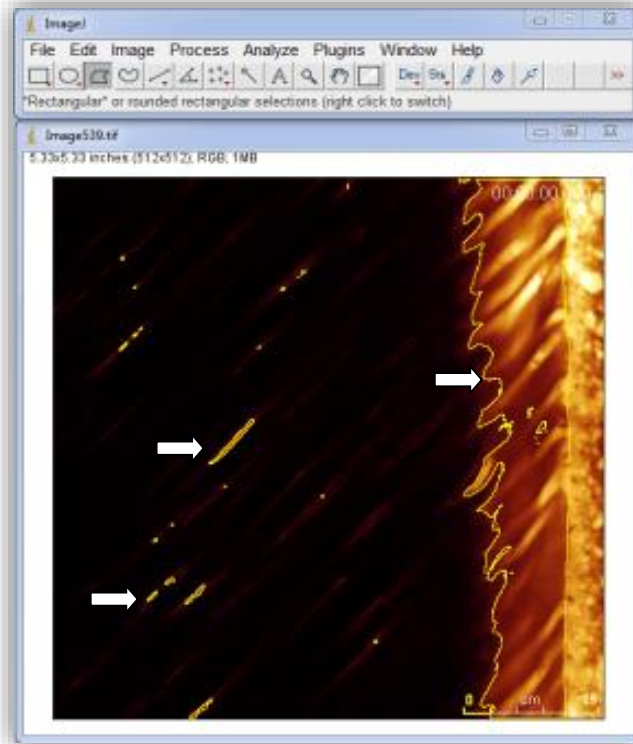
Resim 3-14: Konfokal lazer taramalı mikroskopi için hazırlanan örnekler



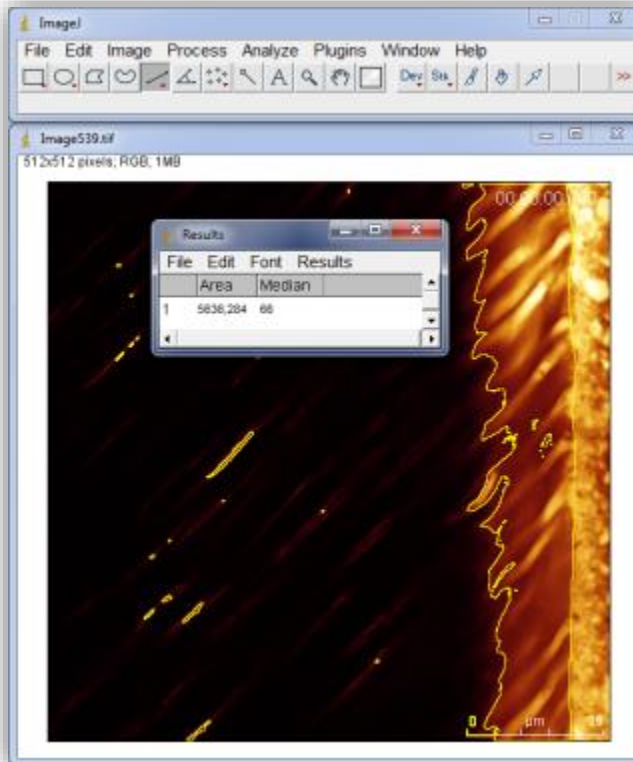
Resim 3-16: ImageJ fotoğraf analiz programında görüntünün işlenmeden önceki hali (Wayne Rasband MD, National Institutes of Health, Bethesda, ABD)



Resim 3-17: Fotoğraf analiz programı ile remineralize alanların otomatik olarak işaretlenmesi



Resim 3-18: Fotoğraf analiz programı ile remineralize alanın otomatik olarak seçilmesi



Resim 3-19: Fotoğraf analiz programı ile seçilmiş remineralize alan verilerinin elde edilmesi

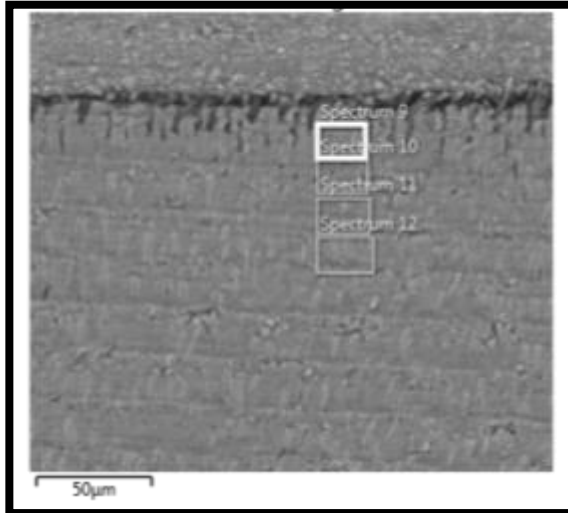
3.7 Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopi Analizi

Kökleri uzaklaştırılan ve koronal dentini açığa çıkarılarak hazırlanan dişlerden 120 tanesi EDS analizi için kullanıldı. Hazırlanan dişler, üretici firmanın talimatları doğrultusunda 15 saniye fosforik asit (Scotchbond Etchant, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) uygulamasını takiben 15 saniye yıkandı ve 10 saniye hava spreyi ile hafifçe kurutuldu. Daha sonra 10 saniye aplikatör yardımı ile primer (Scotchbond Multi Purpose Primer, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) uygulaması yapıldı. Dişlere hazırlanan bağlayıcı ajanlar aplikatör yardımı ile yine üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygulandı ve 10 saniye polimerize edildi (Valo Cordless, Ultradent Products, South Jordan, Utah, ABD). Dentin bağlayıcı ajan uygulamasını takiben her diş 4 mm kalınlıkta rezin kompozit (Filtek Z550 Posterior Restorative, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) restorasyon tabakalama yöntemi ile yapıldı ve 40 saniye süre ile 395-480nm dalga boyuna sahip ışık gücü üretebilen cihazın standart modu seçilerek polimerizasyon gerçekleştirildi. Restorasyon sonrası her gruptan 10 adet diş 1 gün, 10 adet diş 30 gün, 10 adet diş ise 90 gün SBF'de 37°C'de etüvde bekletildi. Bekleme süreleri sonrası dişlerden hassas kesme cihazı ile vertikal olarak 1mm kalınlıkta kesitler alındı. Elde edilen kesitler su soğutması altında sırasıyla 800, 1000, 1200 gridlik zımparalar yardımı ile zımparalandı. Zımparalama işlemi sonrası kesitler 24 saat süre ile oda sıcaklığında (22-25°C) kurumaya bırakıldı.

Örneklere ait mineral içeriklerindeki değişikliklerin tespiti amacıyla EDS X-ışını dedektör sistemi bulunan elektron mikroskobu (Qanta-FEG 250, FEI Company, OR, ABD) kullanıldı. EDS x-ışını detektörü yardımı ile adeziv tabakanın 10 µm altından, dentin-pulpa yönü boyunca düz bir hat şeklinde 4 alandan gerçekleştirildi. Dentin yüzeyinden ölçümü gerçekleştirilen kalsiyum (Ca), fosfor (P) ve Ca/P oranının ağırlıkça yüzde cinsinden değerleri kaydedildi.



Resim 3-20: Çalışmada kullanılan EDS X-ışını dedektörüne sahip taramalı elektron mikroskobu (Quanta-FEG 250, FEI Company, OR, ABD)



Resim 3-21:EDS analizi için ölçüm yapılacak alanların seçilmesi

3.8 Mikro Gerilim Bağlanma Dayanımı Testi

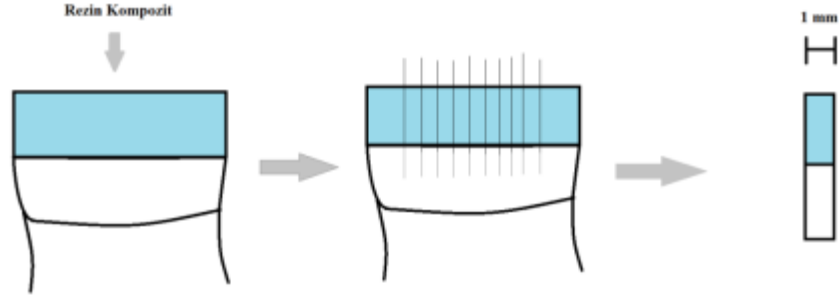
Kökleri uzaklaştırılan ve koronal dentini açığa çıkarılarak hazırlanan diş örneklerinden 32 tanesi mikro gerilim bağlanma dayanımı testi aşaması için kullanıldı. Dişler, her grupta 8 adet olmak üzere dört gruba ayrıldı ve üretici firmanın talimatları doğrultusunda 15 saniye fosforik asit (Scotchbond Etchant, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) uygulamasını takiben 15 saniye yıkandı ve 10 saniye hava spreyi ile hafifçe kurutuldu. Daha sonra 10 saniye aplikatör yardımı ile primer (Scotchbond Multi Purpose Primer, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) uygulaması yapıldı. Daha sonra hazırlanan bağlayıcı ajanlar, aplikatör yardımı ile yine üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygulandı ve 10 saniye polimerize edildi (Valo Cordless, Ultradent Products, South Jordan, Utah, ABD).

Dentin bağlayıcı ajan uygulamasını takiben her diş 4 mm kalınlıkta rezin kompozit (Filtek Z550 Posterior Restorative, 3M ESPE, St. Paul, MN, ABD) restorasyon tabakalama yöntemi ile yapıldı ve 40 saniye 395-480 nm dalga boyuna sahip ışık gücü üretebilen cihazın standart modu seçilerek polimerizasyon gerçekleştirildi.

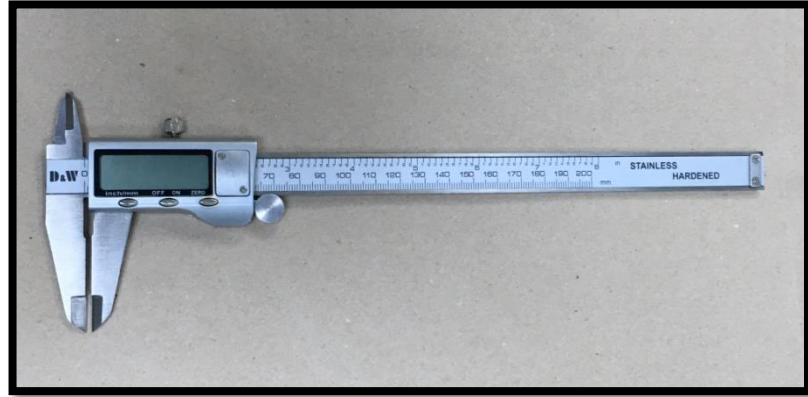
Restore edildikten sonra her bir diş, x ve y eksenlerinde hassas kesme cihazı yardımı ile su soğutması altında elmas separe ile 500 devir hızda kesilerek örnek çubuklar elde edildi. Elde edilen çubukların kesit alanları dijital bir kumpas (D&W, Hersbruck, Almanya) yardımı ile kontrol edildi. Her diştten pulpal dentine yakın olan alandan ortalama 6 çubuk seçildi. Elde edilen çubuklar stereo mikroskop (Olympus SZ61, Olympus Optical Co, Tokyo, Japan) altında incelendi ve deformite, kırık, çatlak gibi kusurlu olanlar çalışma dışında tutuldu.

Her gruptan toplamda 30'ar adet çubuk elde edildi. Daha sonra bu çubuklar üniversal test cihazında (Shimadzu, Model AGS-X 5kN, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) dakikada 1 mm hızla maksimum 5000 N kuvvet altında gerilime maruz bırakıldı. Elde edilen kopma değerleri kaydedildi. Kırık örnekleri ise taramalı

elektron mikroskobu (Qaunta-FEG 250, FEI Company, OR, ABD) ile $\times 250$ magnifikasyon altında incelendi ve kırık tipi analizi gerçekleştirildi. Kırık tipleri; adeziv, koheziv, miks tip olarak sınıflandırıldı.



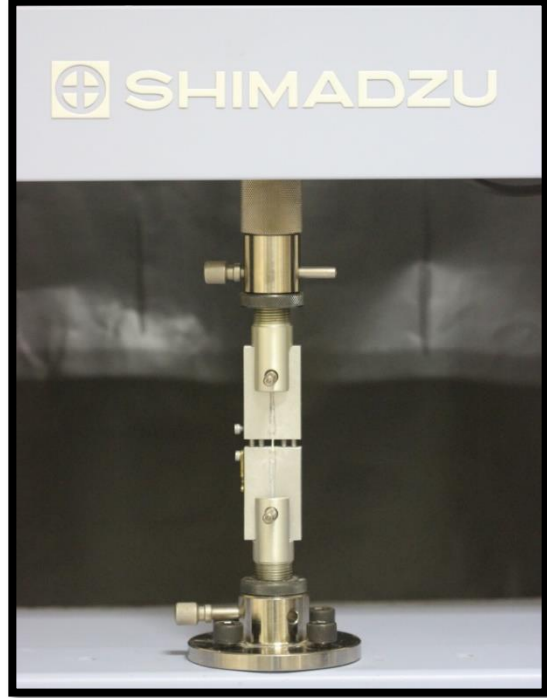
şekil 3-2: Diş örneklerinden çubuk elde edilmesi



Resim 3-22: Ölüm için kullanılan dijital kumpas (D&W, Hersbruck, Almanya)



Resim 3-23: Stereo Mikroskop (Olympus SZ61, Olympus Optical Co, Tokyo, Japonya)



Resim 3-24: Çubukların üniversal test cihazına bağlanması



Resim 3-25: Üiversal test cihazı (Shimadzu, Model AGS-X 5kN, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya)

3.9 İstatistiksel Analiz

Yapılan analizlerden elde edilen veriler IBM SPSS version 20,0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı aracılığı ile gerçekleştirildi.

Çalışmada değerlendirilen tüm parametrelere ait verilerin, yapılan Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım gösterdiği ve Leneve's homojenite testine göre varyansların homojen olduğu tespit edildi.

- Nano indentasyon parametresinden elde edilen elastisite ve sertlik verilerinin istatistiksel analizi üç yönlü varyans analizi (3-Way ANOVA), ikili karşılaştırmalar ise Post Hoc LSD testi ile gerçekleştirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak belirlendi.
- Konfokal Lazer Taramalı mikroskopi parametresine ait verilerin istatistiksel analizinde iki yönlü varyans analizi (2-Way ANOVA) ve ikili karşılaştırmalar ise Post Hoc Bonferroni testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak belirlendi.
- Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi parametresinden elde edilen verilerin istatistiksel analizi üç yönlü varyans analizi (3-Way ANOVA), ikili grup karşılaştırmaları ise Post Hoc SIDAK testi ile gerçekleştirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak belirlendi.
- Mikro gerilim bağlanma dayanımı parametresinden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA), ikili grup karşılaştırmalarında ise Post Hoc Tukey testi kullanıldı. Kırılma tipi dağılımının istatistiksel analizinde Ki Kare testi kullanıldı. Her iki test için de istatistiksel anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak belirlendi.

4. BULGULAR

Çalışmadan elde edilen bulgular,

- Nano indentasyon analizine ait bulgular
- Konfokal lazer taramalı mikroskopi analizine ait bulgular
- Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisine ait bulgular
- Mikro gerilim bağlanma dayanımına ait bulgular olmak üzere dört ana başlıkta değerlendirildi.

3.1 Nano İndentasyon Analizine Ait Bulgular

Çalışmanın nano indentasyon analizine ait veriler; elastisite modülüne ait bulgular ve sertlik modülüne ait bulgular şeklinde değerlendirildi.

3.1.1 Elastisite Modülüne Ait Bulgular

Elastisite modülüne ait ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4-1, Tablo 4-2, Tablo 4-3 ve Şekil 4-1' de gösterildi.

Elde edilen verilere göre; bağımsız değişkenler olan bekleme süresi, grup ve ölçüm noktası faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı ($F=0,509$; $p=0,976$) tespit edildi. Bununla beraber, bekleme süresi ve ölçüm noktası faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı ($F=0,434$; $p=0,901$) ancak bekleme süresi ve grup faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olduğu tespit edildi. Çalışmaya ait elastisite modülü değerlerinin gruplar ve bekleme sürelerinden etkilendiği saptandı ($F=2,249$; $p=0,037$).

Üç farklı zaman dilimi (1 gün, 30 gün, 90 gün), dört farklı grup (Kontrol, %2 HA, %5 HA, %7 HA) ve beş farklı ölçüm noktasının (5 ayrı nokta) elastisite modülüne ait değerlerinin ikili karşılaştırmalarına bakıldığında;

En yüksek elastisite modülü değerleri; 1 günlük bekleme süresi sonrası %5 HA grubunda (58,83 GPa), 30 gün ve 90 günlük bekleme süresi sonrası %7 HA grubunda (54,5 GPa), (55,41 GPa) görüldü.

Elastisite modülüne ait ortalama ve standart sapma değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı Tablo 4-1'te gösterildi.

- 1 günlük bekleme süresi sonrası ölçülen noktalarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).
- 30 günlük bekleme süresi sonrası 4. lm noktasında %7 HA grubu ile %5 HA grubu arasında anlamlı farklılık gözlenirken ($p=0,039$), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).
- 90 günlük bekleme süresi sonrası 1. lm noktasında %7 HA grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gözlenirken ($p=0,041$), diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Elastisite modülüne ait ortalama ve standart sapma değerlerinin gruplara göre dağılımı Tablo 4-2'te gösterildi.

- Kontrol grubu için; 1 günlük bekleme süresi sonrası ölçüm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmezken ($p>0,05$), 30 günlük bekleme süresi sonrası; 1. lm noktası ile 4. ($p=0,02$) ve 5. ($p=0,018$) lm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlendi. Diğer lm noktaları arası fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 90 günlük bekleme süresi sonrası; 1. lm noktası ile 3. ($p=0,029$) ve 4. ($p=0,025$) lm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi, diğer ölçüm noktaları arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p>0,05$).
- %2 HA grubu için; 1 günlük ve 90 günlük bekleme süresi sonrası 1. lm noktası ile diğer ölçüm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p<0,05$), diğer ölçüm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). 30 günlük bekleme süresi sonrası ölçüm noktaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

- %5 HA grubu için; üç ayrı zaman diliminde, 1. ölçüm noktası ile diğer ölçüm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0,05$). Diğer ölçüm noktaları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).
- %7 HA grubu için; 1 günlük ve 90 günlük bekleme süresi sonrası, 1. ölçüm noktası ile diğer ölçüm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0,05$). Diğer ölçüm noktaları arasındaki farklar ise istatistiksel olarak anlamlılık göstermedi ($p > 0,05$). 30 günlük bekleme süresi sonrası 1. ölçüm noktası ile 2 ($p = 0,002$), 3 ($p = 0,020$) ve 5. ($p = 0,014$) ölçüm noktaları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Elastisite modülüne ait ortalama ve standart sapma değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı Tablo 4-3'te gösterildi.

- 1. ölçüm noktasında; %5 HA grubunda 1 gün ve 90 gün bekleme süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p = 0,033$), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0,05$).
- 2. ölçüm noktasında; %2 HA grubunda 30 gün ve 90 gün bekleme süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olarak tespit edildi ($p = 0,033$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0,05$).
- 3. ölçüm noktasında; kontrol grubunda 90 gün bekleme süresi ile 1 ($p = 0,010$) ve 30 gün ($p = 0,016$) bekleme süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. %5 HA grubunda ise 1 gün ve 90 gün bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0,049$). Diğer bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0,05$).
- 4. ölçüm noktasında; tüm gruplar için bekleme süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).
- 5. ölçüm noktasında; kontrol grubunda 1 gün ve 90 gün bekleme süreleri arasında ($p = 0,023$) ve %5 HA grubunda 1 gün ve 90 gün bekleme süreleri arasında ($p = 0,036$) istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilirken diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).

Tablo 4-1: Elastisite modülü değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa)

Bekleme Süresi	Gruplar	Ölçüm Noktası				
		1.	2.	3.	4.	5.
1 Gün	Kontrol	51,55±13,16	43,7±8,69	46,77±8,43	42,78±11,75	46,99±14,15
	2% HA	54,19±9,34	36,74±13,74	36,9±7,64	42±11,39	37±8,33
	5% HA	58,83±13,15	44,88±8,58	43,63±14,08	39±12,61	42,17±6,65
	7% HA	54,24±8,98	39,19±8,68	40,34±8,42	40,67±15,09	41,85±5,58
30 Gün	Kontrol	52,52±18,47	46,84±12,98	45,93±13,07	40,34±8,27 ^{ab}	40,11±15,9
	2% HA	45,32±7,84	46,72±10,29	38,37±4,29	38,28±7,55 ^{ab}	37,67±7,93
	5% HA	51,7±4,26	37,04±12,31	38,9±9,39	33,52±9,79 ^a	36,4±7,23
	7% HA	54,5±13,16	38,2±11,74	42,31±14,67	44,35±14,79 ^b	41,6±8,17
90 Gün	Kontrol	44,72±24,17 ^x	36,95±15,87	33,27±14,28	32,98±14,05	35,04±15,86
	2% HA	48,51±11, ^{xy}	35,55±7,52	34,27±3,45	36,8±9,69	32,43±8,44
	5% HA	47,67±8,58 ^{xy}	34,75±14,45	33,29±8,69	34,51±8,31	31,19±7,99
	7% HA	55,41±16,31 ^y	40,01±13,52	42,45±18,42	38,49±10,47	35±10,52

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir ölçüm noktası ve bekleme süresine ait gruplar arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit, GPa: Gigapascal

Tablo 4-2: Elastisite modülü değerlerinin gruplara göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa)

Gruplar	Ölçüm Noktası	Bekleme Süresi		
		1 Gün	30 Gün	90 Gün
Kontrol	1.	51,55±13,16	52,52±18,47 ^a	44,72±24,17 ^x
	2.	43,7±8,69	46,84±12,98 ^{ab}	36,95±15,87 ^{xy}
	3.	46,77±8,43	45,93±13,07 ^{ab}	33,27±14,28 ^y
	4.	42,78±11,75	40,34±8,27 ^b	32,98±14,05 ^y
	5.	46,99±14,15	40,11±15,9 ^b	35,04±15,86 ^{xy}
%2 HA	1.	54,19±9,34 ^a	45,32±7,84	48,51±11,5 †
	2.	36,74±13,74 ^β	46,72±10,29	35,55±7,52 ‡
	3.	36,9±7,64 ^β	38,37±4,29	34,27±3,45 ‡
	4.	42±11,39 ^β	38,28±7,55	36,8±9,69 ‡
	5.	37±8,33 ^β	37,67±7,93	32,43±8,44 ‡
%5 HA	1.	58,83±13,15 [*]	51,7±4,26 ^o	47,67±8,58 †
	2.	44,88±8,58 [§]	37,04±12,31 ^p	34,75±14,45 †
	3.	43,63±14,08 [§]	38,9±9,39 ^p	33,29±8,69 †
	4.	39±12,61 [§]	33,52±9,79 ^p	34,51±8,31 †
	5.	42,17±6,65 [§]	36,4±7,23 ^p	31,19±7,99 †
%7 HA	1.	54,24±8,98 [#]	54,5±13,16 ⁺	55,41±16,31 †
	2.	39,19±8,68 ^{&}	38,2±11,74 [¶]	40,01±13,52 †
	3.	40,34±8,42 ^{&}	42,31±14,6 [¶]	42,45±18,42 †
	4.	40,67±15,09 ^{&}	44,35±14,79 [¶]	38,49±10,47 †
	5.	41,85±5,5 ^{&}	41,6±8,17 [¶]	35±10,52 †

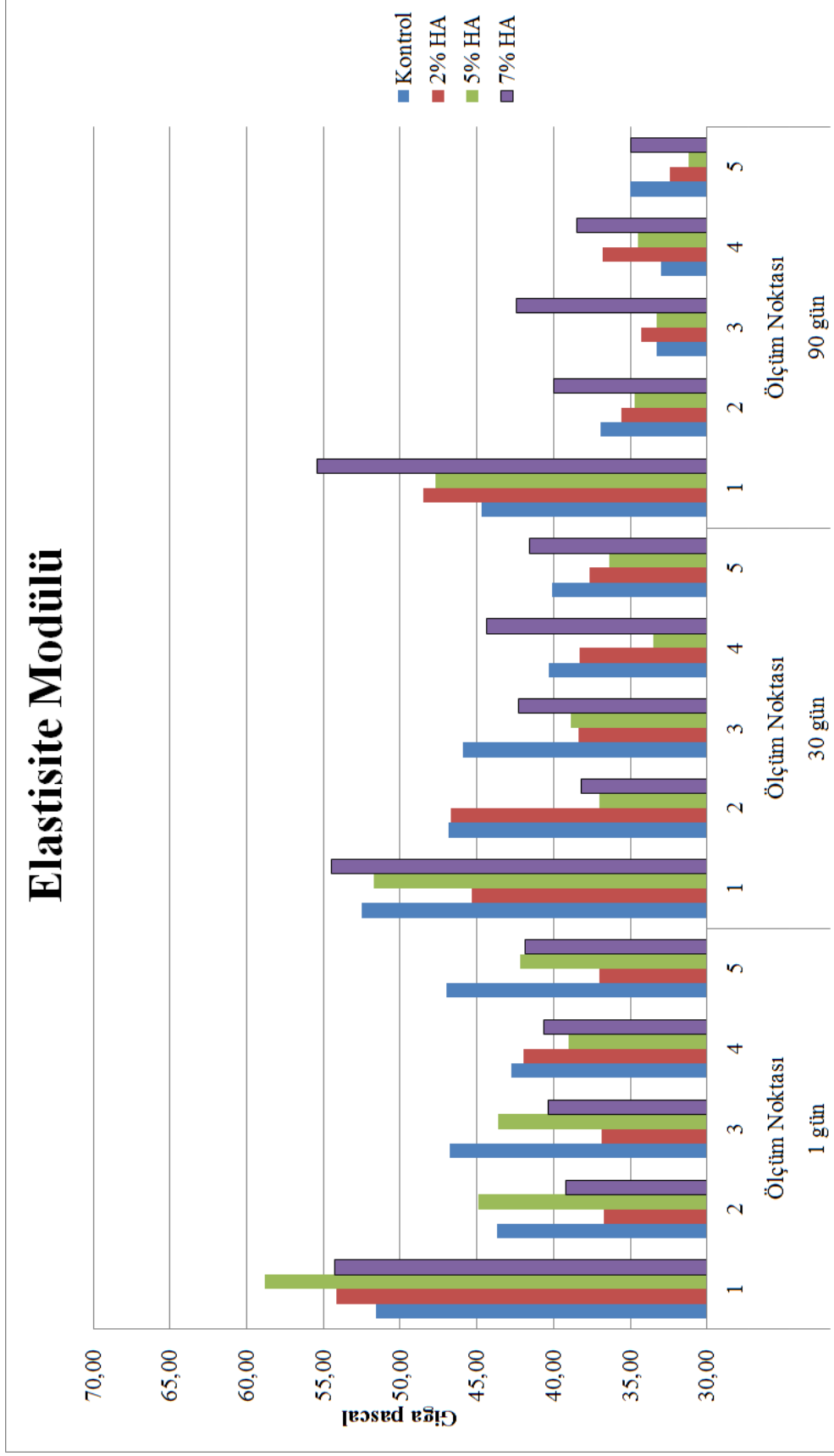
- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve bekleme süresine ait ölçüm noktaları arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit, GPa: Gigapascal

Tablo 4-3: Elastisite modülü değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (Gpa)

Ölçüm Noktası	Bekleme Süresi	Kontrol	%2 HA	%5 HA	%7 HA
1.	1 Gün	51,55±13,16	54,19±9,34	58,83±13,15 ^a	54,24±8,98
	30 Gün	52,52±18,47	45,32±7,84	51,7±4,26 ^{ab}	54,5±13,16
	90 Gün	44,72±24,17	48,51±11,5	47,67±8,58 ^b	55,41±16,31
2.	1 Gün	43,7±8,69	36,74±13,74 ^{xy}	44,88±8,58	39,19±8,68
	30 Gün	46,84±12,98	46,72±10,29 ^x	37,04±12,31	38,2±11,74
	90 Gün	36,95±15,87	35,55±7,52 ^y	34,75±14,45	40,01±13,52
3.	1 Gün	46,77±8,43 ^a	36,9±7,64	43,63±14,08 [†]	40,34±8,42
	30 Gün	45,93±13,07 ^a	38,37±4,29	38,9±9,39 ^{†‡}	42,31±14,67
	90 Gün	33,27±14,28 ^b	34,27±3,45	33,29±8,69 [‡]	42,45±18,42
4.	1 Gün	42,78±11,75	42±11,39	39±12,61	40,67±15,09
	30 Gün	40,34±8,27	38,28±7,55	33,52±9,79	44,35±14,79
	90 Gün	32,98±14,05	36,8±9,69	34,51±8,31	38,49±10,47
5.	1 Gün	46,99±14,15 [*]	37±8,33	42,17±6,65 ^b	41,85±5,58
	30 Gün	40,11±15,9 ^{*§}	37,67±7,93	36,4±7,23 ^{bo}	41,6±8,17
	90 Gün	35,04±15,86 [§]	32,43±8,44	31,19±7,99 ^o	35±10,52

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve ölçüm noktasına ait bekleme süreleri arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit, GPa: Gigapascal

Elastisite Modülü



Şekil 4-1: Elastisite modülü değerlerinin dağılımı (HA: Hidroksiapatit)

3.1.2 Sertlik Modülüne Ait Bulgular

Sertlik modülüne ait ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4-4, Tablo 4-5, Tablo 4-6 ve Şekil 4-2'de gösterildi.

Elde edilen verilere göre; bağımsız değişkenler olan bekleme süresi, grup ve ölçüm noktası faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı görüldü ($F=0,757$; $p=0,792$). Bununla beraber, bekleme süresi ve ölçüm noktası faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı ($F=0,759$; $p=0,639$), ancak bekleme süresi ve grup faktörleri birlikte değerlendirildiğinde, aralarında etkileşim olduğu tespit edildi. Çalışmaya ait sertlik modülü değerlerinin gruplar ve bekleme sürelerinden etkilendiği saptandı ($F=2,119$; $p=0,042$).

Üç farklı zaman dilimi (1 gün, 30 gün, 90 gün), dört farklı grup (Kontrol, %2 HA, %5 HA, %7 HA) ve beş farklı ölçüm noktasının (5 ayrı nokta) sertlik modülüne ait değerlerinin ikili karşılaştırmalarına bakıldığında;

En yüksek sertlik modülü değerleri; 1 günlük bekleme süresi sonrası kontrol grubunda (2,55 GPa), 30 gün ve 90 günlük bekleme süresi sonrası %7 HA grubunda sırasıyla (2,74 GPa), (2,68 GPa) görüldü.

Sertlik modülüne ait ortalama ve standart sapma değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı Tablo 4-4'de gösterildi.

- 1 günlük bekleme süresi sonrası; 3. ölçüm noktasında kontrol grubu ile %2 HA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenirken ($p=0,028$), diğer ölçüm noktalarında gruplar arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmedi ($p>0,05$).
- 30 günlük bekleme süresi sonrası; 1. ölçüm noktasında %2 HA ile %7 HA grupları arasında ($p=0,037$) ve 2. ölçüm noktasında kontrol grubu ile %5 HA grupları ($p=0,005$) ve %7 HA grupları arasında ($p=0,029$) ve %2 HA ile %5

HA grupları arasında ($p=0,031$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi. Ancak %5 HA ve %7 HA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$). 4. ölçüm noktasında ise %5 HA ile %7 HA grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,042$). Diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

- 90 günlük bekleme süresi sonrası; ölçüm noktalarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).

Sertlik modülüne ait ortalama ve standart sapma değerlerinin gruplara göre dağılımı Tablo 4-5'de gösterildi.

- Kontrol grubu için; 1 günlük bekleme süresinde, 1. nokta ile 2. ($p=0,021$), 4. ($p=0,017$) ve 5. ($p=0,043$) ölçüm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenirken, diğer ölçüm noktaları arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p>0,05$). 30 günlük bekleme süresi sonrası, 1. ile 4. ($p=0,018$) ve 5. ($p=0,006$) ölçüm noktaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer noktalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 90 günlük bekleme süresi sonrası 1. ölçüm noktası ile 3. ($p=0,025$), 4. ($p=0,009$) ve 5. ($p=0,049$) ölçüm noktaları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer noktalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).
- %2 HA grubu için; 1 günlük ve 90 günlük bekleme sürelerinde 1. ölçüm noktası diğer ölçüm noktalarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gösterirken ($p<0,05$), diğer ölçüm noktaları arasında fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 30 günlük bekleme süresinde ise ölçüm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).
- %5 HA grubu için; 1 günlük bekleme süresi sonrası 1. ile 3. ($p=0,02$), 4. ($p=0,03$), 5. ($p=0,029$) ölçüm noktaları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, 1. ve 2. ölçüm noktaları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0,108$). 3, 4. ve 5. ölçüm noktaları arası fark ise

istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 30 günlük ve 90 günlük bekleme sürelerinde ise 1. ölçüm noktası ile 2, 3, 4 ve 5. ölçüm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken ($p<0,05$), Diğer ölçüm noktaları arası fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

- %7 HA gurubu için; 1 günlük bekleme süresinde; 1. ve 2. ölçüm noktaları arasında ($p=0,037$), 30 günlük ve 90 günlük bekleme sürelerinde ise; 1. ölçüm noktası ile 2, 3, 4 ve 5. ölçüm noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$). Bununla birlikte 2, 3, 4. ve 5. ölçüm noktaları arası fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Sertlik modülüne ait ortalama ve standart sapma değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı Tablo 4-6'de gösterildi.

- 1. ölçüm noktasında; %7 HA grubunda 1 gün ile 30 gün ($p=0,016$) ve 90 gün ($p=0,025$) bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenirken, diğer gruplarda bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).
- 2. ölçüm noktasında; %2 HA grubunda 30 gün ile 1 gün ($p=0,012$) ve 90 gün ($p=0,047$) bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken, diğer gruplara arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$).
- 3. ölçüm noktasında; kontrol grubunda 30 gün ve 90 gün bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken ($p=0,015$), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$).
- 4. ölçüm noktasında; tüm gruplarda bekleme süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$).
- 5. ölçüm noktasında; tüm gruplarda bekleme süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$).

Tablo 4-4: Sertlik modülü değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa)

Bekleme Süresi	Gruplar	Ölçüm Noktası				
		1.	2.	3.	4.	5.
1 Gün	Kontrol	2,55±0,9	1,78±0,57	1,97±0,68 ^a	1,75±0,64	1,87±0,83
	2% HA	2,5±0,8	1,3±0,68	1,23±0,46 ^b	1,69±0,83	1,38±0,61
	5% HA	2,36±0,71	1,82±0,54	1,58±0,72 ^{ab}	1,37±0,61	1,63±0,58
	7% HA	1,93±0,35	1,23±0,52	1,33±0,42 ^{ab}	1,57±0,97	1,44±0,3
30 Gün	Kontrol	2,55±1,24 ^{xy}	2,36±1,31 ^a	2,2±1,12	1,76±0,74 †‡	1,62±0,99
	2% HA	2,04±0,63 ^x	2,14±0,71 ^{ab}	1,59±0,34	1,51±0,64 †‡	1,52±0,64
	5% HA	2,44±0,39 ^{xy}	1,42±0,74 ^b	1,56±0,58	1,26±0,45 †	1,47±0,43
	7% HA	2,74±0,79 ^y	1,63±0,81 ^b	1,75±0,85	1,94±1,33 ‡	1,76±0,62
90 Gün	Kontrol	2,14±1,43	1,77±0,9	1,38±0,68	1,26±0,65	1,48±1
	2% HA	2,32±0,64	1,19±0,44	1,64±0,73	1,28±0,41	1,58±0,69
	5% HA	2,46±0,54	1,38±0,81	1,13±0,54	1,32±0,7	1,22±0,45
	7% HA	2,68±0,84	1,5±0,7	1,69±0,98	1,42±0,55	1,24±0,73

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir ölçüm noktası ve bekleme süresine ait gruplar arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit, GPa: Gigapascal

Tablo 4-5: Sertlik modülü değerlerinin gruplara göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa)

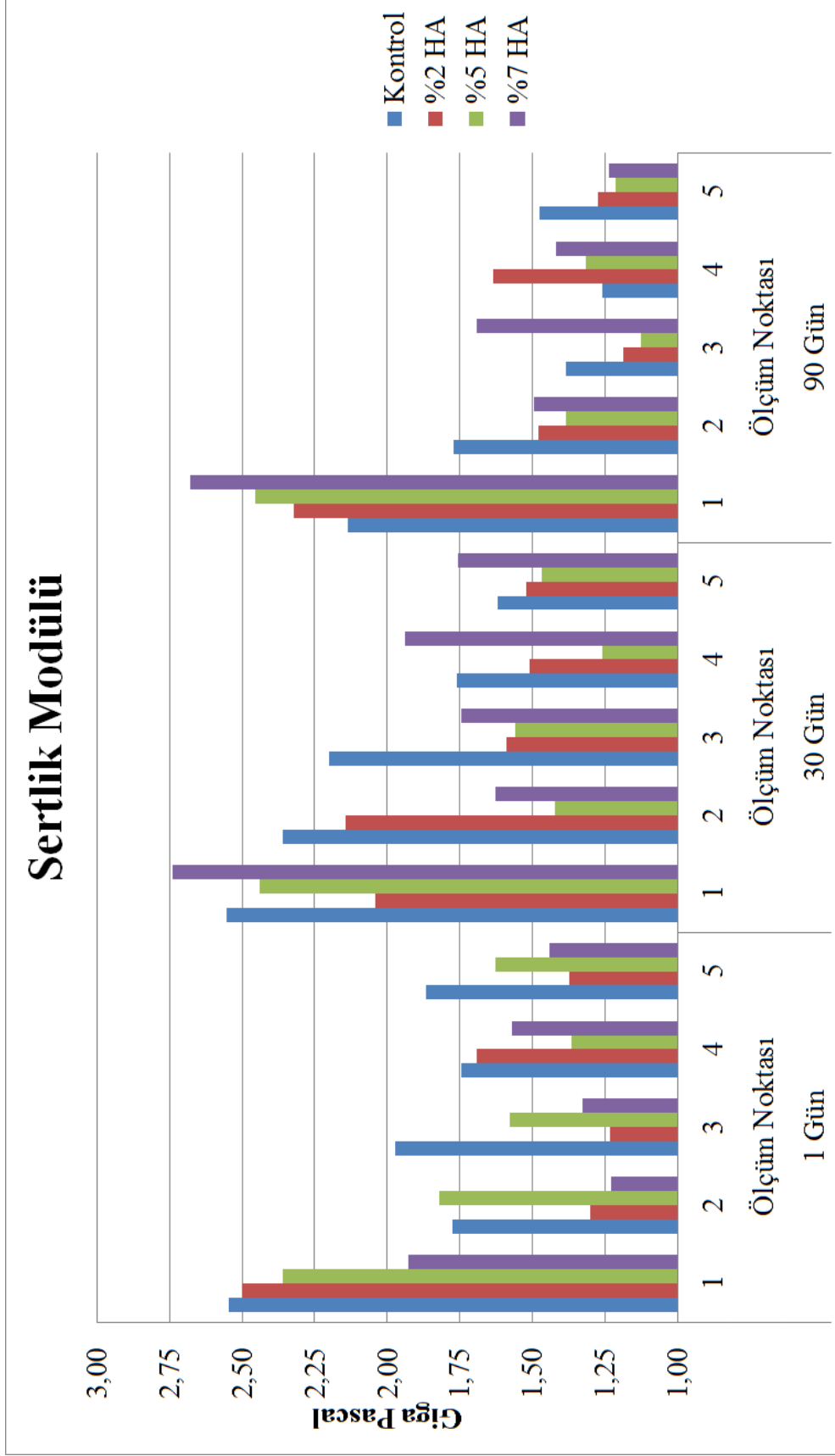
Gruplar	Ölçüm Noktası	Bekleme Süresi		
		1 Gün	30 Gün	90 Gün
Kontrol	1.	2,55±0,9 ^a	2,55±1,24 ^x	2,14±1,43 ^a
	2.	1,78±0,57 ^b	2,36±1,31 ^{xy}	1,77±0,9 ^{aβ}
	3.	1,97±0,68 ^{ab}	2,2±1,12 ^{xy}	1,38±0,68 ^β
	4.	1,75±0,64 ^b	1,76±0,74 ^y	1,26±0,65 ^β
	5.	1,87±0,83 ^b	1,62±0,99 ^y	1,48±1 ^β
%2 HA	1.	2,5±0,8 [†]	2,04±0,63	2,32±0,64 [*]
	2.	1,3±0,68 [‡]	2,14±0,71	1,47±0,6 [§]
	3.	1,23±0,46 [‡]	1,59±0,34	1,18±0,44 [§]
	4.	1,69±0,83 [‡]	1,51±0,64	1,63±0,72 [§]
	5.	1,38±0,61 [‡]	1,52±0,64	1,27±0,41 [§]
%5 HA	1.	2,36±0,71 [♯]	2,44±0,39 [‡]	2,46±0,54 [♯]
	2.	1,82±0,54 ^{o♯}	1,42±0,74 [†]	1,38±0,81 ^{&}
	3.	1,58±0,72 ^o	1,56±0,58 [†]	1,13±0,54 ^{&}
	4.	1,37±0,61 ^o	1,26±0,45 [†]	1,32±0,7 ^{&}
	5.	1,63±0,58 ^o	1,47±0,43 [†]	1,22±0,45 ^{&}
%7 HA	1.	1,93±0,35 ⁺	2,74±0,79 [⌋]	2,68±0,84 [†]
	2.	1,23±0,52 [¶]	1,63±0,81 ^ϕ	1,5±0,7 [†]
	3.	1,33±0,42 ^{+¶}	1,75±0,85 ^ϕ	1,69±0,98 [†]
	4.	1,57±0,97 ^{+¶}	1,94±1,33 ^ϕ	1,42±0,55 [†]
	5.	1,44±0,3 ^{+¶}	1,76±0,62 ^ϕ	1,24±0,73 [†]

• Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
• Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve bekleme süresine ait ölçüm noktaları arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
• HA: Hidroksiapatit, GPa: Gigapascal

Tablo 4-6: Sertlik modülü değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı (Ort.±St. Sapma) (GPa)

Ölçüm Noktası	Bekleme süresi	Kontrol	%2 HA	%5 HA	%7 HA
1.	1 Gün	2,55±0,9	2,5±0,8	2,36±0,71	1,93±0,35 ^a
	30 Gün	2,55±1,24	2,04±0,63	2,44±0,39	2,74±0,79 ^b
	90 Gün	2,14±1,43	2,32±0,64	2,46±0,54	2,68±0,84 ^b
2.	1 Gün	1,78±0,57	1,3±0,68 ^x	1,82±0,54	1,23±0,52
	30 Gün	2,36±1,31	2,14±0,71 ^y	1,42±0,74	1,63±0,81
	90 Gün	1,77±0,9	1,48±0,6 ^x	1,38±0,81	1,5±0,7
3.	1 Gün	1,97±0,68 ^{ap}	1,23±0,46	1,58±0,72	1,33±0,42
	30 Gün	2,2±1,12 ^a	1,59±0,34	1,56±0,58	1,75±0,85
	90 Gün	1,38±0,68 ^b	1,19±0,44	1,13±0,54	1,69±0,98
4.	1 Gün	1,75±0,64	1,69±0,83	1,37±0,61	1,57±0,97
	30 Gün	1,76±0,74	1,51±0,64	1,26±0,45	1,94±1,33
	90 Gün	1,26±0,65	1,64±0,73	1,32±0,7	1,42±0,55
5.	1 Gün	1,87±0,83	1,38±0,61	1,63±0,58	1,44±0,3
	30 Gün	1,62±0,99	1,52±0,64	1,47±0,43	1,76±0,62
	90 Gün	1,48±1	1,28±0,41	1,22±0,45	1,24±0,73

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve ölçüm noktasına ait bekleme süreleri arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit, GPa: Gigapascal



Şekil 4-2: Sertlik modülü değerlerinin dağılımı (HA: Hidroksiapatit)

3.2 Konfokal Lazer Taramalı Mikroskopi Analizine Ait Bulgular

Konfokal lazer taramalı mikroskopi analizine (KLTM) ait mineral depozisyon alanı verilerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4-7 ve Şekil 4-3'de gösterildi.

İki yönlü varyans analizine göre grup ve bekleme süresi faktörleri arasında etkileşim olduğu ve ölçülen değerlerin gruplar ve bekleme sürelerinden etkilendiği saptandı ($F=3,729$; $p=0,02$). Üç farklı zaman dilimi (1 gün, 30 gün, 90 gün) ve dört farklı grubun (Kontrol, %2 HA, %5 HA, %7 HA) KLTM analizi bulgularına ait ikili karşılaştırmalara bakıldığında;

En fazla mineral depozisyon alanı; 1 gün, 30 gün ve 90 günlük bekleme süreleri sonrası %7 HA grubunda sırasıyla $2340,26 \mu\text{m}^2$, $3320 \mu\text{m}^2$ ve $4339 \mu\text{m}^2$ olarak belirlendi.

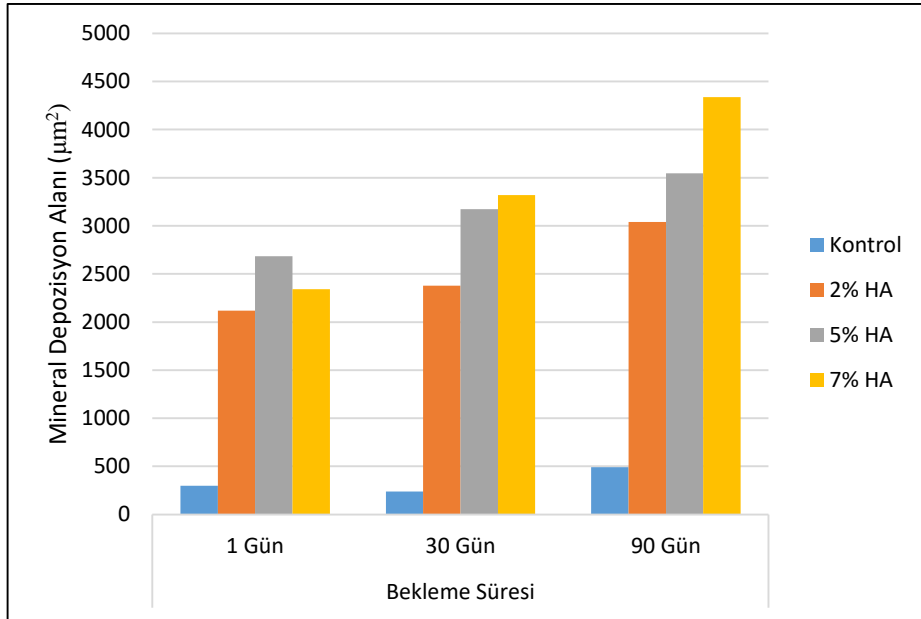
- 1 günlük bekleme süresi sonrası; %2 HA, %5 HA ve %7 HA grupları için mineral depozisyon alanları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmezken ($p>0,05$), kontrol grubu ile %2 HA ($p=0,00$), %5 HA ($p=0,00$) ve %7 HA ($p=0,0$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi.
- 30 günlük bekleme süresi sonrası; kontrol ile %2 HA ($p=0,00$), %5 HA ($p=0,00$) ve %7 HA ($p=0,00$) grupları arasında ve %2 HA ve %5 HA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken ($p=0,031$), %5 HA ile %7 HA grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,996$).
- 90 günlük bekleme süresi sonrası; kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), %2 HA ile %5 HA grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0,358$). Bununla birlikte %7 HA grubu ile diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0,05$).

- Çalışmada kullanılan dört grup, bekleme süreleri açısından kıyaslandığında; kontrol grubunda bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$). %2 HA ve %5 HA gruplarında 1 gün ve 30 gün bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmezken ($p>0,05$), her iki grup için de 1 gün ve 90 gün bekleme süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0,05$). %7 HA grubunda ise tüm bekleme süreleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık görüldü ($p<0,05$).

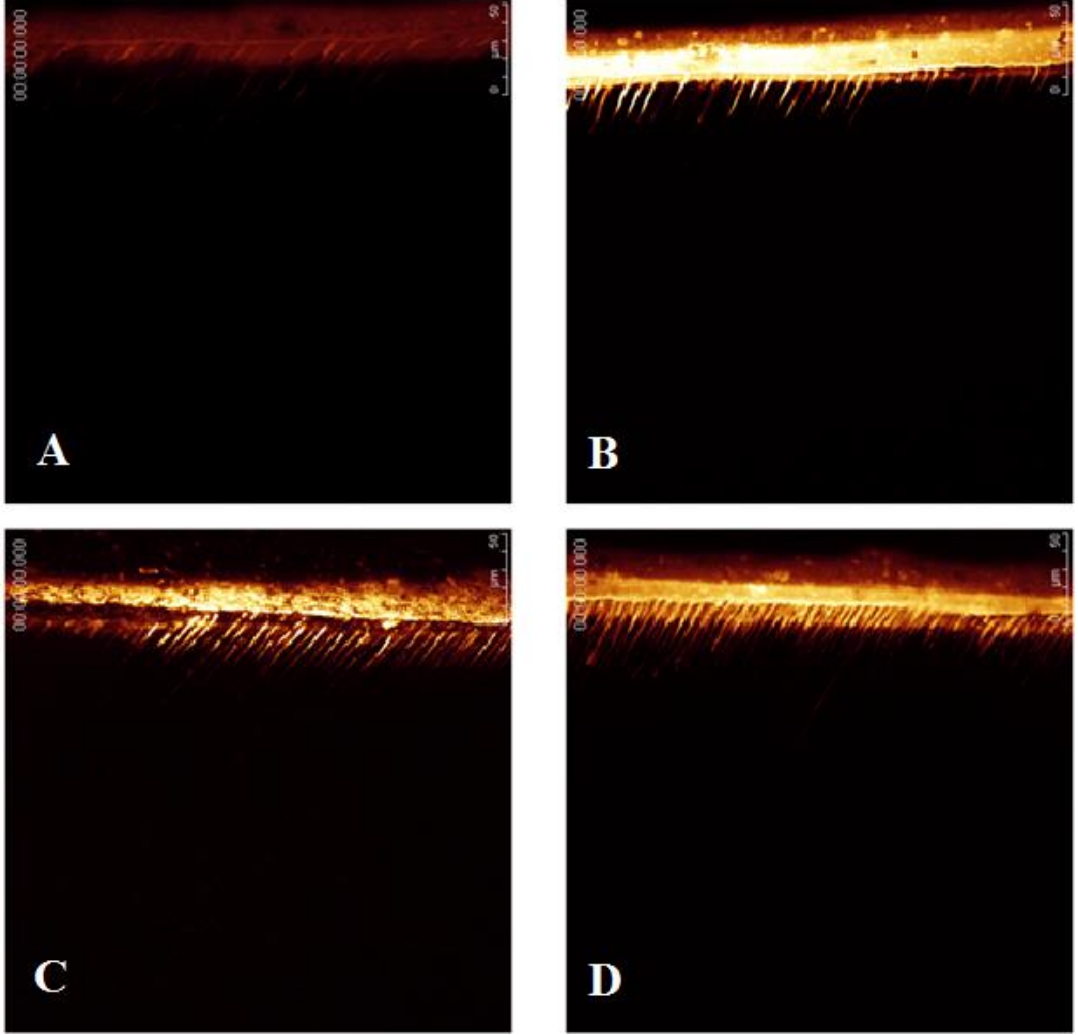
Tablo 4-7: KLTM analizine ait mineral depozisyon alanı değerleri (Ort.±St. Sapma) (μm^2)

Gruplar	Bekleme Süresi		
	1 Gün	30 Gün	90 Gün
Kontrol	300,08±123,03 <i>a,A</i>	240,91±190,44 <i>a,A</i>	491,00±253,19 <i>a,A</i>
2% HA	2118,16±438,56 <i>a,B</i>	2378,47±676,53 <i>ab,B</i>	3039,19±768,33 <i>b,B</i>
5% HA	2685,94±356,47 <i>a,B</i>	3172,33±735,07 <i>ab,C</i>	3546,52±930,34 <i>b,B</i>
7% HA	2340,26±489,88 <i>a,B</i>	3320,08±936,52 <i>b,C</i>	4339,00±802,53 <i>c,C</i>

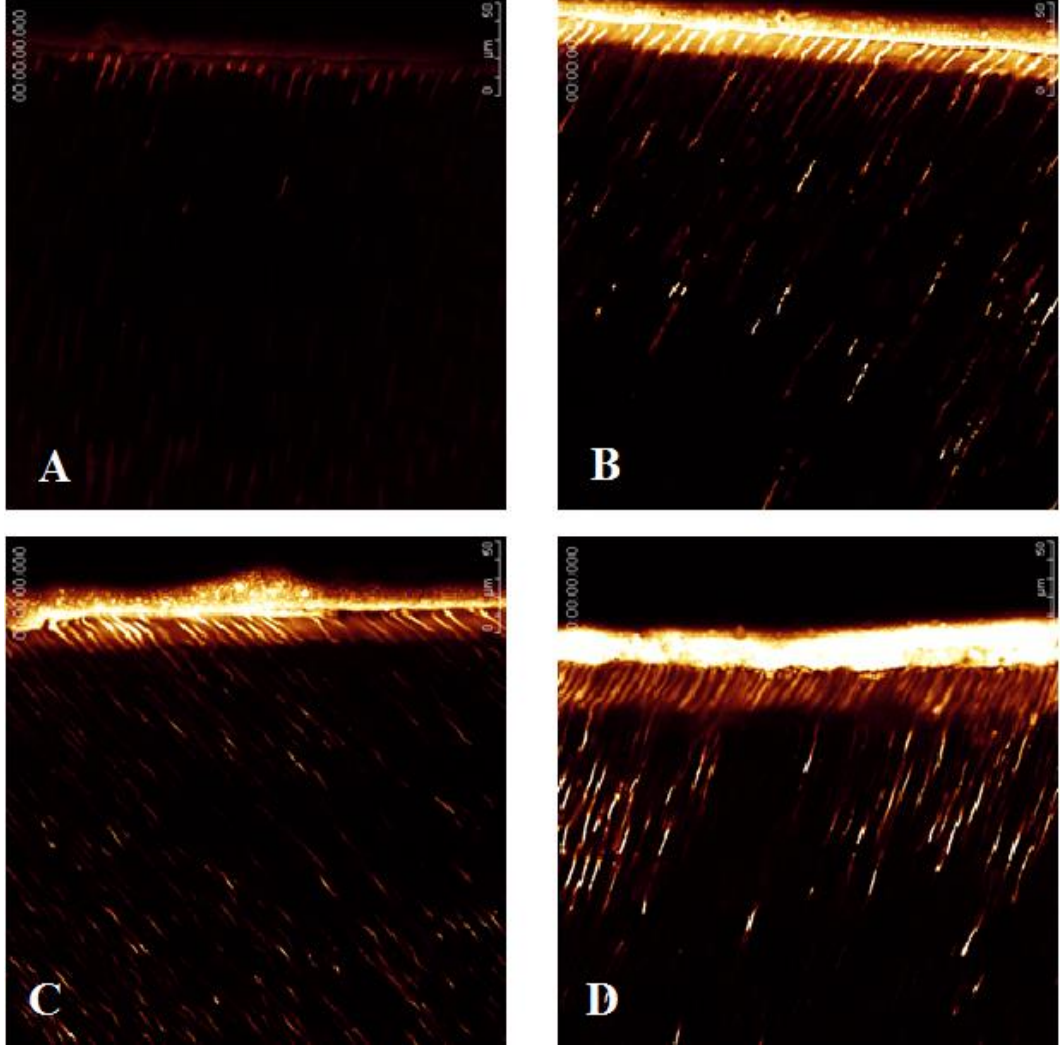
- *Küçük harfler, satırlardaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları temsil etmektedir.*
- *Büyük harfler, sütunlardaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları temsil etmektedir.*
- *HA: Hidroksiapatit*



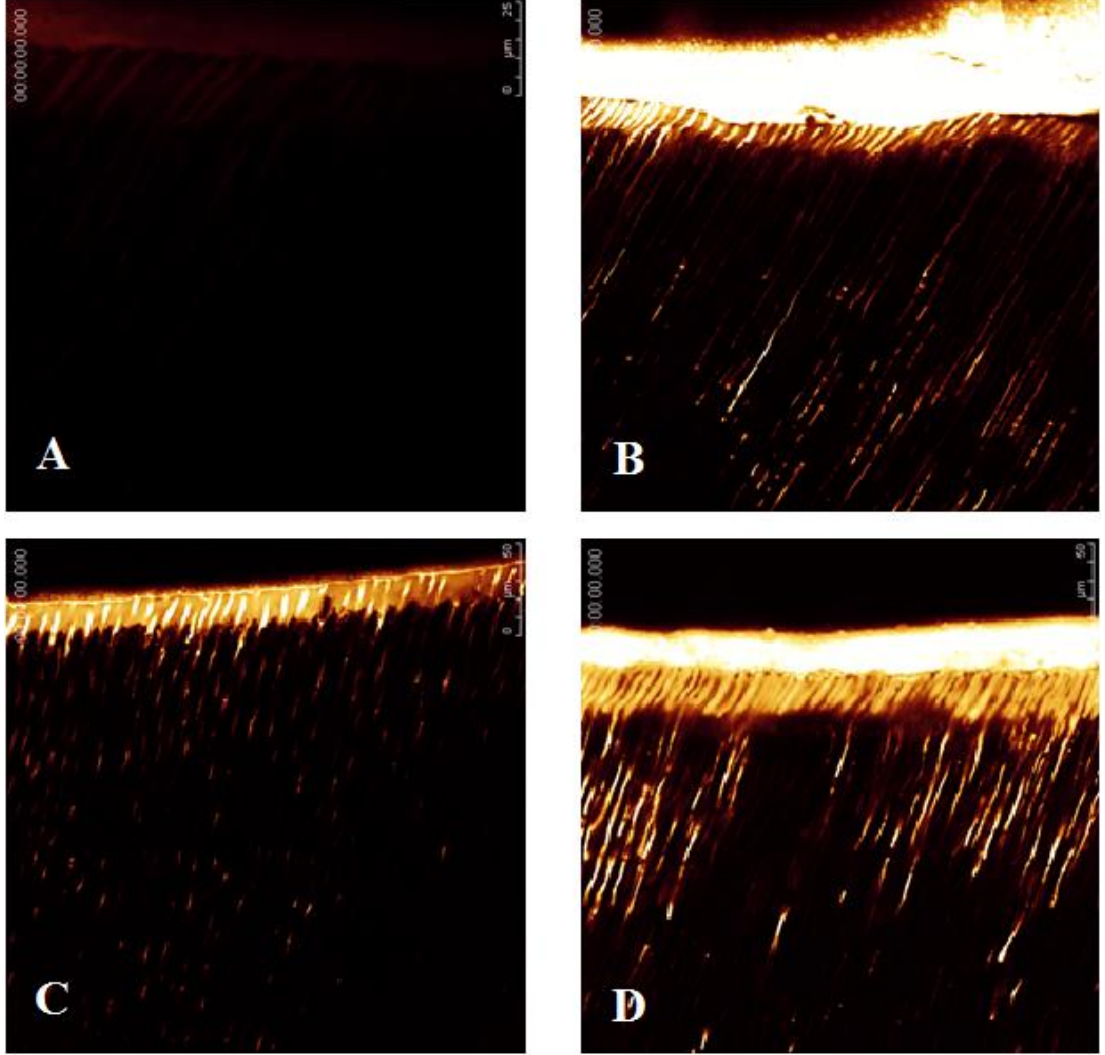
Şekil 4-3: KLTM analizi verileri (HA: Hidroksiapatit)



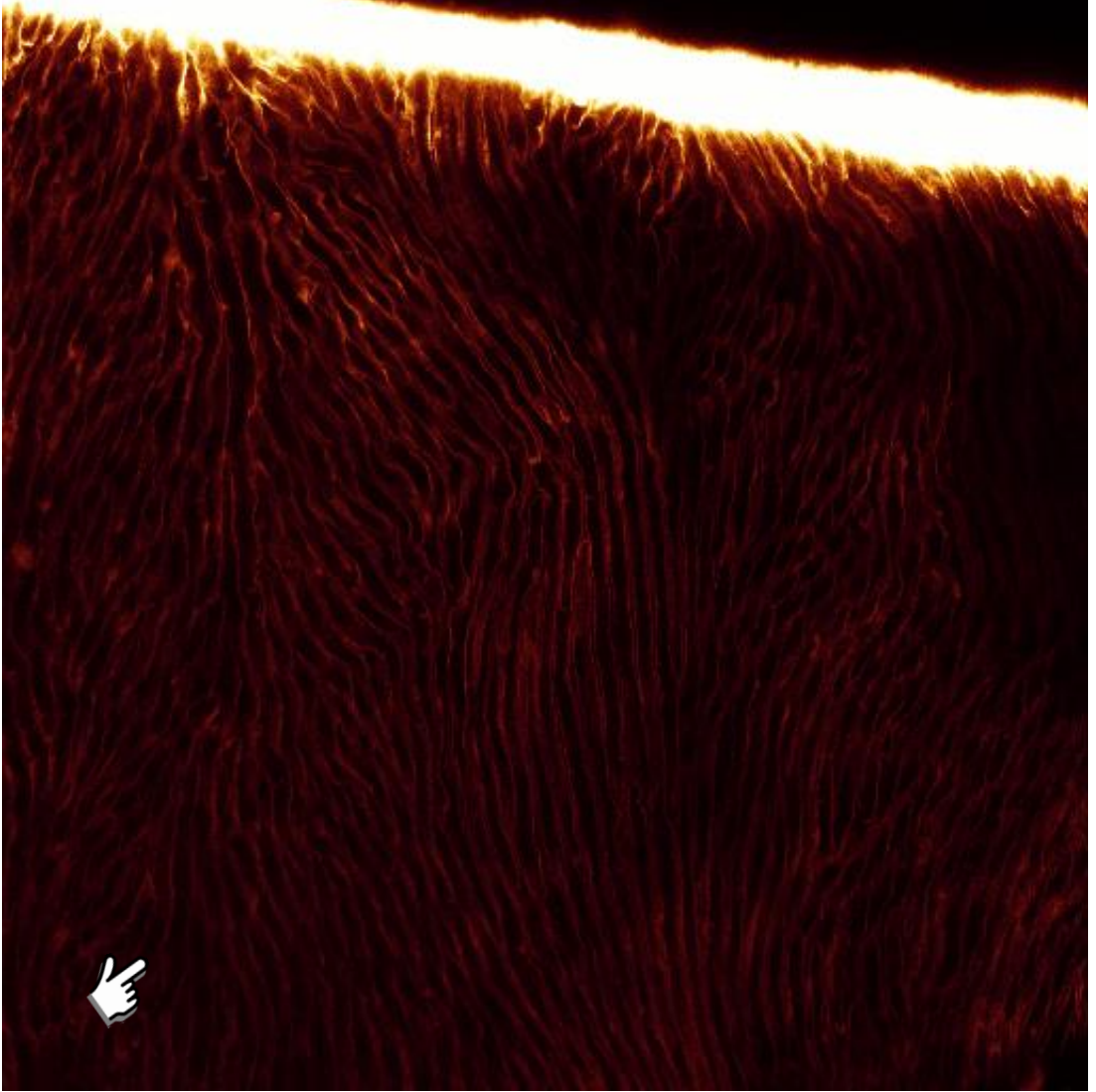
Resim 4-1: 1 günlük bekleme süresi sonrası grupların KLTM analizi görüntüleri (x40 büyütme) **A:** Kontrol, **B:** %2 HA, **C:** %5 HA, **D:** %7 HA



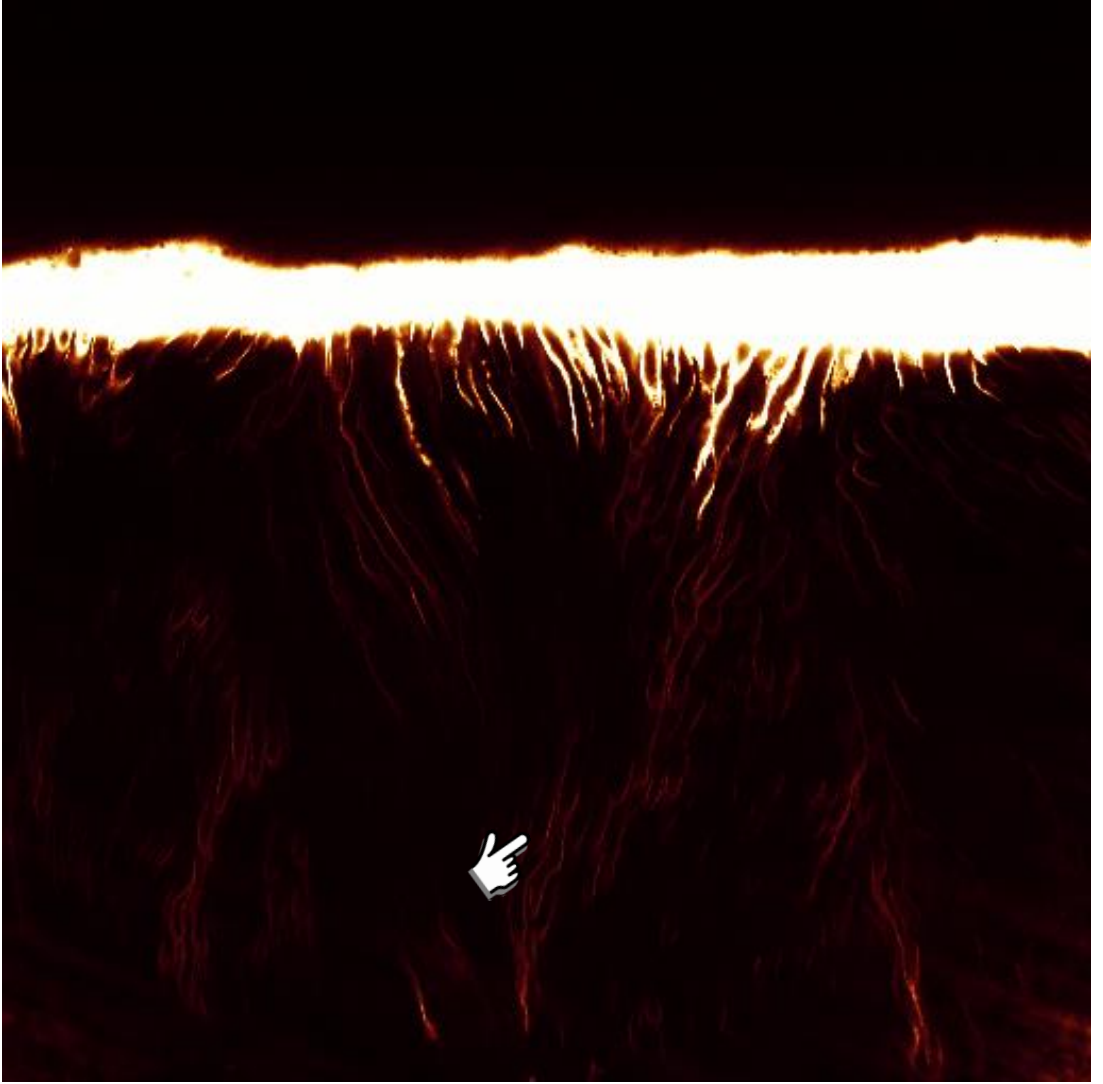
Resim 4-2: 30 günlük bekleme süresi sonrası grupların KLTM analizi görüntüleri (x40 büyütme)
A: Kontrol, B: %2 HA, C: %5 HA, D: %7 HA



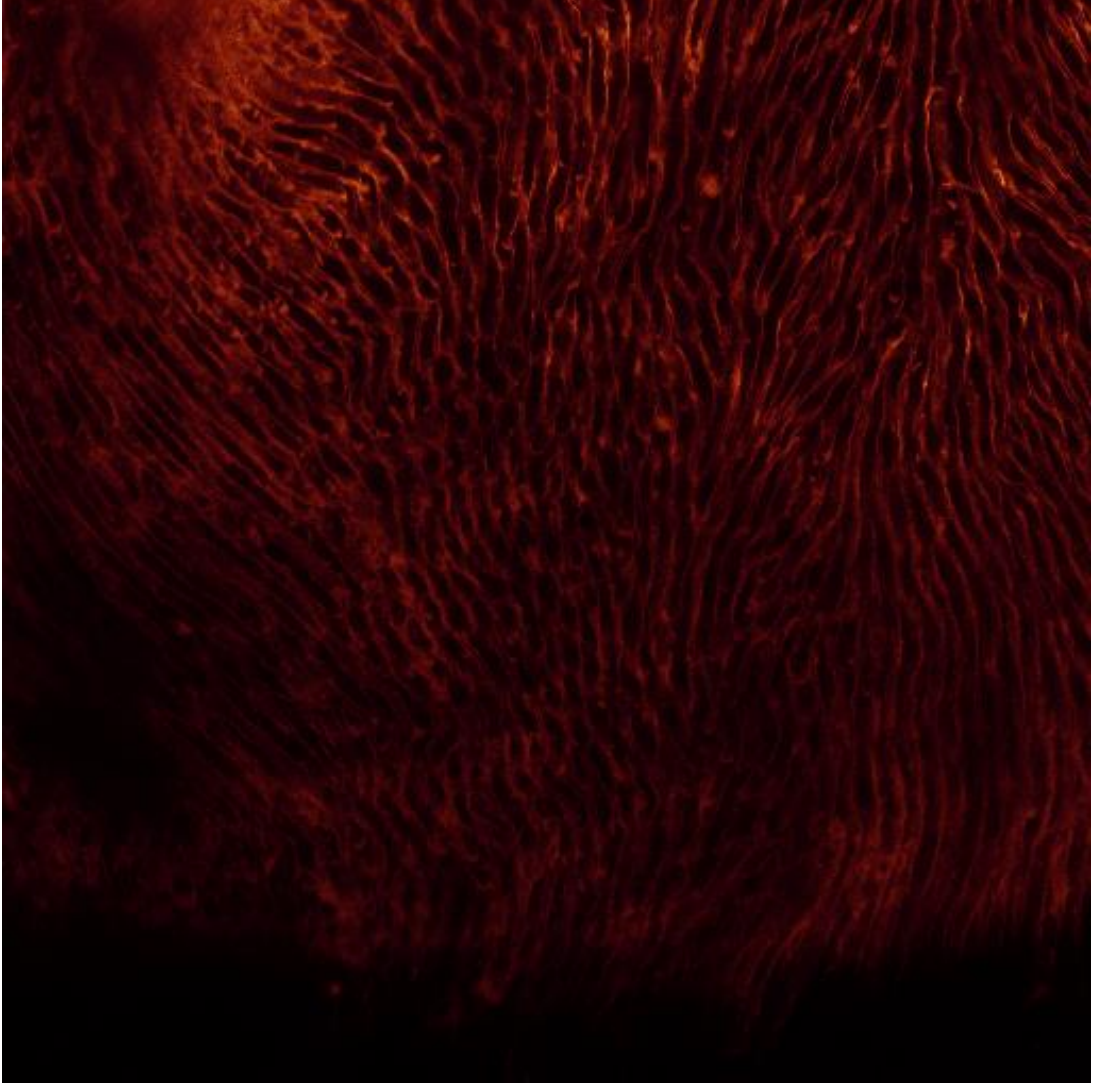
Resim 4-3: 90 günlük bekleme süresi sonrası grupların KLTM analizi görüntüleri (x40 büyütme) **A:** Kontrol, **B:** %2 HA, **C:** %5 HA, **D:** %7 HA



Resim 4-4: 1 günlük bekleme süresi sonrası %2 HA grubu (x60 büyütme) Rhodamin B tespit boyası ile derin dentin alanlarına ait tübül kesit görüntüsü (işaretli alan)



Resim 4-5: 1 günlük bekleme süresi sonrası %7 HA grubu (x60 büyütme) Rhodamin B tespit boyası ile derin dentin alanlarına ait tübül kesit görüntüsü (işaretli alan)



Resim 4-6: 1 günlük bekleme süresi sonrası %7 HA grubu (x60 büyütme) Rhodamin B tespit boyası ile derin dentin alanlarına ait tübül kesit görüntüsü.

3.3 Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisine Ait Bulgular

Çalışmanın enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisine ait veriler;

- Kalsiyum (Ca) içeriklerinin belirlenmesine ait bulgular,
- Fosfor (P) içeriklerinin belirlenmesine ait bulgular,
- Kalsiyum/Fosfor (Ca/P) oranlarının belirlenmesine ait bulgular şeklinde değerlendirildi.

3.3.1 Kalsiyum İçeriklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular

Kalsiyum içeriklerinin belirlenmesine ait ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4-8, Tablo 4-9, Tablo 4-10 ve Şekil 4-7'da gösterildi.

Elde edilen verilere göre; bağımsız değişkenler olan bekleme süresi, grup ve ölçüm alanı faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı görüldü ($F=1,283$; $p=0,194$). Bununla beraber, bekleme süresi ve ölçüm alanı faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı ($F=0,491$; $p=0,837$) ancak bekleme süresi ve grup faktörleri birlikte değerlendirildiğinde, aralarında etkileşim olduğu tespit edildi. Çalışmaya ait kalsiyum içeriği değerlerinin gruplar ve bekleme sürelerinden etkilendiği saptandı ($F=5,204$; $p=0,00$).

Üç farklı zaman dilimi (1 gün, 30 gün, 90 gün), dört farklı grup (Kontrol, %2 HA, %5 HA, %7 HA) ve dört farklı ölçüm alanı (4 ayrı ölçüm alanı) kalsiyum içeriklerine ait değerlerin ikili karşılaştırmalarına bakıldığında;

En yüksek kalsiyum içeriği değeri 1 günlük bekleme süresi sonrası %2 HA grubunda (ağırlıkça % 30,22), 30 günlük bekleme süresi sonrası %5 HA grubunda (ağırlıkça %30,84) ve 90 günlük bekleme süresi sonrası ise %7 HA grubunda (ağırlıkça %30,55) saptandı.

Kalsiyum içeriğine ait ortalama ve standart sapma değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı Tablo 4-8'de gösterildi.

- 1 günlük bekleme süresi sonrası; 1. ölçüm alanında kontrol grubu ile %7 HA grubu arasında ($p=0,00$) ve %2 HA grubu ile %5 HA ($p=0,06$) ve %7 HA ($p=0,00$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenirken, %5 HA ve %7 HA grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,083$). Diğer ölçüm alanlarında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).
- 30 günlük bekleme süresi sonrası yapılan ölçümlerde; 2. ölçüm alanında kontrol grubu ile %5 HA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi ($p=0,039$). Ayrıca 3. ölçüm alanında %5 HA ile %7 HA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0,05$). 1. ve 4. ölçüm alanlarında ise gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).
- 90 günlük bekleme süresi sonrası ise ölçüm alanlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).

Kalsiyum içeriğine ait ortalama ve standart sapma değerlerinin gruplara göre dağılımı Tablo 4-9'da gösterildi.

- Kontrol grubu için; 90 gün bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanı ile 4. ölçüm alanı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken ($p=0,025$), diğer ölçüm alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).
- %2 HA grubu için; tüm bekleme süreleri dikkate alındığında ölçüm alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$).
- %5 HA grubu için; 1 gün bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanı ile 3. ($p=0,029$) ve 4. ($p=0,012$) ölçüm alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenirken diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 30 gün bekleme süresinde ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 90 gün bekleme süresi sonrası ise 1. ölçüm alanı ile 4. ölçüm alanı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,022$), diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

- %7 HA grubu için; 1 gün bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanı ile 2 ($p=0,00$), 3 ($p=0,00$) ve 4. ($p=0,00$) ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Diğer bekleme sürelerinde ise ölçüm alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$).

Kalsiyum içeriğine ait ortalama ve standart sapma değerlerinin ölçüm alanlarına göre dağılımı Tablo 4-10'da gösterildi.

- 1. ölçüm alanında %5 HA grubunda 1 gün ile 30 gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,02$) diğer bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). %7 HA grubunda 1 günlük bekleme süresi ile 30 gün ($p=0,00$) ve 90 gün ($p=0,00$) bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).
- 2. ölçüm alanında tüm gruplar dikkate alındığında bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).
- 3. ölçüm alanında, %5 HA grubunda 1 günlük ve 30 günlük bekleme süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,024$), diğer bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,05$).
- 4. ölçüm alanında tüm gruplar dikkate alındığında bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4-8: Kalsiyum içeriği değerlerinin bekleme süresine göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)

Bekleme Süresi	Gruplar	Ölçüm Alanı			
		1.	2.	3.	4.
1 Gün	Kontrol	29,33±1,73 ^{ac}	29,42±0,49	29,66±0,76	29,93±0,32
	%2 HA	29,97±1,36 ^c	29,45±1,15	29,89±1,01	30,22±1,05
	%5 HA	28,63±1,19 ^{ab}	29,62±0,48	29,77±0,52	29,88±0,77
	%7 HA	27,63±3,12 ^b	29,64±1,03	29,93±0,65	30,03±0,65
30 Gün	Kontrol	29,21±0,85	29,38±0,62 ^x	29,94±0,37 ^{ab}	29,89±0,61
	%2 HA	29,32±1,31	29,76±0,65 ^{xy}	30,03±0,57 ^{ab}	30,22±0,42
	%5 HA	30±0,43	30,48±0,51 ^y	30,84±0,55 ^a	30,66±0,55
	%7 HA	29,33±0,91	29,6±0,71 ^{xy}	29,77±0,4 ^β	30,13±0,59
90 Gün	Kontrol	28,63±0,7	29,22±0,6	29,59±0,39	29,8±0,5
	%2 HA	29,31±0,99	29,74±0,45	29,83±0,62	30,23±0,57
	%5 HA	29,14±1,32	29,74±0,98	29,89±1	30,32±0,84
	%7 HA	29,57±0,89	29,96±0,43	30,09±0,34	30,55±0,34

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir ölçüm alanı ve bekleme süresine ait gruplar arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit

Tablo 4-9: Kalsiyum içeriği değerlerinin gruplara göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)

Gruplar	Ölçüm Alanı	Bekleme Süresi		
		1 Gün	30 Gün	90 Gün
Kontrol	1	29,33±1,73	29,21±0,85	28,63±0,7 ^a
	2	29,42±0,49	29,38±0,62	29,22±0,6 ^{ab}
	3	29,66±0,76	29,94±0,37	29,59±0,39 ^{ab}
	4	29,93±0,32	29,89±0,61	29,8±0,5 ^b
%2 HA	1	29,97±1,36	29,32±1,31	29,31±0,99
	2	29,45±1,15	29,76±0,65	29,74±0,45
	3	29,89±1,01	30,03±0,57	29,83±0,62
	4	30,22±1,05	30,22±0,42	30,23±0,57
%5 HA	1	28,63±1,19 ^x	30±0,43	29,14±1,32 ^a
	2	29,62±0,48 ^{xy}	30,48±0,51	29,74±0,98 ^{ab}
	3	29,77±0,52 ^y	30,84±0,55	29,89±1 ^{ab}
	4	29,88±0,77 ^y	30,66±0,55	30,32±0,84 ^b
%7 HA	1	27,63±3,12 [†]	29,33±0,91	29,57±0,89
	2	29,64±1,03 ^{†‡}	29,6±0,71	29,96±0,43
	3	29,93±0,65 [‡]	29,77±0,4	30,09±0,34
	4	30,03±0,65 [‡]	30,13±0,59	30,55±0,34

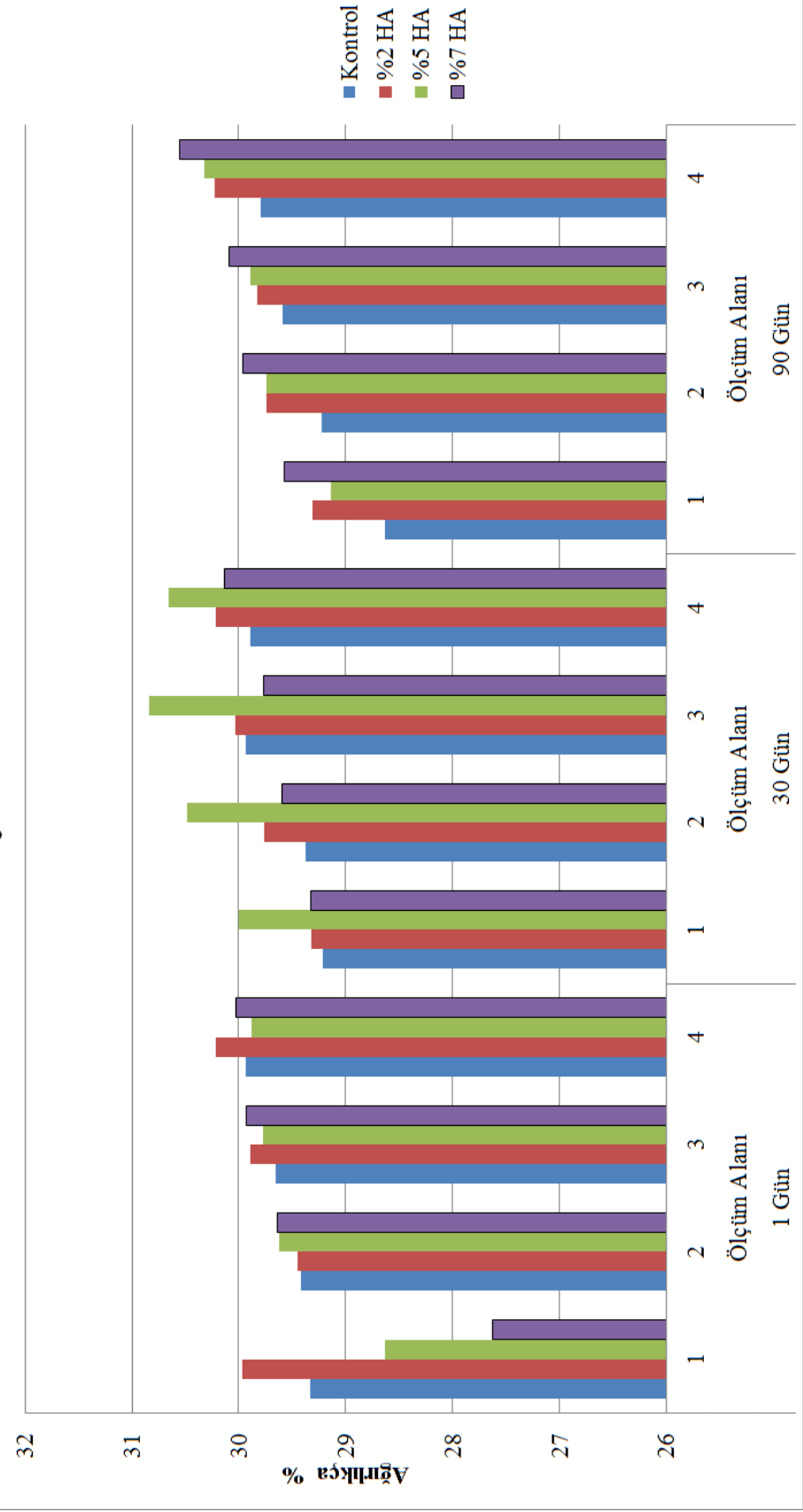
- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve bekleme süresine ait ölçüm alanları arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit

Tablo 4-10: Kalsiyum içeriği değerlerinin ölçüm alanlarına göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)

Ölçüm Alanı	Bekleme Süresi	Gruplar			
		Kontrol	%2 HA	%5 HA	%7 HA
1	1 gün	29,33±1,73	29,97±1,36	28,63±1,19 ^a	27,63±3,12 ^x
	30 gün	29,21±0,85	29,32±1,31	30±0,43 ^b	29,33±0,91 ^y
	90 gün	28,63±0,7	29,31±0,99	29,14±1,32 ^{ab}	29,57±0,89 ^y
2	1 gün	29,42±0,49	29,45±1,15	29,62±0,48	29,64±1,03
	30 gün	29,38±0,62	29,76±0,65	30,48±0,51	29,6±0,71
	90 gün	29,22±0,6	29,74±0,45	29,74±0,98	29,96±0,43
3	1 gün	29,66±0,76	29,89±1,01	29,77±0,52 ^a	29,93±0,65
	30 gün	29,94±0,37	30,03±0,57	30,84±0,55 ^ß	29,77±0,4
	90 gün	29,59±0,39	29,83±0,62	29,89±1 ^{aß}	30,09±0,34
4	1 gün	29,93±0,32	30,22±1,05	29,88±0,77	30,03±0,65
	30 gün	29,89±0,61	30,22±0,42	30,66±0,55	30,13±0,59
	90 gün	29,8±0,5	30,23±0,57	30,32±0,84	30,55±0,34

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve ölçüm alanına ait bekleme süreleri arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit

Kalsiyum Elementi



Şekil 4-4: Kalsiyum içeriği değerlerinin dağılımı (HA: Hidroksiapatit)

3.3.2 Fosfor İçeriklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular

Fosfor içeriklerinin belirlenmesine ait ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4-11, Tablo 4-12, Tablo 4-13 ve Şekil 4-5'de gösterildi.

Elde edilen verilere göre; bağımsız değişkenler olan bekleme süresi, grup ve ölçüm noktası faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı tespit edildi ($F=1,124$; $p=0,325$). Bununla beraber, bekleme süresi ve ölçüm alanı faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı ($F=0,207$; $p=0,374$) ancak bekleme süresi ve grup faktörleri birlikte değerlendirildiğinde, aralarında etkileşim olduğu tespit edildi. Çalışmaya ait sertlik modülü değerlerinin gruplar ve bekleme sürelerinden etkilendiği saptandı ($F=4,765$; $p=0,00$).

Üç farklı zaman dilimi (1 gün, 30 gün, 90 gün), dört farklı grup (Kontrol, %2 HA, %5 HA, %7 HA) ve dört farklı ölçüm alanının (4 ayrı ölçüm alanı) fosfor içeriklerine ait değerlerin ikili karşılaştırmalarına bakıldığında;

En yüksek fosfor içeriği değeri 1 günlük bekleme süresi sonrası kontrol ve %7 HA gruplarında (ağırlıkça % 16,25), 30 günlük bekleme süresi sonrası %5 HA grubunda (ağırlıkça %16,35) ve 90 günlük bekleme süresi sonrası ise %2 HA grubunda (ağırlıkça %16,34) saptandı.

Fosfor içeriğine ait ortalama ve standart sapma değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı Tablo 4-11'de gösterildi.

- 1 günlük bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanında; %7 HA grubu ile %2 HA grubu arasında ($p=0,029$) ve kontrol grubu arasında ($p=0,044$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi. Diğer gruplar arası fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).
- 30 günlük bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanında %5 HA grubu ile %2 HA grubu arasında anlamlı farklılık gözlemlendi ($p=0,02$). 2. ölçüm alanında %5 grubu ile %7 grubu arasında anlamlı farklılık gözlenirken ($p=0,010$), diğer gruplar

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). 3. ölçüm alanında %5 HA grubu ile %7 HA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilirken ($p=0,026$), diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı görülmedi ($p>0,05$).

- 90 günlük bekleme süresi sonrası ise ölçüm alanlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Fosfor içeriğine ait ortalama ve standart sapma değerlerinin gruplara göre dağılımı Tablo 4-12'de gösterildi.

- Kontrol grubu için; 1 günlük bekleme süresi sonrası ölçüm alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$). 30 günlük bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanı ile 4. ölçüm alanı arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,029$) diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı görülmedi ($p>0,05$). 90 günlük bekleme süresi sonrası ise 1. ölçüm alanı ile 3 ($p=0,010$) ve 4. ($p=0,005$) ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer ölçüm alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).
- %2 HA grubu için; 1 günlük bekleme süresi sonrası ölçüm alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$). 30 günlük bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanı ile 2. ($p=0,020$), 3. ($p=0,001$) ve 4. ($p=0,00$) ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 90 günlük bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanı ile 4. ölçüm alanı arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,014$), diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).
- %5 HA grubu için; 1 günlük bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanı ile 2. ($p=0,037$), 3. ($p=0,032$) ve 4. ($p=0,013$) ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 30 günlük bekleme süresi sonrası ölçüm alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$). 90 günlük bekleme süresi sonrası ise 1. ölçüm alanı ile 3. ($p=0,020$) ve 4.

($p=0,015$) ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer ölçüm alanları arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

- %7 HA grubu için; 1 günlük bekleme süresi sonrası 1. ölçüm alanı ile 2. ($p=0,003$), 3. ($p=0,00$) ve 4. ($p=0,00$) ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 30 günlük bekleme süresi sonrası ise 1. ölçüm alanı ile 4. ölçüm alanı arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,045$), diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). 90 günlük bekleme süresi sonrası ise ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Fosfor içeriğine ait ortalama ve standart sapma değerlerinin ölçüm alanlarına göre dağılımı Tablo 4-13'de gösterildi.

- 1. ölçüm alanında; kontrol grubunda 1 gün ile 90 gün bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,048$), diğer bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). %2 HA grubunda 1 gün ile 30 gün bekleme süreleri arası ($p=0,044$) ve %5 HA grubunda 1 gün ile 30 gün bekleme süreleri arası ($p=0,011$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken, diğer bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı görülmedi ($p>0,05$). %7 HA grubunda ise 1 gün ile 90 gün bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,021$), diğer bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).
- 2. ölçüm alanında; tüm gruplar için bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).
- 3. ölçüm alanında; %7 HA grubunda 30 gün ve 90 gün bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,039$), diğer gruplar için bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı görülmedi ($p>0,05$).
- 4. ölçüm alanında; tüm gruplar için bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).

Tablo 4-11: Fosfor içeriği değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)

Bekleme Süresi	Gruplar	Ölçüm Alanı			
		1.	2.	3.	4.
1 Gün	Kontrol	15,98±0,92 ^a	15,97±0,21	16,12±0,22	16,25±0,28
	%2 HA	16±0,42 ^a	16,15±0,27	16,09±0,31	16,14±0,42
	%5 HA	15,75±0,29 ^{ab}	16,13±0,19	16,13±0,3	16,17±0,35
	%7 HA	15,61±0,46 ^b	16,1±0,31	16,19±0,25	16,25±0,19
30 Gün	Kontrol	15,81±0,33 ^{xy}	15,98±0,21 ^{ab}	16,18±0,23 ^{†‡}	16,2±0,22
	%2 HA	15,66±0,34 ^x	16,07±0,36 ^{ab}	16,18±0,3 ^{†‡}	16,3±0,16
	%5 HA	16,15±0,29 ^y	16,33±0,21 ^a	16,35±0,18 [†]	16,34±0,21
	%7 HA	15,82±0,34 ^{xy}	15,9±0,29 ^b	15,96±0,23 [‡]	16,19±0,24
90 Gün	Kontrol	15,64±0,27	15,94±0,18	16,08±0,18	16,11±0,1
	%2 HA	15,92±0,22	16,13±0,15	16,23±0,26	16,34±0,28
	%5 HA	15,88±0,5	16,17±0,41	16,29±0,4	16,3±0,34
	%7 HA	15,98±0,16	16,16±0,2	16,3±0,13	16,33±0,2

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir ölçüm alanı ve bekleme süresine ait gruplar arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit

Tablo 4-12: Fosfor içeriği değerlerinin gruplara göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)

Gruplar	Ölçüm Alanı	Bekleme Süresi		
		1 Gün	30 Gün	90 Gün
Kontrol	1	15,98±0,92	15,81±0,33 ^a	15,64±0,27 ^x
	2	15,97±0,21	15,98±0,21 ^{ab}	15,94±0,18 ^{xy}
	3	16,12±0,22	16,18±0,23 ^{ab}	16,08±0,18 ^y
	4	16,25±0,28	16,2±0,22 ^b	16,11±0,1 ^y
%2 HA	1	16±0,42	15,66±0,34 ^a	15,92±0,22 [†]
	2	16,15±0,27	16,07±0,36 ^β	16,13±0,15 ^{†‡}
	3	16,09±0,31	16,18±0,3 ^β	16,23±0,26 ^{†‡}
	4	16,14±0,42	16,3±0,16 ^β	16,34±0,28 [‡]
%5 HA	1	15,75±0,29 [*]	16,15±0,29	15,88±0,5 ⁰
	2	16,13±0,19 [§]	16,33±0,21	16,17±0,41 ^{0p}
	3	16,13±0,3 [§]	16,35±0,18	16,29±0,4 ^p
	4	16,17±0,35 [§]	16,34±0,21	16,3±0,34 ^p
%7 HA	1	15,61±0,46 [‡]	15,82±0,34 [#]	15,98±0,16
	2	16,1±0,31 [†]	15,9±0,29 ^{#&}	16,16±0,2
	3	16,19±0,25 [†]	15,96±0,23 ^{#&}	16,3±0,13
	4	16,25±0,19 [†]	16,19±0,24 ^{&}	16,33±0,2

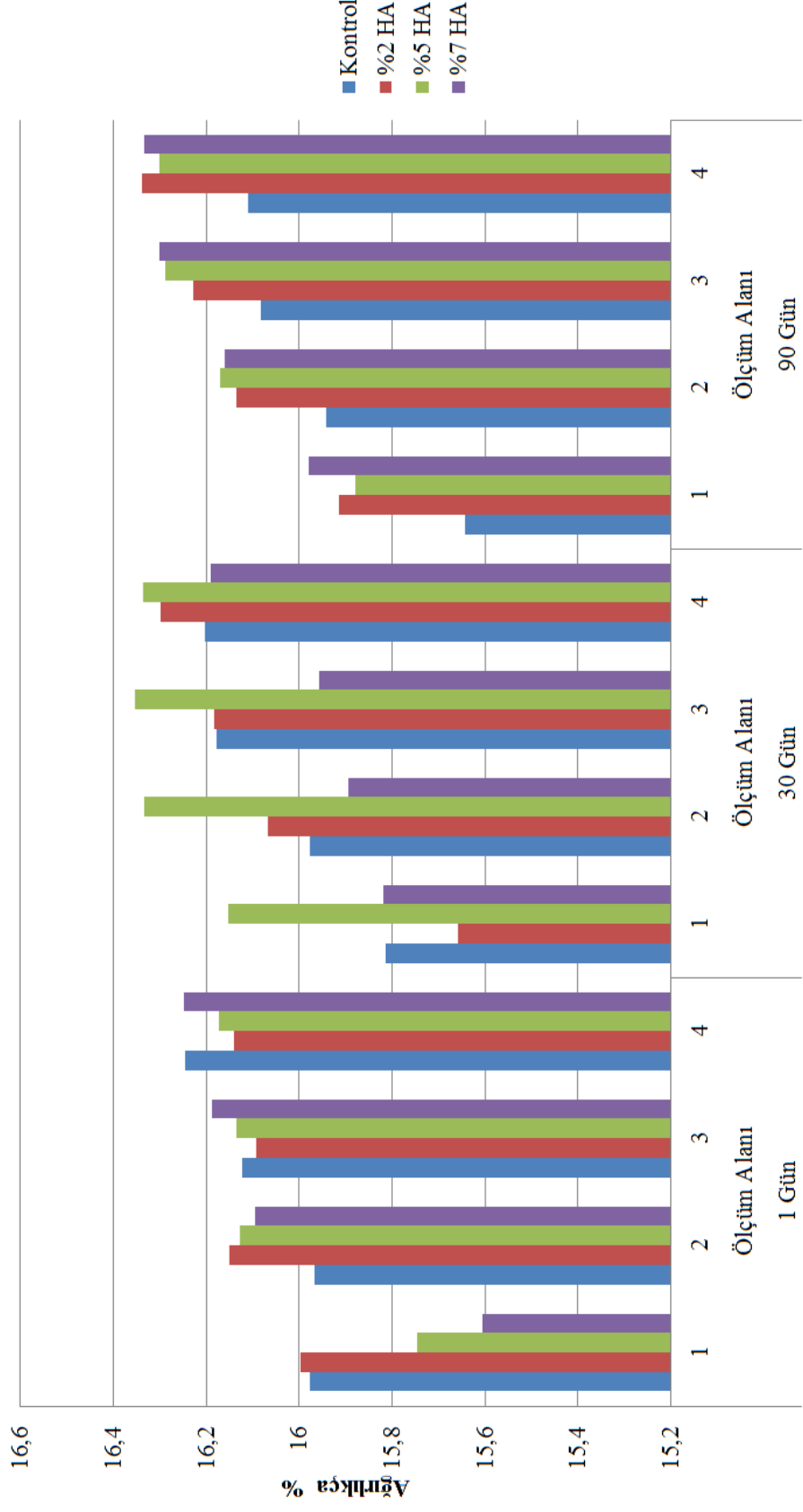
- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve bekleme süresine ait ölçüm alanları arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit

Tablo 4-13: Fosfor içeriği değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)

Ölçüm Alanı	Bekleme Süresi	Gruplar			
		Kontrol	%2 HA	%5 HA	%7 HA
1	1 gün	15,98±0,92 ^a	16±0,42 ^x	15,75±0,29 ^a	15,61±0,46 [†]
	30 gün	15,81±0,33 ^{ab}	15,66±0,34 ^y	16,15±0,29 ^ß	15,82±0,34 ^{†‡}
	90 gün	15,64±0,27 ^b	15,92±0,22 ^{xy}	15,88±0,5 ^{aß}	15,98±0,16 [‡]
2	1 gün	15,97±0,21	16,15±0,27	16,13±0,19	16,1±0,31
	30 gün	15,98±0,21	16,07±0,36	16,33±0,21	15,9±0,29
	90 gün	15,94±0,18	16,13±0,15	16,17±0,41	16,16±0,2
3	1 gün	16,12±0,22	16,09±0,31	16,13±0,3	16,19±0,25 [*]
	30 gün	16,18±0,23	16,18±0,3	16,35±0,18	15,96±0,23 ^{*§}
	90 gün	16,08±0,18	16,23±0,26	16,29±0,4	16,3±0,13 [§]
4	1 gün	16,25±0,28	16,14±0,42	16,17±0,35	16,25±0,19
	30 gün	16,2±0,22	16,3±0,16	16,34±0,21	16,19±0,24
	90 gün	16,11±0,1	16,34±0,28	16,3±0,34	16,33±0,2

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve ölçüm alanına ait bekleme süreleri arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit

Fosfor Elementi



Şekil 4-5: Fosfor içeriği değerlerinin dağılımı (HA: Hidroksiapatiti)

3.3.3 Ca/P Oranlarının Belirlenmesine Ait Bulgular

Kalsiyum/Fosfor oranlarının belirlenmesine ait ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4-14, Tablo 4-15, Tablo 4-16 ve Şekil 4-6'da gösterildi.

Elde edilen verilere göre; bağımsız değişkenler olan bekleme süresi, grup ve ölüm alanı faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı görüldü (F=0,909; p=0,567). Bununla beraber, bekleme süresi ve ölüm alanı faktörleri birlikte değerlendirildiğinde aralarında etkileşim olmadığı (F=1,141; p=0,337) ancak bekleme süresi ve grup faktörleri birlikte değerlendirildiğinde, aralarında etkileşim olduğu tespit edildi. Çalışmaya ait Ca/P oranı değerlerinin gruplar ve bekleme sürelerinden etkilendiği saptandı (F=2,599; p=0,017).

Üç farklı zaman dilimi (1 gün, 30 gün, 90 gün), dört farklı grup (Kontrol, %2 HA, %5 HA, %7 HA) ve dört farklı ölüm alanının (4 ayrı ölüm alanı) Ca/P oranlarına ait değerlerin ikili karşılaştırmalarına bakıldığında;

En yüksek Ca/P oranı değeri 1 günlük bekleme süresi sonrası %2 HA grubunda (ağırlıkça %1,87), 30 günlük bekleme süresi sonrası %5 HA grubunda (ağırlıkça %1,88) ve 90 günlük bekleme süresi sonrası ise %7 HA grubunda (ağırlıkça %1,87) saptandı.

Ca/P oranına ait ortalama ve standart sapma değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımını Tablo 4-14'de gösterildi.

- 1 günlük bekleme süresi sonrası 1. Ölüm alanında kontrol grubu ile %7 HA grubu arasında (p=0,03) ve %2 HA ile %5 HA (p=0,030) ve %7 HA (p=0,00) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi. 2., 3. ve 4. Ölüm alanlarında ise gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi (p>0,05).
- 30 günlük ve 90 günlük bekleme sürelerinde, ölüm alanlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

Ca/P oranına ait ortalama ve standart sapma değerlerinin gruplara göre dağılımı Tablo 4-15'de gösterildi.

- Kontrol, %2 HA ve %5 HA grupları için; tüm bekleme sürelerinde ölçüm alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).
- %7 HA grubu için; 1 günlük bekleme süresinde 1. lm noktası ile 2. ($p=0,01$), 3. ($p=0,00$) ve 4. ($p=0,00$) lm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı görülürken, diğer ölçüm alanları arası fark istatistiksel olarak anlamlı görülmedi ($p>0,05$).

Ca/P oranına ait ortalama ve standart sapma değerlerinin ölçüm alanlarına göre dağılımı Tablo 4-16'de gösterildi.

- 1. lm alanı için; Kontrol, %2 HA ve %5 HA gruplarında bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$). %7 HA grubunda ise 1 gün ile 30 ($p=0,00$) ve 90 gün ($p=0,00$) bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı görülürken, diğer bekleme süreleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).
- 2. lm alanı için; tüm gruplarda bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$).
- 3. lm alanı için; kontrol, %2 HA ve %7 HA gruplarında bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$). %5 HA grubu için 30 gün ve 90 gün bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,027$), diğer bekleme süreleri arası fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).
- 4. lm alanı için; tüm gruplarda bekleme süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4-14: Ca/P oranı değerlerinin bekleme sürelerine göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)

Bekleme Süresi	Gruplar	Ölçüm Alanı			
		1.	2.	3.	4.
1 Gün	Kontrol	1,84±0,05 ^{ab}	1,84±0,03	1,84±0,03	1,84±0,03
	%2 HA	1,87±0,05 ^b	1,82±0,05	1,86±0,04	1,87±0,04
	%5 HA	1,82±0,05 ^{ac}	1,84±0,03	1,85±0,03	1,85±0,03
	%7 HA	1,77±0,17 ^c	1,84±0,04	1,85±0,03	1,85±0,03
30 Gün	Kontrol	1,85±0,07	1,84±0,03	1,85±0,01	1,84±0,04
	%2 HA	1,87±0,09	1,85±0,02	1,86±0,04	1,85±0,02
	%5 HA	1,86±0,02	1,87±0,02	1,89±0,03	1,88±0,03
	%7 HA	1,85±0,04	1,86±0,04	1,87±0,04	1,86±0,03
90 Gün	Kontrol	1,83±0,04	1,83±0,03	1,84±0,03	1,85±0,03
	%2 HA	1,84±0,04	1,84±0,02	1,84±0,02	1,85±0,02
	%5 HA	1,83±0,06	1,84±0,03	1,83±0,03	1,86±0,02
	%7 HA	1,85±0,04	1,85±0,03	1,85±0,02	1,87±0,02

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir ölçüm alanı ve bekleme süresine ait gruplar arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit

Tablo 4-15: Ca/P oranı değerlerinin gruplara göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)

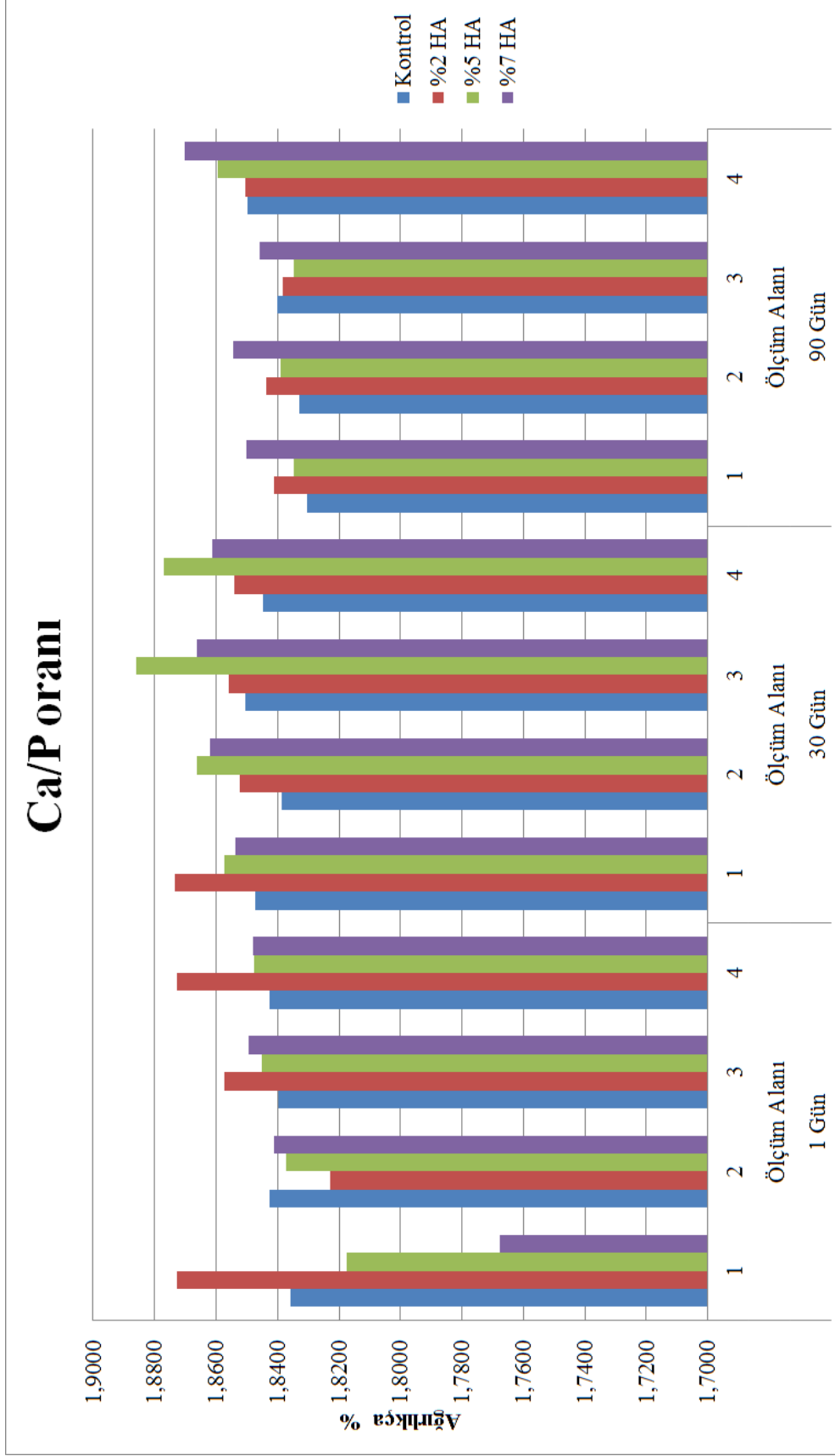
Gruplar	Ölçüm Alanı	Bekleme Süresi		
		1 Gün	30 Gün	90 Gün
Kontrol	1	1,84±0,05	1,85±0,07	1,83±0,04
	2	1,84±0,03	1,84±0,03	1,83±0,03
	3	1,84±0,03	1,85±0,01	1,84±0,03
	4	1,84±0,03	1,84±0,04	1,85±0,03
%2 HA	1	1,87±0,05	1,87±0,09	1,84±0,04
	2	1,82±0,05	1,85±0,02	1,84±0,02
	3	1,86±0,04	1,86±0,04	1,84±0,02
	4	1,87±0,04	1,85±0,02	1,85±0,02
%5 HA	1	1,82±0,05	1,86±0,02	1,83±0,06
	2	1,84±0,03	1,87±0,02	1,84±0,03
	3	1,85±0,03	1,89±0,03	1,83±0,03
	4	1,85±0,03	1,88±0,03	1,86±0,02
%7 HA	1	1,77±0,17 ^a	1,85±0,04	1,85±0,04
	2	1,84±0,04 ^b	1,86±0,04	1,85±0,03
	3	1,85±0,03 ^b	1,87±0,04	1,85±0,02
	4	1,85±0,03 ^b	1,86±0,03	1,87±0,02

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve bekleme süresine ait ölçüm alanları arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit

Tablo 4-16: Ca/P oranı değerlerinin ölçüm noktalarına göre dağılımı (ağırlıkça %) (Ort±St. Sapma)

Ölçüm Alanı	Bekleme Süresi	Gruplar			
		Kontrol	%2 HA	%5 HA	%7 HA
1	1 Gün	1,84±0,05	1,87±0,05	1,82±0,05	1,77±0,17 ^a
	30 Gün	1,85±0,07	1,87±0,09	1,86±0,02	1,85±0,04 ^b
	90 Gün	1,83±0,04	1,84±0,04	1,83±0,06	1,85±0,04 ^b
2	1 Gün	1,84±0,03	1,82±0,05	1,84±0,03	1,84±0,04
	30 Gün	1,84±0,03	1,85±0,02	1,87±0,02	1,86±0,04
	90 Gün	1,83±0,03	1,84±0,02	1,84±0,03	1,85±0,03
3	1 Gün	1,84±0,03	1,86±0,04	1,85±0,03 ^{xy}	1,85±0,03
	30 Gün	1,85±0,01	1,86±0,04	1,89±0,03 ^x	1,87±0,04
	90 Gün	1,84±0,03	1,84±0,02	1,83±0,03 ^y	1,85±0,02
4	1 Gün	1,84±0,03	1,87±0,04	1,85±0,03	1,85±0,03
	30 Gün	1,84±0,04	1,85±0,02	1,88±0,03	1,86±0,03
	90 Gün	1,85±0,03	1,85±0,02	1,86±0,02	1,87±0,02

- Tabloda sadece istatistiksel olarak fark gözlenen veriler üst simge ile gösterilmiştir.
- Üst simge ile belirtilen veriler; her bir grup ve ölçüm alanına ait bekleme süreleri arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir.
- HA: Hidroksiapatit



Şekil 4-6: Ca/P oranı değerlerinin dağılımı (HA: hidroksiapatit)

3.4 Mikro Gerilim Bağlanma Dayanımı Analizine Ait Bulgular

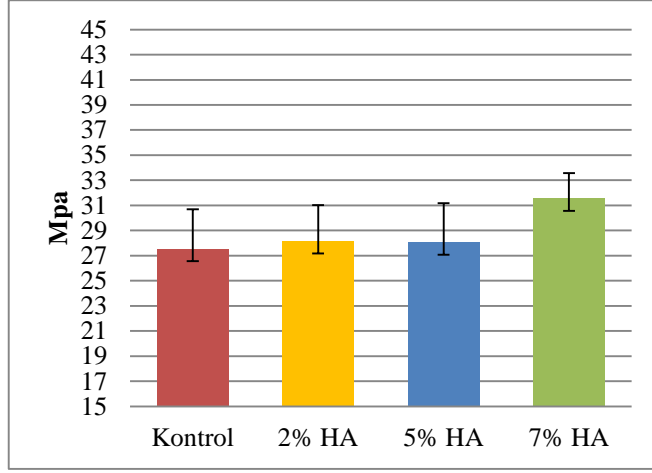
Mikro gerilim bağlanma dayanımı verilerinin Shapiro-Wilk testine göre normal bir dağılıma sahip olduğu saptandı ($p>0,05$). Buna bağlı olarak veriler parametrik bir test olan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Mikro gerilim bağlanma dayanımı verilerine ait ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4-17, Şekil 4-7 ve Şekil 4-8'de gösterildi.

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında mikro gerilim bağlanma dayanımı sonuçları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($F=12,703$; $p=0,00$). En yüksek bağlanma dayanımı değeri %7 HA grubunda (31,56 MPa) görüldü. İkili karşılaştırmalara bakıldığında; %7 HA grubu ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülürken ($p<0,05$), kontrol grubu, %2 HA ve %5 HA grupları arasında görülen fark ise istatistiksel olarak anlamlı görülmedi ($p>0,05$). Mikro gerilim bağlanma dayanımı sonuçlarından elde edilen veriler ışığında gözlenen kırık tipleri Resim 4-7'de gösterilmiştir. Tüm gruplar için gözlenen kırık tipleri sırasıyla; adeziv (%39,17), miks (%40), koheziv (%20,83) olarak tespit edildi. Kırık tiplerinin dağılımında istatistiksel farklılık gözlenmedi ($p=0,276$). SEM değerlendirmesi ile gerçekleştirilen kırık analizi, miks tip kırığın diğer kırık tiplerinden daha yaygın olduğunu gösterdi. Doldurucu oranındaki artışa bağlı olarak adeziv kırılma tipinde artışa eğilim tespit edildi. SEM değerlendirmesine göre, adeziv tip kırık yüzeylerinde, adeziv rezin alanları açıkça izlenirken, miks tip kırık görüntülerinde, açığa çıkan dentin tübülleri kısmen görüntülendi. Ayrıca, adeziv tip kırılma görüntüsünde, kompozit rezinin kırılma çizgisi ve kompozit rezine ait doldurucu partikülleri açıkça görüldü. (Resim 4-7)

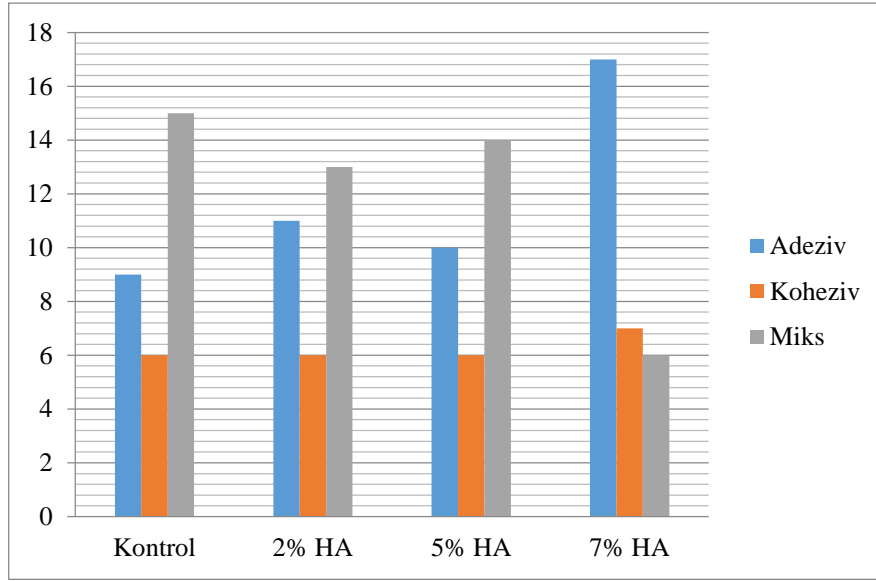
Tablo 4-17: Mikro gerilim bağlanma dayanımı (μ TBS) değerlerinin ortalama ve standart sapmaları (Ort. \pm Std. sapma) (MPa)

Gruplar				F
Kontrol	2% HA	5% HA	7% HA	
27,56 \pm 3,14 <i>a</i>	28,18 \pm 2,83 <i>a</i>	28,06 \pm 3,12 <i>a</i>	31,56 \pm 2,01 <i>b</i>	12,703

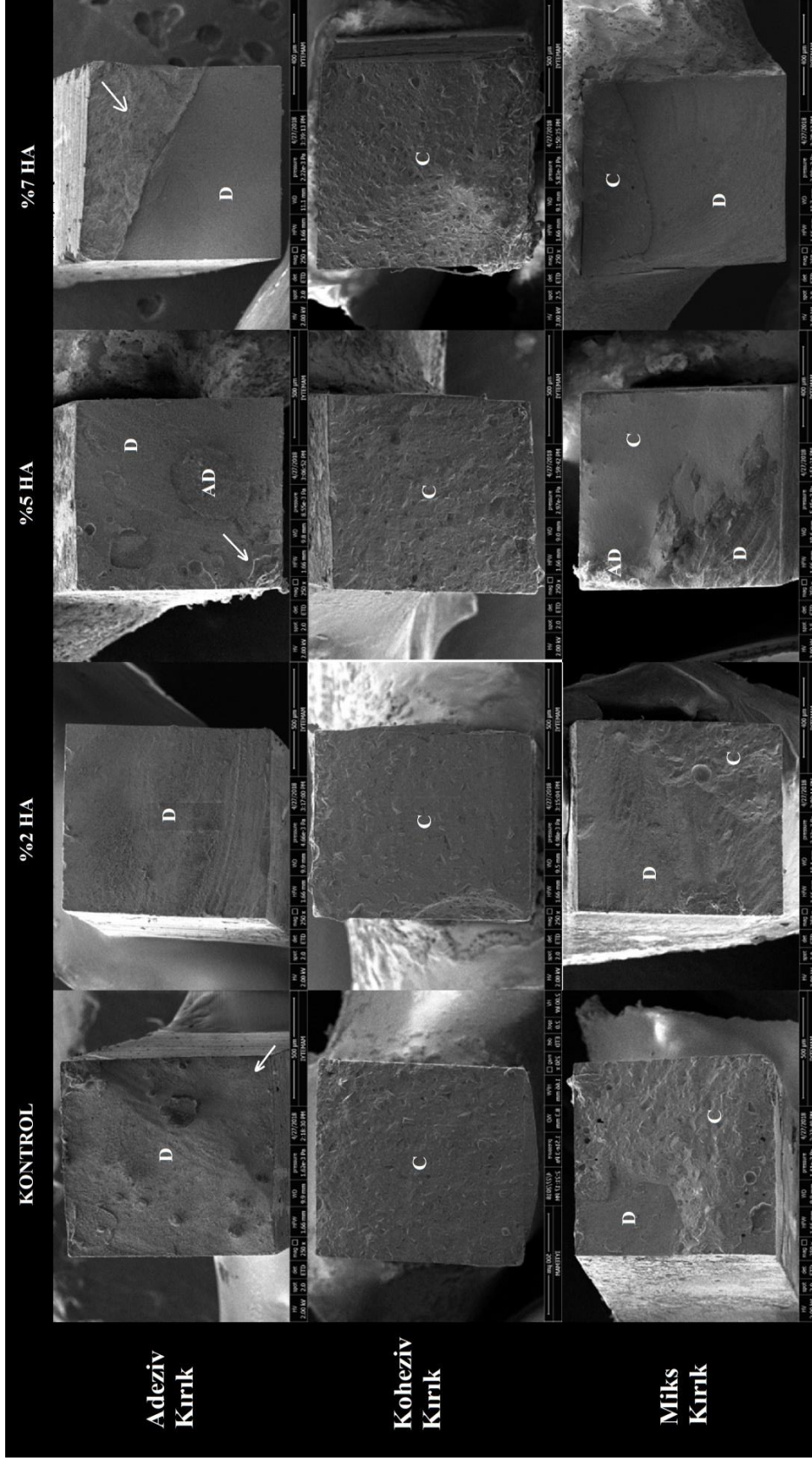
- *Harfler, gruplar arası anlamlı farklılıkları göstermektedir.*
- *HA: Hidroksiapatit*



Şekil 4-7: Mikro gerilim bağlanma dayanımı değerlerinin ortalama ve standart sapmaları



Şekil 4-8: Gruplara göre kırık tipi dağılımı (HA: Hidroksiapatit)



Resim 4-7: μ TBS analizine ait kırık tipi görüntüleri (x250) (AD: Adeziv rezin, D: Dentin, C. Resin kompozit) Oklar dentin dokusundaki koheziv kırılmaları göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Diş, insan vücudundaki en sert ve mineralize organdır. Diş sert dokularında demineralizasyon ve remineralizasyon süreci, yaşam döngüsü boyunca süregelen bir olgudur ve bu iki durumun denge halinde olması istenir. Patolojik durumlarda bu denge bozularak demineralizasyon, remineralizasyona baskın hale gelmektedir. Alınan asidik gıdaların etkisi ile veya asidojenik bakteriler tarafından ortamda bulunan karbonhidratların fermantasyonu sonucunda oluşan laktik asit, asetik asit ve propionik asit mine dokusunda mineral kayıpları ile karakterize bir demineralizasyon oluşturmaktadır. Ortamın pH'ının tekrar eski haline dönmesi durumunda ise remineralizasyon süreci devreye girmektedir ve şartların uygun olması durumunda mine dokusu kaybettiği mineralleri tekrar kazanabilmektedir (212). Demineralizasyon sürecinin uzun ve sık gözlenmesi minede mineral kayıplarını geri dönüşümsüz hale getirerek doku kaybına ve kavitasyonlara sebep olur, böylece çürüme sürecini hızlandırır. İlerleyen kavitasyon alanları bu aşamada dentin dokusunda demineralizasyonun gözlenmesine sebep olur. Ancak çürük dentin dokusuna ilerlediğinde durum farklılaşmaktadır. Çünkü dentin dokusu; mineye kıyasla daha az inorganik yapı içerir, içerisinde yoğun miktarda kollajen mevcuttur, pulpaya kadar uzanan dentin tübülleri ve bu tübüllerin içerisinde yer alan odontoblast uzantıları ile canlı bir yapı sergilemektedir. Dolayısıyla dentin dokusu, çürüğe veya dışsal uyaranlara karşı konak cevabı oluşturma kapasitesine sahip özel bir yapıdır. Çürük oluşumu sürecinde asiditeye bağlı olarak demineralizasyon sürerken bir yandan da endojen kaynaklı matriks metalloproteinazlar aktive olmakta ve sistein katepsinler ile birlikte kollajen fibrillerin bozulmasına ve dentinin hem organik hem de inorganik yıkım sürecinin hızlanmasına sebep olmaktadır (213, 214).

Rezin kompozitler, günümüzde en sık tercih edilen dental restoratif materyallerin başında gelmektedir ve rezin restorasyonların başarısını etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerden birisi hibrit tabakanın degredasyonudur.

Günümüzde bağlantı kalitesi önemli düzeyde geliştirilmiş olan adeziv rezinler, her ne kadar immediat olarak başarılı ve sızdırmaz bir restorasyonun yapımını sağlayabilseler de uzun dönemde rezin-dentin arayüzünde meydana gelen bozulmalar restorasyonun başarısını etkilemekte ve sürecin devamında görülen mikro sızıntı restorasyon kayıplarına neden olabilmektedir (58, 64, 215). Çürüklerin neden olduğu hasarın yanı sıra, hibrit tabaka oluşturulurken hekim tarafından uygulanan asitle dağlama basamağı da dentin dokusunun demineralizasyonuna neden olan bir diğer önemli etkidir (44). Rezin-dentin bağlantısının oluşumu ağırlıklı olarak; demineralize dentine rezinin penetre olması ve açığa çıkmış kollajen fibrillerin kısmen veya tamamen rezin ile sarılması yoluyla mikro mekanik olarak sağlanmaktadır. Bu aşamada kollajen fibrillerin açığa çıkarılabilmesi için dentine asidin kendisi ya da asidik içeriğe sahip rezin monomerler uygulanır (58). Ancak rezin içerikli monomerlerin, demineralize kollajen matrisin ektrafibriler ve özellikle de intrafibriler bölgelerindeki su ile tamamen yer değiştirmesi ve kollajen ağı tamamıyla sarması imkânsızdır (44, 87, 216). Gelişen adeziv sistemler sayesinde tüm kompartımanlara rezinin filtrasyonu sağlanabilse bile, intrafibriler kompartımanda oluşan boşluk (1,26-1,33nm), trietilenglikol dimetakrilat (≈ 2 nm uzunluğunda) gibi rezinin yapısını oluşturan en küçük moleküllerin bile infiltre olamayacağı kadar küçüktür (217). Bu durum, bağlanma arayüzü boyunca hidroksiapatitten veya rezinden fakir, su bakımından zengin kollajen fibrillerin varlığına neden olur (58, 87). Hibrit tabaka içinde kalan ve rezinden fakir bu kompartımanların bulunduğu bölgeler enzimlerin, sıcaklığın, nemin ve fonksiyonel streslerin kombine zorlukları altında bozulmaya karşı dayanıksızdır. Bu da arayüz bütünlüğünün hasar görmesine, bağlanma kuvvetinde azalmaya ve nihayetinde rezin-dentin başarısızlığına neden olur. Bu nedenle, dentinin remineralizasyonu, hibrit tabakanın stabilitesi ve restorasyon ömrünün uzatılabilmesi açısından önemli bir adımdır (44, 216, 218).

Hibrit tabakanın korunması ve/veya ikincil çürük oluşumunun önlenmesi amacıyla dentinin remineralizasyonunu amaçlayan, mevcut apatit kristalleri üzerine kalsiyum ve fosfat iyonlarının epitaksiyal birikimine dayanan remineralizasyon

konseptinde hidroksiapatit kristallerinin bulunmadığı yerlerde remineralizasyon gerçekleşmesinin zor olduğu üzerinde durulmaktadır (92, 219). Bu klasik iyon temelli kristalizasyon kavramı dâhilinde; asitle ve yıka sistemler ile tamamen demineralize edilen dentinde oluşturulan hibrit tabaka veya çürükten etkilenmiş dentinin geride bırakıldığı minimal invaziv yaklaşımlar ile oluşturulan hibrit tabakanın her ikisi için de remineralizasyonun mümkün olamayabileceği çünkü bu bölgelerde apatit kristallerinin homojen çekirdeklenmesini sağlamak için gerekli olan kristal çekirdeklerinin bulunmadığı üzerinde durulmaktadır (91, 220). İşte, biyomimetik remineralizasyon bu gibi problemlere farklı bir yaklaşım getirmektedir. Bu yaklaşımda, nonkollajen proteinler vasıtasıyla ilgili bölgelere kalsiyum ve fosfor çökmesi ile kollajen ağın desteklenmesi ve kollajen matriksin intrafibriler ve ektrafibriler kompartımanlarında bulunan suyun mineral ile yer değiştirmesi hedeflenmektedir. Bu yaklaşım, "bottom-up" yani aşağıdan yukarıya doğru remineralizasyon olarak adlandırılır ve sert doku oluşumunda doğal olarak gerçekleşen bir olgudur (218).

Dentin bağlayıcı ajanlara biyomimetik remineralizasyon oluşturabilme niteliği kazandırabilmek için biyoaktif cam, hidroksiapatit, amorf kalsiyum fosfat, kalsiyum silikat gibi materyallerin doldurucu olarak eklenmesi önerilen yaklaşımlardır (6, 114, 168). Bunlar arasında hidroksiapatit; gerek doku uyumu, gerekse etkin biyoaktif özelliği nedeniyle umut vadeden bir ajandır. Diş sert dokularının temel yapıtaşı olan materyal kalsiyum ve fosfat salabilmesi nedeniyle remineralizasyon ajanı olarak restoratif ve koruyucu diş hekimliği uygulamalarında yer bulmuştur ve fizyolojik ortamda kimyasal olarak stabil kalabilen ve spesifik biyolojik aktiviteye neden olan kalsiyum fosfat bazlı biyoseramik ailesinin tek üyesidir (108, 165, 166, 221). Ayrıca hidroksiapatit fizyolojik ortamda sadece apatit oluşumunu desteklemekle kalmaz kendi yüzeyinde karbonize apatit akümüülasyonunun hızlanmasını sağlar (221). Dolayısıyla apatit doldurucu, mineral desteğini kaybetmiş ve remineralizasyonu başlatabilecek kristal çekirdeğinden yoksun kollajen matrikste çekirdek görevi görerek hibrit tabakada mineral depozisyonu sağlayabilir ve bu sayede sadece adezyonun

mukavemetini artırmakla kalmaz, hibrit tabakanın degradasyonunu da önlenebilir (222). Bu nedenle bu çalışmada, farklı oranlarda nano boyutta hidroksiapatit içeren dentin bağlayıcı ajanların, konfokal lazer taramalı mikroskopi, enerji dağılım spektroskopisi ve nano indentasyon yöntemleri kullanılarak remineralizasyon etkinliklerinin ve mikro gerilim bağlanma dayanımlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Hidroksiapatit diş sert dokularının yapısında yer alan major inorganik komponenttir ve biyolojik uyumluluğu üst seviyededir. Ayrıca bu nitelikleri ile doldurucu olarak adeziv rezinlerin mekanik ve biyolojik özelliklerinin geliştirilmesinde umut verici bir ajan olarak görülmektedir (170). Sadat-Shojai ve arkadaşları, adeziv rezinlerde kullanılan HA'nın partikül formu ve partikül boyutlarındaki farklılıkların elde edilen sonuçları etkilediğini bildirmişlerdir (171).

Nano boyutlu hidroksiapatit doldurucu kullanımının üç temel avantajı olduğu bildirilmektedir (117). İlk avantajı; nano doldurucuların bağlayıcı ajanın mekanik özelliklerini geliştirmesidir. Nano doldurucuların, kompozit ile diş arasında elastik bir katman oluşturduğu ve çiğneme kuvvetleri karşısında gelen yükü kompanze ederek adeziv tabakayı destekleyebileceği ve stres emici rol üstlenebileceği düşünülmektedir (144). Bununla birlikte, nano doldurucu miktarı ve partiküllerin dağılımı, optimize edilmesi gereken kritik parametrelerdir. İkinci avantajı; nano hidroksiapatit doldurucunun yüksek iyon salabilme kabiliyetidir. Partikül boyutunun azalması, yüzey alanının artmasını sağlar. Bu sayede temas eden her yüzeyden mineral salımı gerçekleşir. Bu nedenle nano doldurucu, mikro doldurucuya nazaran daha fazla iyon salımı gerçekleştirme kapasitesine sahiptir (144). Üçüncü avantajı ise doldurucunun bağlayıcı ajanla beraber dentin tübüllerinin içine akabilmesidir. Yetişkin bir bireyde dentin tübül çapları koronal ya da pulpal dentinde farklılık gösterse de, dentin tübül çapının ortalama 2,6~2,9 µm (ortalama 2700 nm) arasında olduğu bildirilmektedir (223). Doldurucu olarak kullanılması planlanan materyalin partikül boyutunun 2,5 µm'nin altında olması, doldurucunun dentin tübüllerinin içine girebilmesine olanak verecektir. Ayrıca partikül boyutunun küçük olması, tübüllerin doldurucu ile tıkanarak

dentin bağlayıcı ajanın tübül içinde ilerlemesine engel oluşturması gibi problemlerin önüne geçilmesini sağlayacaktır (139). Bu avantajlar göz önüne alınarak bu tez çalışmasında kullanılan hidroksiapatit doldurucunun partikül boyutu 40-160nm arasında seçilmiştir. Çalışmada kullanılan doldurucu materyali temin edildikten sonra, x-ray diffraction (XRD) yöntemi ile karakterizasyon ve taramalı elektron mikroskobu ile partikül analizi gerçekleştirilerek doldurucunun saflığı ve partikül boyutu teyit edildi.

Nano boyutlu partiküllerin temel sorunlarından birisi topaklanma (aglomerasyon) eğilimde olmalarıdır. Bu amaçla dental kompozitlerde mikro ya da nano boyutlu doldurucuların silanlanması stratejisi kullanılmaktadır (166, 224, 225). Bu sayede doldurucu partiküllerin yüzey enerjisi artırılarak topaklanmanın önüne geçilmesi amaçlanır. (108). Viskozitenin ve tübül penetrasyonunun bağlanma üzerine etkisi göz önüne alındığında nano boyutlu doldurucu kullanımının, adeziv rezinlerin bağlanma başarısı açısından değerlendirilmesi gerekmektedir. Ancak Wagner ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, silanizasyon işlemi uygulanan ve uygulanmayan nano boyutlu hidroksiapatit doldurucuların her ikisinin de adeziv rezin içerisinde benzer şekilde düşük aglomerasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, nano boyutlu apatit doldurucuların adeziv rezin içerisinde silanizasyon işlemine gerek duymaksızın kullanılabileceğini bildirmektedirler (170). Bu nedenle çalışmada kullanılan doldurucu partiküllere silanizasyon işlemi uygulandı. Ancak doldurucunun topaklanmasının engellenmesi ve homojen dağılımın sağlanabilmesi amacıyla, doldurucu eklenen dentin bağlayıcı ajanlar ultrasonik bir karıştırıcı kullanılarak 30'ar saniyelik periyotlar ile 2 dakika boyunca karıştırıldı.

Dentin bağlayıcı ajanlarda HA doldurucu kullanımı, bağlayıcı ajanın mekanik özelliklerini ve hibrit tabakanın uzun dönemde dayanımını artırabileceği belirtilmektedir (108). Ancak nano boyutlarda ve yüksek oranda doldurucu kullanımının adezivin viskozitesinde artışa neden olabileceği şüphesi araştırmacılar tarafından ortaya atılmıştır (139, 226). Dentin bağlayıcı ajanın dentin tübülleri içine doğru akışını zorlaştırabilen ve mekanik bağlantının önemli unsurlarından olan rezin

tagların yetersiz oluşmasına sebebiyet verebilen bu sorun üzerine çalışan Leitune ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada; ağırlıkça %10 ve üzerinde HA doldurucu içeren dentin bağlayıcı ajanların kontrol grubuna göre makaslama bağlanma dayanımında belirgin bir düşüş gösterdiklerini, ağırlıkça %5, %2, %1 ve %0,5 doldurucu içeriğine sahip bağlayıcı ajanların ise makaslama bağlanma dayanımının kontrol grubuna göre daha yüksek sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir (168). Bir diğer araştırmada Melo ve arkadaşları; ağırlıkça %10-30 oranında nano partikül boyutuna sahip CaP içeren dentin bağlayıcı ajanların kontrol grubu ile benzer makaslama bağlanma dayanım kuvvetleri gösterdiğini, ancak doldurucu oranının %40 ve üzeri değerlerde kullanıldığında makaslama bağlanma dayanımında belirgin bir düşme görüldüğünü bildirmişlerdir (139). Bahsedilen çalışmalar göz önüne alınarak bu tez çalışmasında kullanılan dentin bağlayıcı ajanların doldurucu oranları %2, %5 ve %7 olarak belirlendi. Bu sayede literatürde benzer çalışmalarda önerilen %10 ve altında doldurucu oranı göz önüne alınarak, çalışma grupları %10'un altında seçildi ve çalışmada kullanılacak dentin bağlayıcı ajanların viskozitesinin etkilenmemesi, bağlantı dayanımı üzerine olumsuz etki oluşturmaması, bağlayıcı ajanın dentin tübülleri içine rahat bir şekilde akabilmesi ve tübül içine doldurucu penetrasyonun sağlanması amaçlandı.

Biyomateryaller, vücutta canlı doku veya organların işlevini arttırmak veya değiştirmek için kullanılan, ilaç veya canlı organizma olmayan materyallerdir. Bu materyaller doku-materyal etkileşim türüne göre; biyoinert, biyoaktif veya rezorbe olabilir niteliktedir (221). Biyomateryallerin aktivitesi hakkında yapılan incelemeler temel olarak hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar ile gerçekleştirilmektedir (227-230). Bununla birlikte Kokubo ve arkadaşları biyomateryallerin aktivitesini *in-vitro* olarak değerlendirmeye olanak sağlayan bir sistemi literatüre kazandırarak bu konuda önemli bir gelişme kaydetmişlerdir. Araştırmacılar, simüle edilmiş vücut sıvısı (Simulated Body Fluid-SBF) adını verdikleri özel bir çözelti ile yaptıkları *in vitro* çalışmalarında, apatit/wollastonite içeren cam seramiklerin aselüler SBF içinde dahi karbonize hidroksiapatit ve küçük kristalitler oluşturduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, biyomateryalin yüzeyinde oluşan apatitin kompozisyon ve yapısal özelliklerinin doğal

kemikteki apatite benzer olduğunu bildirmişlerdir (146, 211). Bu bulgulara dayanarak araştırmacılar, biyomateryallerin kullanımı durumunda apatit formasyonunu inceleyen çalışmaların SBF sayesinde *in vitro* koşullarda gerçekleştirilebileceği sonucuna varmışlardır. Bu sayede, uygun ortam sağlandığı takdirde apatit oluşumunu ve dolayısıyla bir maddenin biyoaktivitesini değerlendirmenin mümkün olabildiği gösterilmiştir (146). SBF, insan kan plazmasının iyon konsantrasyonuna yakın konsantrasyona sahip 7,4 pH koşullarında ve aynı fizyolojik sıcaklıkta hazırlanan bir çözeltilidir (146). SBF çözeltisi içinde inkübe edilen HA yüzeyinde spontan çökeltme, çekirdekleşme, kalsiyum fosfat büyümesi ve apatit formasyonu gibi bir dizi kimyasal tepkime gerçekleşir (231). Hidroksiapatitin yapısında bulunan OH^- ve PO_4^{3-} grupları, materyalin yüzeyinin negatifliğinden, Ca^{+2} ise pozitiflikten sorumludur ve apatit oluşum süreci esas olarak negatif gruba bağlıdır. (OH^- ve PO_4^{3-}). İnkübasyon döneminde, SBF'deki pozitif Ca^{+2} iyonları, materyal yüzeyinde bulunan OH^- ve PO_4^{3-} iyonları tarafından çekilir. Kalsiyum iyonunun apatit yüzeyine çekilmesi, apatit yüzeyinin pozitif yüklenmeye başlamasına ve SBF'ye göre daha pozitif hale gelmesine neden olur. Materyal yüzeyinin pozitif hale gelmesi SBF'de çözünmüş halde bulunan negatif yüklü OH^- ve PO_4^{3-} iyonlarını çeker. Bu olaylar dizisi materyal yüzeyinde karbonize apatit tabakasının oluşumu ile sonuçlanır (221). Biyoaktif doldurucudan yavaş şekilde gerçekleşen kalsiyum iyon salımı ve daha sonra bu iyonların SBF veya dentin substratındaki fosfor türleri ile etkileşimi sonucunda rezin-dentin arayüzündeki kollajenlerin remineralizasyonu mümkün olmaktadır (232). Literatürde, biyoaktif doldurucu içeren bağlayıcı ajanlar kullanılarak yapılan restorasyonların 3-6 ay süre ile SBF içerisinde bekletilmesi sonrasında rezin-dentin ara yüzünde oluşan nano sızıntı ve mikro permabilitenin azaldığını ve bağlanma dayanımının korunduğunu bildiren araştırmalar olmakla birlikte (114, 233, 234), biyoaktif dolduruculardan iyon salımının yavaş gerçekleşmesi nedeniyle, biyoaktif bir materyalin aktivitesi hakkında bilgi elde edilebilmesi için 1 ay ile 3-6 ay arasında SBF içerisinde bekletilmesi gerektiği de çalışmaların sonucunda ortaya koyulmaktadır (6, 114, 139). Ayrıca SBF'nin iyon konsantrasyonunda zamana bağlı azalma gerçekleşeceğinin göz önünde bulundurulması ve solüsyonun tazelenmesi gerekliliği vurgulanmaktadır (146). Bu tez

çalışmasında da bağlayıcı ajanların biyoaktivitesinin değerlendirilebilmesi amacıyla SBF kullanıldı. Solüsyon her seferinde en fazla 1 L olacak şekilde hazırlanarak konsantrasyonunun ve tazeliğinin korunması amaçlandı, ayrıca örnekler 24 saatte bir tazelenen solüsyonlar içerisinde ve çökmenin engellenmesi için Kokubo'nun yönteminde tanımladığı üzere 37°C'de etüvde bekletildi (146). Bekleme süresi olarak Sauro ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kullandıkları bekleme süresi göz önüne alınarak 1 gün, 30 gün ve 90 günlük periyotlar planlanarak, uygulandı. (114).

Rezin kompozitlerin yapısına çeşitli organik ve inorganik doldurucuların eklenmesi mikro sertlik, aşınma direnci, su emilimi gibi özelliklerini geliştirmeye yönelik olarak uygulanmakta olan bir stratejidir (32, 235, 236). Adeziv rezinler, rezin kompozitlere benzer organik bir matrikse sahiptirler ve genellikle doldurucu içermezler (32). Ancak günümüzde bazı ticari dentin bağlayıcı sistemlerde ve bilimsel araştırmalarda, dentin bağlayıcı ajanları geliştirmeye yönelik olarak doldurucu ilavesinin kullanıldığı görülmektedir (32, 107, 235, 237). Deneysel olarak dentin bağlayıcı ajanların çeşitli yönlerden başarısının değerlendirildiği çalışmalarda, kullanılacak olan doldurucu ya da fonksiyonel monomerin etkinliği hakkında objektif bir değerlendirme yapılabilmesi için, doldurucu ya da fonksiyonel monomer içermeyen bir dentin bağlayıcı ajan kullanımı daha uygun olacak ve çalışmanın güvenini artıracaktır. Bu amaçla bazı araştırmacılar, adeziv rezinler üzerine yaptıkları araştırmalarında, deneysel olarak dentin bağlayıcı ajan hazırlamaktadır. (108, 114, 205). Bununla birlikte firmaların ürettiği, ticari olarak satışı bulunan, doldurucu içermeyen ve başarısı pek çok bilimsel veri ile kanıtlanmış dentin bağlayıcı sistemleri de mevcuttur (224, 238, 239). Scotchbond multi-purpose (SBMP)'da bu maksatla bilimsel çalışmalarda tercih edilen, herhangi bir fonksiyonel monomer ya da doldurucu içermeyen bir dentin bağlayıcı sistemidir (117, 139, 238). Bu çalışmada da çalışma gruplarının, dentin bağlayıcı ajandan kaynaklanan farklılıklardan etkilenmemesi ve kullanılan HA doldurucunun etkinliği hakkında objektif sonuçlar elde edilebilmesi amacıyla doldurucu içermeyen bir adeziv rezin olan SBMP kullanıldı.

Doldurucu içeren dentin bağlayıcı ajanların deneysel olarak kullanılması öncesi karıştırma işlemi santrifüj ya da mikser yardımı ile gerçekleştirilmektedir (103, 108, 171). Ancak karıştırma işlemleri sırasında önemli olan unsur, sadece homojen bir karışım elde edilmesi değil ayrıca karıştırma işlemi sırasında açığa çıkan ısının önlenmesidir. Isı artışının önlenmesi, dentin bağlayıcı ajanın yapısında oluşabilecek bozulmaların önüne geçilmesi açısından önemlidir (240). Bu çalışmada dentin bağlayıcı ajanların karıştırılmasında ultrasonik bir karıştırıcı kullanıldı. Bu sayede homojen bir karışım oluşması sağlandı. Bununla beraber karıştırma işlemi sırasında bağlayıcı ajanın oluşabilecek sıcaklık artışından etkilenmesini önlemek amacıyla karışım 30 saniyelik periyotlar halinde ve 10 saniyelik aralıklar ile gerçekleştirildi.

In vitro koşullarda gerçekleştirilen pek çok çalışmada, elde edilmesinin kolay olması nedeniyle üçüncü molar dişler tercih edilmektedir (241-246). Dişlerin çekiminden sonra kullanılacağı zamana kadar nemini kaybetmemesi ve organik ve inorganik yapısının korunması çalışmanın sonuçlarını etkileyebileceği için dişlerin kullanımı sırasında dikkat edilmesi gereken önemli bir husus saklama koşullarıdır. (247-249). Bu amaçla araştırmacılar distile su, serum fizyolojik gibi saklama solüsyonlarını ya da kloramin T, timol ve sodyum hipoklorit gibi dezenfektan özellikteki solüsyonları tercih edebilmektedir (250, 251). Tosun ve arkadaşları distile su, formol ve timolün mineye bağlanma dayanımını değerlendirdikleri çalışmalarında, distile su ve formolün mineye bağlanmada istatistiksel olarak bir fark oluşturmadığını, ancak timolün mineye bağlanmayı azalttığını bildirmektedirler. Araştırmacılar, saklama solüsyonlarının kimyasal yapısının deneyde kullanılacak dişlerin organik ve inorganik yapılarının etkileyebileceğini belirtmektedirler (252). Aquilino ve arkadaşları, %0,05'lik timol, %0,9'luk tuzlu su ve distile su olmak üzere üç farklı saklama solüsyonunun dentine bağlanma dayanımına etkisini araştırdıkları çalışmalarında, solüsyonlar arasında bağlanma dayanımı açısından istatistiksel olarak farklılık tespit edemediklerini bildirmişlerdir (253). Lee ve arkadaşları, sığır dentin dokusuna bağlanma için distile su, %0,9'luk sodyum klorit çözeltisi, %0,5'lik kloramin T, %5,25'lik sodyum hipoklorit çözeltisi ve %2'lik glüteraldehid olmak

üzere beş farklı saklama solüsyonunun etkisini araştırdıkları çalışmalarında, sodyum klorit ve sodyum hipoklorit gruplarının diğer gruplara kıyasla bağlanma dayanımını istatistiksel olarak anlamlı derecede düşürdüğünü ancak diğer gruplar arasında fark olmadığını belirtmişlerdir (254). Aydın ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 2 ay distile su içerisinde saklanan dişlerin mine ve dentindeki mikro sertlik değerlerinin kabul edilebilir sınırlar içinde olduğunu, bu nedenle distile suyun kısa süreli saklama solüsyonu olarak tercih edilebileceğini bildirmişlerdir (250). Bu verilere dayanarak çalışmada elde edilme kolaylığı göz önüne alınarak periodontal, ortodontik ya da protetik nedenlerle çekilmiş üçüncü molar dişler kullanıldı ve dişler, üzerinde bulunan doku artıkları uzaklaştırıldıktan sonra çalışma zamanı boyunca maksimum 1 aylık süre ile distile su içerisinde +4 °C’de bekletildi.

Dentin bağlayıcı ajanların değerlendirildiği *in vitro* koşullarda gerçekleştirilen çalışmalarda standart diş yüzeylerinin oluşturulması bir diğer önemli noktadır (6, 114, 255). Dentin bağlayıcı ajanın terapötik etkilerinin değerlendirildiği bazı çalışmalarda araştırmacılar su soğutması altında hassas kesme cihazı yardımı ile köklerin mine-
sement sınırının altından uzaklaştırılmasını takiben koronal orta üçlüdeki dentinin (midkoronal dentin) açığa çıkarılması amacı ile paralel bir kesit alarak okluzal yüzeyi uzaklaştırmaktadırlar. Bu işlemi takiben su soğutması altında sırasıyla 180-1200 arasında değişen gridlere sahip zımparalar yardımı ile eşit ve benzer nitelikte bir smear tabakasının elde edilmesi sağlanmakta ve dentin yüzeyinde oluşan pürüzler giderilmektedir (6, 108, 114). Çalışmamızda benzer bir yöntem ile su soğutması altında midkoronal dentin açığa çıkarıldıktan sonra smear tabakasının oluşturulması amacıyla sırasıyla 180, 240, 600 ve 1200 gridlik zımparalar, her biri 60 saniye süre ile kullanılarak yüzey hazırlığı yapıldı.

Işıkla polimerize edilen rezin kompozitlerin polimerizasyon derecesi, kompozit rezinin ışık kaynağından uzaklığı ve kompozit rezinin kalınlığından etkilenmektedir. Işık kaynağından uzaklaştıkça kompozitin sertlik değeri düşmektedir. Bununla beraber rezin kompozitin kalınlığı arttıkça ışık geçirgenliği düşmekte, ışığın derin dokulara ulaşabilme imkânı azalmakta polimerizasyon derecesi düşmektedir. Bu

durum da yine kompozitin sertliğinin azalmasına ve diğer fiziksel özelliklerinin olumsuz şekilde etkilenmesine neden olmaktadır (256). Bu nedenle rezin kompozitlerin en fazla 2 mm'lik tabakalar halinde yerleştirilmesi ve polimerize edilmesi önerilen bir uygulamadır (256, 257). Bu uygulama, tabakalama (incremental) tekniği olarak adlandırılmaktadır. Çalışmada rezin restorasyonlar, tabakalama tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte rezin restorasyonlar arasındaki yapısal komponent bakımından oluşabilecek farklılıkların elemine edilmesi, restoratif materyale bağlı farklılıkların önlenmesi açısından dentin bağlayıcı ajan ile aynı üretici firma tarafından üretilen, aynı lot numarasına sahip ve aynı renkteki kompozit rezin materyal (A2) tercih edildi. Bu sayede restoratif materyalden kaynaklı gelişebilecek farklılıklar elimine edilerek restorasyonların standardizasyonu sağlandı. Remineralizasyon etkinliğinin değerlendirildiği testlerde diş örneklerinden kolay kesit alınabilmesi, mikro gerilim bağlanma dayanımı testinde ise yeterli uzunlukta çubukların elde edilebilmesi amacıyla rezin restorasyonlar yaklaşık 4 mm yükseklikte hazırlandı.

Sertlik, malzemenin deformasyona karşı direncinin bir ölçüsüdür. Sertlik; elastisite modülü ve akma stresi gibi diğer mekanik özelliklerle ilişkili olabileceğinden, dentin dokusu üzerinde sertlik ölçümlerinin yapılması rutin değerlendirme yöntemlerindedir (114, 172, 246, 258). Currey ve Brear, mineralize dokular için sertlik, elastisite modülü ve akma geriliminin kalsiyum içeriği ile olan ilişkilerini inceledikleri çalışmalarında; sertlik, elastisite modülü, akma gerilimi arasında doğrusal bir ilişki olduğunu ve bahsi geçen mekanik parametreler ile kalsiyum içeriği arasında doğrusal ya da orantısız olmayan pozitif yönlü bir ilişkiyi tespit ettiklerini bildirmişlerdir (259). Dolayısıyla sertlik testleri demineralizasyon-remineralizasyon kavramlarını inceleyen çalışmalarda sıklıkla tercih edilen bir yöntem olarak kabul edilmektedir (114, 260, 261). Nano indentasyon testi ise, sertlik analizinde kullanılan özel bir yöntem olup mikro sertlik testine göre daha hassas özellikte, alan spesifik bir ölçüm yapılmasına olanak sağlamaktadır.

Dentin organik, mineralize bir dokudur. Ancak bu mineralizasyon tüm dentin boyunca homojen olarak dağılmamıştır. Dentinin sertliği, mine-pulpa doğrultusunda 250-800 MPa arasında değişmektedir (128). Sertlik değerlendirmeleri diş hekimliği alanında mikro sertlik ya da nano indentasyon yöntemleri ile gerçekleştirilmektedir. Mikro sertlik testinde kullanılan indenter (iz bırakan uç), nano indentasyon testinde kullanılan indentera göre daha kalın olduğu için oluşturduğu iz daha geniş olmaktadır ve araştırmacılara daha geniş bir alanın ortalama sertliği hakkında bilgi vermektedir. Bu durumda dentinin tübül yoğunluğunun fazla olduğu, çürük ya da demineralize dentin alanlarından alınan sertlik ölçümlerinde objektif sonuçların elde edilememesi bir sorun olarak göze çarpmaktadır (128). Pashley ve arkadaşları araştırmalarının sonucunda tübül yoğunluğu ile dentinin sertliği arasında ilişki olduğunu göstermişler ve tübülün yoğunluğuna bağlı olarak pulpaya yaklaştıkça dentin sertliğinde azalma olduğunu bildirmişlerdir (258). Dolayısıyla mikro sertlik yöntemi, dentinin çeşitli bölgelerindeki tübül yoğunluğunda görülen farklılıklara bağlı olarak, dentinin sertliği, mineral kaybı ya da mineral artışı hakkında bilgi elde edilmesinde kullanılabilir en uygun metot olarak değerlendirilmemektedir (128). Bu nedenle günümüzde nano indentasyon gibi alan spesifik sertlik ölçümüne olanak sağlayan test metotları kullanılmaya başlanmıştır. Nano indentasyonda mikro sertlik testlerine göre daha küçük iz bırakabilen uçlar ile daha hafif ağırlıklar kullanılarak değerlendirme yapılabildiğinden yöntem, daha hassas ölçüm yapılmasına olanak vermektedir (128). Bununla birlikte cihaz, eş zamanlı olarak materyallerin elastisite modülünü de hesaplamaya olanak sağlamaktadır. Balooch ve arkadaşları, uygulanan kuvvet ve indenter deplasmanının iz oluşturma esnasında eşzamanlı olarak kaydedildiği, sertlik ve elastisite modülünün yük deplasman eğrisi kullanılarak belirlendiği nano indentasyon yönteminin kullanımı ile demineralize ve remineralize dentin ya da kollajen matriksin visko-elastikiyetini değerlendirmenin mümkün olduğunu göstermişlerdir (262). Nano-indentasyon başarılı ve önerilen bir yöntem olsa da kullanılırken dikkat edilmesi gereken bir husus özellikle önem arz etmektedir. Buna göre, örnekler üzerinde ölçüm yapılacak alanda iki iz arası mesafe 5 µm'den daha az olmamalıdır. Her ne kadar indenter ucu çok küçük olsa da birbirine çok yakın iz

alındığı durumlarda ölçümlerde bozulmalar yaşanabilmektedir (128). Bu tez çalışmasında dentin dokusundaki sertlik değişikliğine ait değerlendirmeleri yapabilmek için tercih edilen yöntem nano indentasyon olarak belirlenmiştir. Sertlik ölçümleri hibrit tabakanın altından başlanarak pulpaya doğru 5 ayrı noktadan ve her bir noktada 3'er kez tekrarlanmak üzere 15 iz şeklinde gerçekleştirildi. Her bir noktada 3'er kez tekrarlanan ölçümlerin ortalaması alınarak o noktaya ait nihai değer elde edildi. Ölçümler sırasında ölçüm noktaları arası mesafe 5 ± 1 μm 'lik aralıklarla belirlenerek sertlik ölçümlerinde gözlenebilecek sapmalar önlenmeye çalışıldı.

Nano indentasyon testinin gerçekleştirilmesi sırasında dikkat edilmesi gereken bir diğer husus ise numune yüzeyinin düzlüğü, pürüzsüzlüğü ve nemli olup olmadığıdır. Nano indentasyon testinde indenterin düz bir yüzey üzerinde çalışması ve iz oluştururken kaymaması ya da boşluğa düşmemesi gerekmektedir. Eğimli düzlemlerde indenter yüzey üzerinde kayabilir ve bu durum ölçümlerin yanlış hesaplanmasına neden olur. Bu nedenle indenterde kayma gerçekleştiği durumda cihaz otomatik olarak durur. İndenter ucu boşluğa geldiğinde ise işlem yine otomatik olarak durur ve herhangi bir değer elde edilemez ve test tekrar edilir. Çünkü indentasyon yönteminde sadece batma eğrisi değil aynı zamanda deplasman eğrisi de değerlendirilerek numunenin sertlik ve elastisite modülü hesaplanmaktadır. Bu nedenle çalışmada kesitlerin yüzeylerinin düz hazırlanmasına özen gösterildi. Kesitler elde edildikten sonra her bir kesit zımparalama işlemine tabi tutuldu. Daha sonra kesitler stereo mikroskop altında incelendi ve deformasyon gözlenen ya da hatalı alanları olanlar çalışma dışında tutuldu. Bununla birlikte nano indentasyon analizi sırasında ölçüm hatları seçilirken kusurlu alanlardan ölçüm yapılmamasına özen gösterildi.

In vitro koşullarda, materyallerin diş dokuları üzerindeki mineralizasyon etkinliğinin değerlendirilmesinde mikro sertlik, nano sertlik, transversal mikro radyografi, enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi, mikro bilgisayarlı tomografi (mikro BT), kantitatif ışık-indüklü floresans (QLF), açılı bilgisayarlı tomografi (CBCT), konfokal lazer taramalı mikroskopi (KLTM) gibi pek çok yöntem kullanılmaktadır

(174, 263-265). KLTM, floresans boya yardımı ile incelenecek dokunun (yumuşak ya da sert doku) işaretlenmesi ve işaretli dokunun lazer ışık kaynağı yardımı ile uyarılarak görüntülenmesi prensibine dayanan özel bir mikroskobik yöntemdir (182). KLTM, örneklerin nemli olup olmamasından ve kesit alınması sırasında oluşan yüzey düzensizliklerinden etkilenmez, saçılan ve yansıyan ışığı elemine edebilir ve bu özellikleri ile çalışma kolaylığı sağlar (182). KLTM ile diş sert dokularında demineralizasyon-remineralizasyon süreci değerlendirilebilmekte ve lezyon derinliği ve mineral yoğunluğu hakkında bilgi edinilebilmektedir (182, 266). Bununla birlikte KLTM yöntemi ile biyomimetik mineralizasyon çalışmalarında dentin bağlayıcı ajanlara eklenen kalsiyum silikat, HA gibi kalsiyum içerikli mineralizasyon ajanlarının etkinliğinin incelenmesi mümkün olmaktadır (6). Yöntemin uygulanması sırasında rhodamin B, xilenol orange, lucifer yellow gibi bazı floresan boyalardan yararlanılması gerekmektedir. En çok tercih edilen boya ise rhodamin-B'dir. Rhodamin-B, dokuya kolay penetre olabilen bir boyadır ve lezyon derinliğinin tespiti, dokuya penetrasyon oranı ve floresans değişiminin değerlendirilmesini sağlamak suretiyle mineralizasyon etkinliğini değerlendiren çalışmalarda kullanılabilir (266). Kullanılan bir diğer floresans boya ise xilenol orange'dır. Xilenol orange; kalsiyum ile şelasyon yapabilen, floresans özellik gösteren ve diş/kemik gibi sert dokuların mineralizasyonunu değerlendiren çalışmalarda tercih edilen bir boyadır ve kalsifiye dokularının demineralizasyon/remineralizasyonunu araştıran çalışmalarda kalsiyum mineralinin depoziyon alanlarının saptanması amacıyla kullanılmaktadır (6, 114, 267). Bahsi geçen bu avantajları göz önüne alınarak hidroksiapatit içeren dentin bağlayıcı ajanların mineralizasyon etkinliğinin değerlendirilmesinde mineral depoziyon alanlarının saptanması ve ölçümünde KLTM yöntemi kullanıldı. Kesitlerden alınacak görüntülerdeki bozulmaların önlenmesi amacıyla kesit yüzeyleri su soğutması altında sırasıyla 800-1000-1200 gridlik zımparalar ile zımparalandı. İşlem sonrası örnekler bir gün süre ile kurumaya bırakıldı. Bu ölçümleri yapabilmek amacıyla hazırlanan diş kesitlerinin dentin tübüllerinin dişin uzun aksına dik olarak uzandığı ve kırık, çatlak, hava kabarcığı ya da boşluk olmayan alanlarındaki üç farklı noktadan görüntü alınarak değerlendirme yapıldı. Görüntüleme sırasında, Xilenol

orange boyasına ait olan excitation/emission değerleri 488 ve 514 nm dalga boyu olarak ayarlandı. KLTM ile elde edilen görüntülerin işlenmesi için alan, uzunluk ölçümleri ve hücre sayımlarının yapılabildiği pek çok tıp bilimine ait çalışmada tercih edilen dijital görüntü işleme programı olan Image J kullanıldı. (268). Bu program ile KLTM sonrası her kesitin üç farklı noktasından elde edilen görüntülerin mineral depozisyon alanları, programın ölçeği mikrometreye ayarlanarak, μm^2 cinsinden hesaplandı ve kesitin üç farklı noktasından ölçülen mineral depozisyon alanlarının ortalaması kaydedildi.

Çalışmada remineralizasyon etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerden bir diğeri de enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisidir. Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobuna bağlı bulunan EDS dedektörü sayesinde inceleme yapılan alana ait yüzeydeki elementlerin analizinin gerçekleştirilmesine olanak sağlayan spesifik bir yöntemdir. Bu yöntemde EDS dedektörü, ilgili alandaki ölçülmesi istenen elementleri saptayabilir ve istenen elementler hakkında kantitatif bir değer verebilir. EDS analizi, ilgili alan yüzeyindeki elementlerin tespitine ve bu elementlerin konsantrasyonlarının saptanmasına olanak sağlar. EDS çok yönlü bir yöntem olup, metaller ve seramiklerden biyolojik dokulara kadar herhangi bir katı numune için kullanılabilir (269, 270). Bununla beraber EDS'nin en büyük dezavantajı dedektörün önünde konumlanmış olan ve düşük enerjili x-ışınını emen koruyucu filtre nedeniyle hidrojen, helyum ve lityum gibi elementleri saptayamamasıdır (270). Bununla beraber bu tez çalışmasında remineralizasyon etkinliğinin değerlendirilmesinde saptanmak istenen elementler arasında bahsi geçen elementler bulunmadığından cihazın bu dezavantajı sorun teşkil etmemiştir.

Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi yönteminin kullanımında ilk aşamada elementlerin varlığının saptanması işlemi gerçekleşir. İkinci aşamada ise saptanan elementlerin ağırlıkça oranları nicel olarak hesaplanır. Burada dikkat edilmesi gereken husus saptanmak istenen elementlerin doğru olarak seçilmesi ve cihazın tespit ettiği diğer elementlerin elemine edilmesidir. Bu sayede araştırmacı bilgi kirliliğinden kaçınarak, elde etmek istediği verileri alabilir (270). Çalışmada remineralizasyon

etkinliğinin değerlendirilmesinde saptanmak istenen elementler ağırlıkça kalsiyum, fosfor ve kalsiyum/fosfor oranı olarak belirlenerek analizler bunlar üzerinden yürütüldü.

Element analizi sırasında örneklerin doğru şekilde hazırlanması da önemli bir aşamayı oluşturur. Enerji dağılım spektroskopisi yüzeyden ölçüm gerçekleştirir ve ölçüm sırasında nemden etkilenmez. Ayrıca ölçüm için yüzeyin altın, platin gibi elementler ile kaplanmasına ihtiyaç duyulmaz. Bu nedenle örnek hazırlanması nispeten kolaydır. Ancak dikkat edilmesi gereken husus örnek yüzeylerinin düz ve mümkün olduğunca pürüzsüz olmasıdır. Doğru hazırlanmayan örnekler üzerinde gerçekleştirilen ölçüm sırasında yansıyan x-ışını dağılıbilir ya da saçılabilir ki bu durum farklı ve istenmeyen pik değerlerinin gözlenmesi ile sonuçlanabilir (270). Bu sorunu elimine etmek amacıyla hazırlanan örneklerin düz ve pürüzsüz hale getirilmesi için hassas kesme cihazı ile kesitler elde edildikten sonra zımparalama işlemi gerçekleştirildi ve örnekler stereo mikroskop ile ön incelemeye tabi tutuldu, analiz işlemi sırasında şüpheli görülen örnekler ise analiz dışı bırakıldı.

Klinik çalışmalar, restoratif bir materyalin etkinliğinin değerlendirilmesi açısından en ideal yoldur. Ancak üretilen bir restoratif materyalin klinik olarak uygulanabilirliğinin saptanabilmesi, yarar ve zararlarının tespit edilebilmesi için öncelikle laboratuvar testlerine tabi tutulması gerekmektedir (271, 272). Laboratuvar testlerinin daha az maliyetli olması, kolay uygulanabilir olması ve klinik ortamı taklit edebilmesi gibi özellikleri bazı testleri diğerlerine kıyasla ön plana çıkarabilmektedir. Dentin bağlayıcı sistemlerin performansı ile ilgili olarak gerçekleştirilen laboratuvar testleri içerisinde en sık tercih edilen test bağlanma dayanım testleridir. Bu testler; makaslama (shear), mikro makaslama, gerilim (tensile), mikro gerilim (micro-tensile) ve kırılma dayanımı (fracture strength)'dır. Mikro gerilim bağlanma dayanım testi temelde, küçük bir alanda adeziv materyal ile dentin yüzeyi arasında bağlanma dayanımının değerlendirilmesi için tasarlanmıştır (133). Bu tekniğin avantajı, bağlanma alanının küçük olması (yaklaşık 1 mm²) ve buna bağlı olarak stres dağılımının geleneksel testlere göre daha homojen olmasıdır (210). Bu sayede dentin

içi koheziv kırılmalardan kaçınılmış ve dentinde gözlenebilen yapısal kusurların test sonucunu etkilemesinin önüne geçilmiş olunur. Bu metot kullanılarak büyük çapta örneklerden elde edilen bağlanma dayanım sonuçlarına göre daha yüksek değerlere ulaşılabilen ve geliştirilen materyallerin bağlanma dayanımları hakkında daha objektif sonuçlar elde edilebilmektedir (273, 274). Mikro gerilim bağlanma dayanım testinin bahsi geçen avantajları göz önüne alınarak ve dentin bağlayıcı ajanların bağlanma dayanımının değerlendirilmesinde objektif sonuçların elde edilebileceği düşünülerek, çalışmada dentin bağlayıcı ajanların bağlanma dayanımının değerlendirilmesinde bu metot tercih edildi. Mikro gerilim bağlanma dayanımı testinde stres dağılımının homojen olması için bağlanma alanının küçük olması önemlidir. Bu nedenle yapılan araştırmalarda bağlanma alanı yaklaşık 1 mm² olarak belirlenmektedir (6, 114, 275). Bu sayede birim alana dağılan stres azaltılmaktadır. Bununla birlikte mikro gerilim bağlanma dayanım testlerinde gerilim hızı dakikada 0,5-1 mm olarak belirlenmektedir (6, 114, 274). Bu çalışmada mikro gerilim bağlanma dayanımı analizinin gerçekleştirilmesinde hazırlanan örnekler kesit alanları yaklaşık 1 mm² olacak şekilde hazırlandı ve örnekler dakikada 1 mm hızla gerilime maruz bırakıldı.

Bu tez çalışmasından elde edilen nano indentasyon, KLTM ve EDS parametrelerine ait bulgulara dayanarak, hidroksiapatit doldurucu eklenmesinin dentin bağlayıcı ajanların remineralizasyon etkinliği üzerine etkisi yoktur sıfır hipotezi reddedildi. Dental biyomateryal araştırmalarının ana hedeflerinden biri rezin-dentin ara yüzünde mineral kaybı olan sahaları remineralize etme özelliğine sahip restoratif materyallerin geliştirilmesidir (91, 99). Bu alanda yapılmış *in vitro* çalışmalar remineralizasyonun, diş sert dokularındaki mineral içeriğinin ve dolayısı ile dokunun mekanik özelliklerinin (elastisite ve sertlik modülleri vb.) iyileştirilmesi ile sağlanabileceğini bildirmektedirler (16, 276). Bertassoni ve arkadaşları mineral depozisyonunun tek başına mineralizasyon başarısı olarak algılanmasının yanlış olduğu, bu mineralizasyonun mekanik özelliklerdeki iyileşme ile desteklenmesi gerektiğini belirtmektedirler (277). Bu tez çalışmasında çalışma gruplarının

remineralizasyon etkinliklerin değerlendirilmesinde, mineral depozisyonu enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi ve konfokal lazer taramalı mikroskopi parametreleri ile incelendi ve mineralizasyonun mekanik geri kazanımının tespiti nano indentasyon parametresi ile incelenerek karşılaştırmalı değerlendirmeler gerçekleştirildi.

Nano indentasyon analizleri için; dentin dokusunun yüzeyinden başlanarak daha derin dokulara doğru belirlenen farklı noktalar ve farklı zaman dilimlerinde yapılan değerlendirmelerin sonuçlarına bakıldığında; adeziv rezinlerin, dentinin elastisite ve sertlik değer ortalamaları üzerine olan etkisi en fazla dentinin yüzeyel bölgelerinde (1. ölçüm noktası) tespit edildi. Ancak bu kıyaslamalar açısından istatistiksel farklar, sertlik modülünde %7 HA grubunda ve elastisite modülünde %5 HA grubunda elde edildi. Benzer çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde; biyoaktif doldurucu içeren adeziv sistemlerin genellikle penetre olabildikleri dentin bölgelerinde sınırlı olmak kaydıyla remineralizasyonu olumlu yönde etkiledikleri, dolayısıyla adeziv rezinin derin dentin alanlarına penetrasyonunun güçlüğü göz önüne alındığında, biyoaktif doldurucunun etkinliğinin özellikle yüzeysel dentin bölgelerinde daha belirgin görülebildiği bildirilmektedir (114, 278). Araştırmacılar penetrasyonun, yüzeysel dentin alanlarında yaklaşık 10-20 µm kadar gözlemlendiğini bildirmektedirler (279, 280).

Dentin bağlayıcı ajanların bağlanma dayanımını artırmak için uygulanan asitle dağlama basamağı, dentin dokusundan Ca ve P iyonlarının uzaklaşarak bağlantı yüzeyinde bir miktar mineral kaybına sebep olur. Oluşan bu mineral kayıp alanı demineralize zon olarak adlandırılmaktadır ve her ne kadar bağlanma kuvvetini artırmaya yardımcı olsa da, bu bölgede dentin dokusunun mekanik özelliklerini olumsuz yönde etkilemektedir (101). Bu çalışmada kullanılan dentin bağlayıcı ajanın asitle ve yıka bir sistem olması ve asitle dağlama basamağını gerektirmesi demineralize zon oluşumu ile sonuçlandı ve bu demineralize zon EDS analizinde de tüm gruplar için 1. ölçüm alanlarında tespit edildi. Dolayısıyla özellikle bu alan, demineralizasyona bağlı olarak enzimatik aktivite ve hidrolitik degradasyona daha fazla maruz kalmaktadır denilebilir (102). EDS parametresi bulgularına göre 1. ölçüm

alanlarında ölçülen iyon değerlerinin düşük olması bu demineralize zon ile ilişkilendirildi. Bununla birlikte, 1. ölçüm noktası için elde edilen yüksek elastisite ve sertlik değer ortalamalarına rağmen EDS analizinde gözlenen iyon kayıpları örneklerin bu en üst yüzeyine penetre olan rezinin, iyon kaybına rağmen dokunun sertliğini artırmış olması ile açıklanabilir.

Dentin dokusuna ait örneklerde yüzeye yakın 1. ölçüm noktasından elde edilen verilere bakıldığında; 1 gün ve 30 gün bekleme süresi sonrası kontrol grubuna kıyasla deney gruplarının E_i ve H_i değerleri ile Ca ve içeriğine ait değerlerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Bekleme süresi 90 güne ulaştığında ise %7 HA grubunda, kontrol grubuna göre E_i ve H_i değerlerinde artış saptandı ve bu bulgular benzer şekilde EDS parametresinde de tespit edildi. Ayrıca bahsi geçen grupların E_i değerleri arası bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Yine 90 günlük bekleme süresi sonrası %2 HA ve %5 HA gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmesi de E_i ve H_i değerlerinde ve Ca ve P iyon miktarında benzer şekilde artış saptandı. Dolayısıyla yüzeysel dentin dokusunun değerlendirilmesi sonucunda; hidroksiapatit doldurucu oranının ve SBF solüsyonu içerisinde bekleme süresinin artmasının elastisite, sertlik ve iyon depozisyonu açısından anlamlı farklılıklara neden olduğu söylenebilmektedir. Konu ile ilgili benzer çalışmalar yapan Chen ve arkadaşları ağırlıkça %10, %20, %30 ve %40 oranında nano-boyutlu amorf kalsiyum fosfat doldurucu içeren adeziv rezinlerin ultraviyole-vision spektrofotometrik yöntem ile iyon salımını değerlendirdikleri çalışmalarının sonucunda kalsiyum fosfat doldurucu oranındaki artışa bağlı olarak adeziv rezinlerden gerçekleşen iyon salım miktarının arttığını ve bununla beraber ortam pH'sı ile ters orantılı olarak salınan iyon miktarının değiştiğini göstermişlerdir (117). Sauro ve arkadaşları ise biyoaktif cam (BG) ve çinko eklenmiş biyoaktif cam (Zn-BG) doldurucu içeren 2 farklı adeziv rezinin terapötik etkinliklerini nano indentasyon ve konfokal raman spektroskopisi ile inceledikleri çalışmalarında, 1, 30 ve 90 gün süreli SBF inkübasyonu sonrası inkübasyon süresi arttıkça, biyoaktif doldurucunun remineralizasyon özelliğinin arttığını tespit etmişlerdir (114).

Nano boyutlu kalsiyum fosfat doldurucular, geniş yüzey alanlarına bağlı olarak yüksek iyon salım kapasitesine sahiptirler ve SBF ortamında kendi yüzeylerinde Ca ve P iyonlarının çökmesini sağlarlar (281). Çalışmada doldurucu olarak kullanılan hidroksiapatit de yüksek iyon salım kapasitesine sahip olan bir materyaldir (168). 30 ve 90 günlük inkübasyon periyotları sonrası 1. ölçüm noktası Ei ve Hi verilerinde en yüksek sonuçların %7 HA grubunda görülmesi, bu farklılıkların doldurucu oranı ve bekleme süresi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Sauro ve arkadaşları ile Bertassoni ve arkadaşlarının bildirdiği üzere, sürekli Ca ve P iyon salımının remineralizasyonu indükleyerek dokunun mekanik özelliklerini iyileştirmesi söz konusudur (114, 277). Biyoaktivite için uzun dönem inkübasyon sürelerine ihtiyaç duyulmakta ve bu sayede mineral depozisyon alanlarının oluşması sağlanabilmektedir (114). Aynı araştırmacılar; trikalsiyum silikat, polikarboksile trikalsiyum silikat doldurucu içeren adeziv rezinlerin etkinliklerini araştırdıkları bir diğer çalışmalarının sonucunda da, biyoaktif doldurucu içeren adezivlerin, rezin-dentin arayüzü boyunca mineral birikimini indüklediğini, rezin dentin bağlantı bölgesinin nano-mekanik özelliklerini (Ei ve Hi) artırdığını ve bu değişikliklerin mikro sızıntıyı azaltma imkânı sunabileceğini belirtmişlerdir (282). Profeta ve arkadaşları da çalışmalarında, bu verileri destekler nitelikte, 6 aylık bir SBF inkübasyon periyodu sonrası kalsiyum fosfat doldurucu içeren gruplarda belirgin mineral depozisyonu gerçekleştiğini göstermişlerdir. Araştırmacılar; bu bulguların doldurucu, dentin ve SBF arasında gerçekleşen etkileşim ile alakalı olabileceğini belirtmektedirler (6). Uzun yaşlandırma dönemi boyunca ortam pH'sının yüksek olması ve ortamda serbest halde bulunan OH⁻ iyon varlığının, apatit nükleasyonunu kolaylaştırdığı ve mineralize dokuların çözülmesini zorlaştırdığı bilinmektedir (283). Profeta ve arkadaşları yaşlandırma döneminde biyoaktif doldurucunun ortama iyon salımı yaparak ortam pH'nın alkali hali geldiğini göstermişlerdir (6). Bu pH artışı, MMP aktivitesini durdurmaya yardımcı olur ve dahası doldurucudan salınan iyonlar, inkübasyon solüsyonu olan SBF ile etkileşime girerek dentin matriksi üzerinde yeni mineral depozisyonunu sağlar (6, 8). Bu çalışmanın EDS ve KLTM bulgularına bakıldığında 90 günlük SBF inkübasyon

süresi sonrası HA içeren gruplarda mineral depozisyonlarında artış görüldü. Ancak 1 gün ve 30 günlük inkübasyon periyodları mineral birikimi için yeterli görülmedi.

Dentin dokusunda incelenen daha derin noktalara (2., 3., 4., 5. noktalar) ait verilere bakıldığında; dentin dokusunun mekanik niteliklerini tarif eden sertlik ve elastisite değerleri (E_i ve H_i) ile mineral depozisyon değerleri açısından belirgin bir yönelimden bahsetmek mümkün değildir. Hidroksiapatit doldurucu oranı, bekleme süresi ve ölçüm noktasının derinliği gibi değişkenler, bahsedilen verileri farklı şekillerde etkilemişlerdir ve bu etki bir patern oluşturmamaktadır. Aynı oranlarda doldurucu içeren bonding ajanlar kullanılarak dentin yüzeyinde belirlenen ölçüm aralıkları ile değerlendirmeler yapılmış olsa da bekleme sürelerini değerlendirmek için hazırlanan örneklerin her birinin farklı bir dişte hazırlanmış olması ve bu dişlerin ultrastrüktürel yapısındaki farklılıkların sonuçlara etki etmesine neden olmaktadır. Dolayısıyla her bir bekleme süresi için, gruplara ait farklı dentin alanlarında görülen bu farklı E_i , H_i ve mineral depozisyon değerlerinin derin dentin katmanlarında görülen dişe ait yapısal farklılıklar ile açıklanabileceği düşüncesindeyiz.

Biyoaktif bir materyal, SBF solüsyonunda inkübe edildiğinde, materyal yüzeyinde apatit tabakasının oluşumu, spontan çökeltme, çekirdeklenme ve kalsiyum fosfat birikimi gibi bir dizi kimyasal reaksiyondan geçmektedir (231). Bu sürece, yüzeyin kimyasal reaksiyonlarının büyük etkisi olduğu düşünülmektedir. Hidroksiapatit; Ca^{+2} , PO_4^{3-} ve OH^- gruplarından oluşur. PO_4^{3-} ve OH^- , hidroksiapatitin yüzeyinin negatifliğinden sorumlu iken, Ca^{+2} pozitiflikten sorumludur. Apatit oluşum süreci ise temel olarak negatif iyonlara bağlıdır. Inkübasyon periyodu sırasında SBF'nin pozitif iyonlarından olan Ca^{+2} iyonları, apatitin yüzeyinde bulunan negatif iyonlar (PO_4^{3-} ve OH^-) tarafından çekilir. Apatit doldurucunun yüzeyi göreceli olarak pozitif yüklenir ve SBF'de bulunan negatif PO_4^{3-} ve OH^- iyonlarını kendine çeker. Bu süreç, hidroksiapatit yüzeyinde apatit birikimini tetikler (221). Bu çalışmadan elde edilen KLTM sonuçlarına göre, 30 günlük bekleme süresi sonrası kontrol ve %2 HA gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ve 90 günlük bekleme süresi sonrası ise diğer tüm çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede en

fazla mineral depozisyon alanı %7 HA grubunda görüldü. Bununla beraber, her üç bekleme zamanı için ise doldurucu içeren gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede en az mineral depozisyon alanı ise kontrol grubunda gözlemlendi. Literatürdeki kalsiyum fosfat doldurucu içeren adeziv rezinlerin remineralizasyon etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar incelendiğinde; 90 günlük bekleme süresi sonrası en fazla mineral depozisyon alanının %33 oranında biyoaktif cam içeren bir gruptan elde edildiğini, kontrol grubunda ise mineral depozisyon alanı gözlenmediğini bildiren bir çalışmanın yanı sıra 6 aylık bekleme süresi sonrası KLTM bulgularında %40 oranında Ca-P içerikli doldurucu bulunduran gruplarının mineral depozisyon alanlarının kontrol grubuna göre belirgin artış gösterdiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (6, 114). Garcia ve arkadaşları ise 7 gün bekleme süresi sonrası en fazla mineral depozisyon alanının %2 trikalsiyum fosfat içeren grupta görüldüğünü bildirmişlerdir (222). Bu tez çalışmasından elde edilen konfokal lazer taramalı mikroskopi bulguları ışığında, 1 günlük bekleme süresi sonrası doldurucu içeren grupların mineral depozisyon alanlarına ait değerler arası farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmamasının, inorganik doldurucunun biyoaktivitesi için yeterli süre ile SBF’de bekletilmemesi ile alakalı olduğu söylenebilir (222). 30 ve 90 gün değerlendirmelerine bakıldığında ise kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda mineral depozisyon alanlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. Bununla birlikte, %2 ve %5 grupları arasında 30 ve 90 gün değerlendirmeleri için HA içeriğinin artmasının mineral depozisyon alanlarında ortalama değerleri artırdığı görülmekle beraber bu artışın sadece 30 gün SBF’de bekletilen örnekler için istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Bu veriler ışığında diğer parametreler ile benzer şekilde mineral depozisyon alanları arasında belirgin farklılıkların ortaya çıkması için daha uzun süreli SBF inkübasyon periyotlarına ihtiyaç olduğu söylenebilir. Bu çalışmanın sonucunda konfokal lazer taramalı mikroskopi analizi ile uzun süreli SBF inkübasyon periyodu sonrası HA içeren gruplarda dentin arayüzü boyunca mineral depozisyon alanlarının olduğu tespit edildi ve yöntem remineralizasyon etkinliği açısından görsel ve sayısal kanıt elde edilmesinde yardımcı oldu. Ayrıca bu analizden elde edilen bulgular Sauro ve arkadaşlarının bulguları ile benzer şekilde, hidroksiapatitten gerçekleşen yavaş iyon

salımına bağlı olarak SBF inkübasyon süresi arttıkça, boyunca mineral depozisyon alanlarında da artış olduğunu gösterdi (114).

Literatürdeki benzer çalışmalarda KLTM analizi ile yapılan değerlendirmelere bakıldığında tekniğın yüzeylerin görsel yönden incelenmesi, nano sızıntı, demineralizasyon-remineralizasyon çalışmalarında lezyon derinliğinin tespiti ve mineral depozisyon alanlarının tespiti vb. için kullanılan yardımcı bir yöntem olarak değerlendirildiği ve nicel verilerle kıyaslama yapılmadığı görülmektedir (6, 114). Bu tez çalışmasında ise literatürdeki çalışmalardan farklı olarak elde edilen KLTM görüntüleri, Image J programı aracılığı ile işlenerek mineral depozisyon alanları hesaplandı ve elde edilen nicel değerler üzerinden istatistiksel analizler gerçekleştirildi.

Bu tez çalışmasından elde edilen mikro gerilim bağlanma dayanımı bulgularına göre; HA doldurucu eklenmesinin dentin bağlayıcı ajanların bağlanma dayanımları üzerine etkisi yoktur sıfır hipotezi reddedildi. Çalışmanın mikro gerilim bağlanma dayanımı bulgularına bakıldığında; %7 HA grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenirken; kontrol grubu, %2 HA ve %5 HA grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Dental restorasyonların ömrü, polimer formunun kalitesi ile ilişkilidir. Adeziv rezinin hidrofilitesini azaltmak ve doldurucu kullanmak, restorasyonun ömrünü uzatması açısından önerilen uygulamalardır. Adezyon, mekanik kilitleme (interlocking), fiziksel ve kimyasal bağlanma gibi pek çok mekanizmaya bağlıdır (222). İnorganik doldurucular, polimerin degradasyonunu azaltır ve mekanik direnci artırır (32, 107). Çalışmada en düşük bağlanma dayanımı değerlerinin kontrol grubunda gözlenmesi, HA doldurucuların adeziv rezinin mekanik özelliklerine olumlu yönde katkı sağladığı görüşünü desteklemektedir.

Adeziv rezinlere eklenen doldurucuların partikül boyutu ve miktarı da adezivin başarısını etkilemektedir. Yüksek doldurucu oranı, adeziv rezinin viskozitesini artırır ve rezinin dentin tübüllerine penetrasyonunu azaltır (170). Doldurucu oranı %10'un

üzerinde olan adeziv rezinlerin bağlanma dayanımlarında belirgin düşüş olduğu ve bu düşüşün adeziv rezinin viskozitesinde oluşan artış ile alakalı olduğu çalışmalarda bildirilmektedir (108, 168, 170). Leitune ve arkadaşlarının yaptıkları ve HA doldurucu içeren dentin bağlayıcı ajanların mekanik özelliklerini ve dayanımlarını inceledikleri çalışmalarında, doldurucu oranı arttıkça bağlanma dayanımında artış olduğu, ancak doldurucu oranı %10 ve üzerinde olacak şekilde hazırlanan dentin bağlayıcı ajanlarda tersine bir etki yaratarak bağlanma değerlerinin azaldığı bildirilmiştir (168). Melo ve arkadaşları da benzer şekilde %20, %30 ve %40 oranlarında ilave ettikleri HA doldurucuların kontrol grubuna göre bağlanma dayanımlarını düşürdüklerini, bununla beraber %10 oranında ilave edilen hidroksiapatitin kontrol grubuna kıyasla bağlanma değerlerini artırdığını rapor etmişlerdir (139). Bu tez çalışmasından elde edilen bağlanma dayanımı verileri incelendiğinde de HA doldurucu içeren bağlayıcı ajanların bağlanma dayanımlarının kontrol grubuna göre daha yüksek değerler verdiği görülmektedir. En yüksek bağlanma dayanım değeri ise %7 HA grubuna aittir. Bu durumun bahsi geçen çalışmaları destekler nitelikte olduğu, ayrıca adeziv rezinin viskozitesinin olumsuz yönde etkilenmemesinin nedeninin literatürde bulunan benzer çalışmalardaki doldurucu oranları dikkate alınarak çalışma gruplarının doldurucu oranının %10'un altında tercih edilmesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmada değerlendirilen diğer doldurucu oranları olan %2 ve %5 HA grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilememiş olsa da dentin dokusuna bağlanmanın doldurucu ilavesi ile olumlu yönde etkilendiği ifade edilebilir.

Kalsiyum fosfat içerikli dolduruculardan iyon salımı yavaş gerçekleşen bir süreçtir ve materyalin remineralizasyon etkinliğinin değerlendirilebilmesi için 1-6 ay arasında süre gerekliliği çalışmalarda vurgulanmaktadır (114, 282). Dolayısıyla kalsiyum fosfat içerikli doldurucuların uzun dönem etkilerinin kıyaslandığı çalışmaların bağlanma dayanımı üzerinde farklı sonuçlar doğurabileceği bildirilmektedir (117, 234). Bekleme süresi arttıkça doldurucudan daha fazla mineral salınacağı ve rezin-dentin arayüzündeki bağlantının kalitesinin artacağı

düşünülmektedir. Doldurucu oranına göre mineral depozisyonundaki farklılıkların uzun dönemde bağlanma dayanımı üzerine de olumlu sonuçlar doğuracağı bildirilmiştir (108, 117). Bu tez çalışmasında %2 HA ve %5 HA gruplarının mikro gerilim bağlanma dayanımları arasında belirgin farklılıkların görülmemesinin, çalışmada yalnızca immediat bağlanmanın değerlendirilmiş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde Garcia ve arkadaşları immediat bağlanmayı değerlendirdikleri çalışmalarında %2 HA doldurucu ilave edilen grup ile kontrol grubu arasında fark bulamamışlardır (222). Shinkai ve arkadaşları %5 ve %10 HA doldurucu ilavesi yapılan gruplar ile kontrol grubu arasında immediat bağlanma değerlerinde anlamlı farklılık olmadığını bildirmişlerdir (284). Leitune ve arkadaşları ise yine immediat bağlanmayı değerlendirdikleri araştırmalarında en iyi bağlanma dayanımı değerlerini %2 HA grubundan elde etmiş olmalarına rağmen, %2 ve %5 HA katkılı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır (168). Tüm bu bilgiler ışığında zaman faktörünün dâhil edileceği çalışmalara gereksinimin devam ettiği söylenebilir.

Bu tez çalışmasında hidroksiapatit doldurucunun dentin bağlayıcı ajanlarda kullanımının remineralizasyon etkinliği ve bağlanma dayanımı üzerine etkisi incelenmiş olup, çalışmanın bulgularına göre yapılan değerlendirme sonucunda, hidroksiapatit doldurucu içeren dentin bağlayıcı ajanların dentinin remineralizasyonuna yardımcı olduğu ve ayrıca adeziv rezinin immediat bağlanma dayanımı üzerinde olumsuz etki oluşturmadığı, aksine immediat bağlanma dayanımı artırdığı gösterilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın sınırları dâhilinden elde edilen bulgulara göre;

- Hidroksiapatit doldurucuların adeziv rezinlerin remineralizasyon etkinliği üzerine olumlu etki oluşturduğu görüldü.
- Doldurucu içeren grupların, SBF inkübasyon süresine bağlı olarak remineralizasyon etkinliğinde artış olduğu tespit edildi.
- Hidroksiapatit içeren adeziv rezinlerin remineralizasyon etkinliğini değerlendiren nano indentasyon, konfokal lazer taramalı mikroskopi ve enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi yöntemleri açısından en başarılı sonuçların %7 hidroksiapatit grubundan elde edildiği tespit edildi.
- Hidroksiapatit doldurucuların, adeziv rezinlerin immedat bağlanma dayanımı üzerine olumsuz etki oluşturmadığı ve %7 oranında hidroksiapatit içeren adeziv rezinin en başarılı bağlanma dayanımını sağladığı tespit edildi.
- Çalışmanın nano indentasyon ve konfokal lazer taramalı mikroskopi parametrelerinin sonuçları arasında uyum olduğu ve her iki yöntemin de *in vitro* koşullarda dentin dokusuna ait remineralizasyon etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalarda kullanılabileceği düşünülmektedir.
- Dentin dokusunun kompleks yapısı ve SEM-EDS analizinin teknik hassasiyet gerektirmesi, dentin dokusu kullanılarak gerçekleştirilen remineralizasyon çalışmalarında bu yöntem ile değerlendirme yapılmasının güç olduğunu düşündürmektedir.
- Hidroksiapatit doldurucu kullanımının hibrit tabakanın degradasyonunu önlemeye yönelik stratejilerden biri olarak gelecekte rezin restorasyonların yaşam sürelerinin artırılmasına yardımcı, alternatif bir yaklaşım olarak dikkate alınması gerektiği ve dentinin biyomimetik remineralizasyonunun hedeflendiği araştırmalarda alternatif bir kalsiyum fosfat kaynağı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Nayak PA, Nayak UA, Khandelwal V. The effect of xylitol on dental caries and oral flora. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2014;6:89-94.
2. Ferracane JL. Resin composite--state of the art. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2011;27(1):29-38.
3. Bar-On B, Wagner HD. Elastic modulus of hard tissues. *J Biomech*. 2012;45(4):672-8.
4. Spencer P, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marangos O, et al. Adhesive/Dentin interface: the weak link in the composite restoration. *Ann Biomed Eng*. 2010;38(6):1989-2003.
5. 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.
6. Profeta AC, Mannocci F, Foxtton R, Watson TF, Feitosa VP, De Carlo B, et al. Experimental etch-and-rinse adhesives doped with bioactive calcium silicate-based micro-fillers to generate therapeutic resin-dentin interfaces. *Dent Mater*. 2013;29(7):729-41.
7. Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C, et al. Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*. 2005;26(33):6449-59.
8. 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):216-21.
9. Javidi H, Tickle M, Aggarwal VR. Repair vs replacement of failed restorations in general dental practice: factors influencing treatment choices and outcomes. *Br Dent J*. 2015;218(1):E2.
10. Demirci M, Koray F, Turan N. Sekonder ve rezidüel çürük sıklığı. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*. 1999;33(1234):93-105.
11. Rengo C, Goracci C, Ametrano G, Chieffi N, Spagnuolo G, Rengo S, et al. Marginal Leakage of Class V Composite Restorations Assessed Using Microcomputed Tomography and Scanning Electron Microscope. *Oper Dent*. 2015.

12. Hashemi Kamangar SS, Ghavam M, Mahinfar N, Pourhashemi SJ. Effect of 38% carbamide peroxide on the microleakage of silorane-based versus methacrylate-based composite restorations. *Restor Dent Endod.* 2014;39(3):172-9.
13. Parolia A, Adhauilya N, de Moraes Porto IC, Mala K. A comparative evaluation of microleakage around class V cavities restored with different tooth colored restorative materials. *Oral Health Dent Manag.* 2014;13(1):120-6.
14. Scotti N, Comba A, Gambino A, Paolino DS, Alovise M, Pasqualini D, et al. Microleakage at enamel and dentin margins with a bulk fills flowable resin. *Eur J Dent.* 2014;8(1):1-8.
15. Cobanoglu N, Ozer F, Demirci M, Erganis O, Imazato S. Bacterial penetration of restored cavities using two self-etching bonding systems. *Eur J Dent.* 2014;8(2):166-71.
16. Dickens SH, Flaim GM. Effect of a bonding agent on in vitro biochemical activities of remineralizing resin-based calcium phosphate cements. *Dent Mater.* 2008;24(9):1273-80.
17. Kim J, Uchiyama T, Carrilho M, Agee KA, Mazzoni A, Breschi L, et al. Chlorhexidine binding to mineralized versus demineralized dentin powder. *Dent Mater.* 2010;26(8):771-8.
18. Abou Neel EA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM, et al. Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone. *Int J Nanomedicine.* 2016;11:4743-63.
19. Ramirez Rozzi F. Enamel structure and development and its application in hominid evolution and taxonomy. *J Hum Evol.* 1998;35(4-5):327-30.
20. Pashley DH. Dynamics of the pulpo-dentin complex. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1996;7(2):104-33.
21. Özçobanoğlu G, Durutürk L. Süt dişlerinde pulpa ve dentinin histolojik yapısal özellikleri. *Acta Odontol Turc.* 2013;30(2):99-109.
22. Garberoglio R, Brannstrom M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol.* 1976;21(6):355-62.
23. Pashley DH. Clinical correlations of dentin structure and function. *J Prosthet Dent.* 1991;66(6):777-81.
24. Kinney JH, Balooch M, Marshall SJ, Marshall GW, Jr., Weihs TP. Hardness and Young's modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Arch Oral Biol.* 1996;41(1):9-13.

25. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet*. 2007;369(9555):51-9.
26. Fejerskov O, Kidd E. *Dental caries: the disease and its clinical management*: John Wiley & Sons; 2009.
27. Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*. 2004;83 Spec No C:C35-8.
28. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res*. 2004;38(3):182-91.
29. Yadav K, Prakash S. Dental caries: A review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2016;6(53):01 % @ 2249-622X.
30. Manuja N, Nagpal R, Pandit IK. Dental Adhesion. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2012;36(3):223-34.
31. Van Meerbeek B, Van Landuyt K, Munck JD, Yoshida Y, Perdigao J, Lambrechts P, et al. Bonding to Enamel and Dentin. In: Summitt JB, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS, editors. *Fundamentals of Operative Dentistry A Contemporary Approach*. 3 ed. Illinois: Quintessence Publishing Co.; 2006. p. 183-260.
32. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007;28(26):3757-85.
33. Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *Journal of dental research*. 1979;58(4):1364-70.
34. Anusavice KJ, Phillips RW, Shen C, Rawls HR. *Phillips' Science of Dental Materials*: Elsevier/Saunders; 2013.
35. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent*. 1997;25(5):355-72.
36. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003;28(3):215-35.
37. Alex G. Universal adhesives: the next evolution in adhesive dentistry? *Compend Contin Educ Dent*. 2015;36(1):15-26; quiz 8, 40.

38. Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, et al. Bonding effectiveness of a new 'multi-mode' adhesive to enamel and dentine. *Journal of Dentistry*. 2012;40(6):475-84.
39. Łukomska-Szymańska M, Sokołowski J, Łapińska B. Degradation of a hybrid layer--review of literature.
40. Frassetto A, Breschi L, Turco G, Marchesi G, Di Lenarda R, Tay FR, et al. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability--A literature review. *Dent Mater*. 2016;32(2):e41-53.
41. Hashimoto M. A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010;92(1):268-80.
42. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res*. 2002;62(3):447-56.
43. Ye Q, Park J, Topp E, Spencer P. Effect of photoinitiators on the in vitro performance of a dentin adhesive exposed to simulated oral environment. *Dent Mater*. 2009;25(4):452-8.
44. 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.
45. Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Oper Dent*. 1994;19(2):59-64.
46. 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. *Operative dentistry*. 1995;20(4):160-7.
47. Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM, Rueggeberg FA, Agee KA, Carrilho M, et al. From dry bonding to water-wet bonding to ethanol-wet bonding. A review of the interactions between dentin matrix and solvated resins using a macromodel of the hybrid layer. *Am J Dent*. 2007;20(1):7-20.
48. Pioch T, Kobaslija S, Huseinbegovic A, Muller K, Dorfer CE. The effect of NaOCl dentin treatment on nanoleakage formation. *J Biomed Mater Res*. 2001;56(4):578-83.
49. Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*. 2002;81(7):472-6.

50. Tay FR, King NM, Chan KM, Pashley DH. How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? *J Adhes Dent.* 2002;4(4):255-69.
51. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003;92(8):827-39.
52. Mazzoni A, Tjaderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *J Dent Res.* 2015;94(2):241-51.
53. Palosaari H, Pennington CJ, Larmas M, Edwards DR, Tjaderhane L, Salo T. Expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in mature human odontoblasts and pulp tissue. *Eur J Oral Sci.* 2003;111(2):117-27.
54. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjaderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res.* 2002;81(9):603-7.
55. Chaussain C, Boukpepsi T, Khaddam M, Tjaderhane L, George A, Menashi S. Dentin matrix degradation by host matrix metalloproteinases: inhibition and clinical perspectives toward regeneration. *Front Physiol.* 2013;4:308.
56. Obermajer N, Jevnikar Z, Doljak B, Kos J. Role of cysteine cathepsins in matrix degradation and cell signalling. *Connect Tissue Res.* 2008;49(3):193-6.
57. Dickinson DP. Cysteine peptidases of mammals: their biological roles and potential effects in the oral cavity and other tissues in health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(3):238-75.
58. 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):953-68.
59. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjaderhane L, et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials.* 2006;27(25):4470-6.
60. Mazzoni A, Scaffa P, Carrilho M, Tjaderhane L, Di Lenarda R, Polimeni A, et al. Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin MMP-2 and MMP-9. *J Dent Res.* 2013;92(1):82-6.

61. Pereira JR, Junior LC, So MV, Junior NF. Effect of thermocycling and varying polymerization techniques on the restorative interface of class V cavities restored with different composite resin systems. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(3):e405-e9.
62. Zanatta RF, Lungova M, Borges AB, Torres C, Sydow HG, Wiegand A. Microleakage and Shear Bond Strength of Composite Restorations Under Cycling Conditions. *Oper Dent*. 2017;42(2):E71-E80.
63. Abdelmegid FY, Salama FS, Al-Mutairi WM, Al-Mutairi SK, Baghazal SO. Effect of different intermediary bases on microleakage of a restorative material in Class II box cavities of primary teeth. *Int J Artif Organs*. 2017;40(2):82-7.
64. Loguercio AD, Moura SK, Pellizzaro A, Dal-Bianco K, Patzlaff RT, Grande RH, et al. Durability of enamel bonding using two-step self-etch systems on ground and unground enamel. *Oper Dent*. 2008;33(1):79-88.
65. Amaral FL, Colucci V, Palma-Dibb RG, Corona SA. Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review. *J Esthet Restor Dent*. 2007;19(6):340-53; discussion 54.
66. Cadenaro M, Antonioli F, Codan B, Agee K, Tay FR, Dorigo Ede S, et al. Influence of different initiators on the degree of conversion of experimental adhesive blends in relation to their hydrophilicity and solvent content. *Dent Mater*. 2010;26(4):288-94.
67. Ikemura K, Ichizawa K, Fuchigami K, Ito S, Endo T. Design of a new dental adhesive--effect of a water-soluble sodium acylphosphine oxide with crown ether on adhesion to dental hard tissues. *Dent Mater J*. 2009;28(3):267-76.
68. Hayakawa T, Kikutake-Sugiyama K, Nemoto K. Efficacy of water-soluble photoinitiator on the adhesion of composite resin to bovine teeth in all-in-one bonding system. *Dent Mater J*. 2005;24(2):213-8.
69. Park J, Ye Q, Topp EM, Misra A, Kieweg SL, Spencer P. Effect of photoinitiator system and water content on dynamic mechanical properties of a light-cured bisGMA/HEMA dental resin. *J Biomed Mater Res A*. 2010;93(4):1245-51.
70. 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):163-76.
71. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res*. 2007;86(1):90-4.

72. Brackett MG, Tay FR, Brackett WW, Dib A, Dipp FA, Mai S, et al. In vivo chlorhexidine stabilization of hybrid layers of an acetone-based dentin adhesive. *Oper Dent*. 2009;34(4):379-83.
73. Ricci HA, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci*. 2010;118(4):411-6.
74. Rosa WL, Piva E, Silva AF. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2015;43(7):765-76.
75. 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):4136-42.
76. Imazato S, Tay FR, Kaneshiro AV, Takahashi Y, Ebisu S. An in vivo evaluation of bonding ability of comprehensive antibacterial adhesive system incorporating MDPB. *Dent Mater*. 2007;23(2):170-6.
77. Bedran-Russo AK, Vidal CM, Dos Santos PH, Castellan CS. Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010;94(1):250-5.
78. Macedo GV, Yamauchi M, Bedran-Russo AK. Effects of chemical cross-linkers on caries-affected dentin bonding. *J Dent Res*. 2009;88(12):1096-100.
79. Kuboki Y, Mechanic GL. Comparative molecular distribution of cross-link in bone and dentin collagen. Structure-function relationships. *Calcif Tissue Int*. 1982;34(3):306-8.
80. Hosaka K, Nishitani Y, Tagami J, Yoshiyama M, Brackett WW, Agee KA, et al. Durability of resin-dentin bonds to water- vs. ethanol-saturated dentin. *J Dent Res*. 2009;88(2):146-51.
81. Sadek FT, Braga RR, Muench A, Liu Y, Pashley DH, Tay FR. Ethanol wet-bonding challenges current anti-degradation strategy. *J Dent Res*. 2010;89(12):1499-504.
82. Sauro S, Toledano M, Aguilera FS, Mannocci F, Pashley DH, Tay FR, et al. Resin-dentin bonds to EDTA-treated vs. acid-etched dentin using ethanol wet-bonding. *Dent Mater*. 2010;26(4):368-79.
83. Sadek FT, Pashley DH, Ferrari M, Tay FR. Tubular occlusion optimizes bonding of hydrophobic resins to dentin. *J Dent Res*. 2007;86(6):524-8.

84. Sauro S, Watson TF, Mannocci F, Tay FR, Pashley DH. Prevention of water contamination of ethanol-saturated dentin and hydrophobic hybrid layers. *J Adhes Dent.* 2009;11(4):271-8.
85. Osorio E, Toledano M, Aguilera FS, Tay FR, Osorio R. Ethanol wet-bonding technique sensitivity assessed by AFM. *J Dent Res.* 2010;89(11):1264-9.
86. 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):160-6.
87. Sauro S, Watson TF, Mannocci F, Miyake K, Huffman BP, Tay FR, et al. Two-photon laser confocal microscopy of microporosity of resin-dentin bonds made with water or ethanol wet bonding. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009;90(1):327-37.
88. Malacarne-Zanon J, Pashley DH, Agee KA, Foulger S, Alves MC, Breschi L, et al. Effects of ethanol addition on the water sorption/solubility and percent conversion of comonomers in model dental adhesives. *Dent Mater.* 2009;25(10):1275-84.
89. Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjaderhane L, et al. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dent Mater.* 2018;34(1):78-96.
90. Mai S, Wei CC, Gu LS, Tian FC, Arola DD, Chen JH, et al. Extrafibrillar collagen demineralization-based chelate-and-rinse technique bridges the gap between wet and dry dentin bonding. *Acta Biomater.* 2017;57:435-48.
91. Liu Y, Mai S, Li N, Yiu CK, Mao J, Pashley DH, et al. Differences between top-down and bottom-up approaches in mineralizing thick, partially demineralized collagen scaffolds. *Acta Biomater.* 2011;7(4):1742-51.
92. Klont B, ten Cate JM. Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: the role of the collagenous matrix. *Caries Res.* 1991;25(1):39-45.
93. Koutsoukos PG, Nancollas GH. Crystal growth of calcium phosphates - epitaxial considerations. *Journal of Crystal Growth.* 1981;53(1):10-9.
94. Zhang S. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. *Nat Biotechnol.* 2003;21(10):1171-8.
95. Wong TS, Brough B, Ho CM. Creation of functional micro/nano systems through top-down and bottom-up approaches. *Mol Cell Biomech.* 2009;6(1):1-55.

96. Niederberger M, Colfen H. Oriented attachment and mesocrystals: non-classical crystallization mechanisms based on nanoparticle assembly. *Phys Chem Chem Phys*. 2006;8(28):3271-87.
97. Takeuchi T, Hishiya T. Molecular imprinting of proteins emerging as a tool for protein recognition. *Org Biomol Chem*. 2008;6(14):2459-67.
98. van Dijken JW, Sunnegardh-Gronberg K, Lindberg A. Clinical long-term retention of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems in non-carious cervical lesions. A 13 years evaluation. *Dent Mater*. 2007;23(9):1101-7.
99. Tay FR, Pashley DH. Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine. *Biomaterials*. 2008;29(8):1127-37.
100. George A, Veis A. Phosphorylated proteins and control over apatite nucleation, crystal growth, and inhibition. *Chem Rev*. 2008;108(11):4670-93.
101. Weir MD, Ruan J, Zhang N, Chow LC, Zhang K, Chang X, et al. Effect of calcium phosphate nanocomposite on in vitro remineralization of human dentin lesions. *Dent Mater*. 2017;33(9):1033-44.
102. Cao CY, Mei ML, Li Q-L, Lo ECM, Chu CH. Methods for biomimetic remineralization of human dentine: a systematic review. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(3):4615-27.
103. Profeta AC. Dentine bonding agents comprising calcium-silicates to support proactive dental care: Origins, development and future. *Dent Mater J*. 2014;33(4):443-52.
104. Piskounova S, Forsgren J, Brohede U, Engqvist H, Stromme M. In vitro characterization of bioactive titanium dioxide/hydroxyapatite surfaces functionalized with BMP-2. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009;91(2):780-7.
105. Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, Prati C. Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. *Int Endod J*. 2010;43(10):917-29.
106. Profeta AC. Preparation and properties of calcium-silicate filled resins for dental restoration. Part I: chemical-physical characterization and apatite-forming ability. *Acta Odontol Scand*. 2014;72(8):597-606.
107. Kim JS, Cho BH, Lee IB, Um CM, Lim BS, Oh MH, et al. Effect of the hydrophilic nanofiller loading on the mechanical properties and the microtensile bond strength of an ethanol-based one-bottle dentin adhesive. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;72(2):284-91.

108. Sadat-Shojai M, Atai M, Nodehi A, Khanlar LN. Hydroxyapatite nanorods as novel fillers for improving the properties of dental adhesives: Synthesis and application. *Dent Mater.* 2010;26(5):471-82.
109. Atai M, Solhi L, Nodehi A, Mirabedini SM, Kasraei S, Akbari K, et al. PMMA-grafted nanoclay as novel filler for dental adhesives. *Dent Mater.* 2009;25(3):339-47.
110. Mitra SB, Wu D, Holmes BN. An application of nanotechnology in advanced dental materials. *J Am Dent Assoc.* 2003;134(10):1382-90.
111. Besinis A, van Noort R, Martin N. Remineralization potential of fully demineralized dentin infiltrated with silica and hydroxyapatite nanoparticles. *Dent Mater.* 2014;30(3):249-62.
112. Akhavan A, Sodagar A, Mojtahedzadeh F, Sodagar K. Investigating the effect of incorporating nanosilver/nanohydroxyapatite particles on the shear bond strength of orthodontic adhesives. *Acta Odontol Scand.* 2013;71(5):1038-42.
113. Cheng L, Weir MD, Zhang K, Arola DD, Zhou X, Xu HH. Dental primer and adhesive containing a new antibacterial quaternary ammonium monomer dimethylaminododecyl methacrylate. *J Dent.* 2013;41(4):345-55.
114. Sauro S, Osorio R, Watson TF, Toledano M. Therapeutic effects of novel resin bonding systems containing bioactive glasses on mineral-depleted areas within the bonded-dentine interface. *J Mater Sci Mater Med.* 2012;23(6):1521-32.
115. Imazato S, Kuramoto A, Kaneko T, Ebisu S, Russell RR. Comparison of antibacterial activity of simplified adhesive systems. *Am J Dent.* 2002;15(6):356-60.
116. Zhang N, Ma J, Melo MA, Weir MD, Bai Y, Xu HH. Protein-repellent and antibacterial dental composite to inhibit biofilms and caries. *J Dent.* 2015;43(2):225-34.
117. Chen C, Weir MD, Cheng L, Lin NJ, Lin-Gibson S, Chow LC, et al. Antibacterial activity and ion release of bonding agent containing amorphous calcium phosphate nanoparticles. *Dent Mater.* 2014;30(8):891-901.
118. Hench LL, Paschall HA. Histochemical responses at a biomaterial's interface. *Journal of Biomedical Materials Research.* 1974;8(3):49-64.
119. Hench LL, Andersson O. Bioactive glasses. In: Hench LL, Wilson J, editors. *An Introduction to Bioceramics.* 1: World Scientific publishing Co. Pte. Ltd.; 1993. p. 41-62.
120. Andersson OH, Kangasniemi I. Calcium phosphate formation at the surface of bioactive glass in vitro. *J Biomed Mater Res.* 1991;25(8):1019-30.

121. Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, Greenlee TK. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1971;5(6):117-41.
122. Gatti AM, Valdre G, Andersson OH. Analysis of the in vivo reactions of a bioactive glass in soft and hard tissue. *Biomaterials*. 1994;15(3):208-12.
123. Mistry S, Kundu D, Datta S, Basu D. Effects of bioactive glass, hydroxyapatite and bioactive glass - Hydroxyapatite composite graft particles in the treatment of infrabony defects. *J Indian Soc Periodontol*. 2012;16(2):241-6.
124. Heikkilä JT, Aho HJ, Yli-Urpo A, Happonen R-P, Aho AJ. Bone formation in rabbit cancellous bone defects filled with bioactive glass granules. *Acta orthopaedica Scandinavica*. 1995;66(5):463-7.
125. Rawlings RD. Bioactive glasses and glass-ceramics. *Clinical Materials*. 1993;14(2):155-79.
126. Curtis AR, West NX, Su B. Synthesis of nanobioglass and formation of apatite rods to occlude exposed dentine tubules and eliminate hypersensitivity. *Acta Biomater*. 2010;6(9):3740-6.
127. Oonishi H, Kushitani S, Yasukawa E, Iwaki H, Hench LL, Wilson J, et al. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. *Clin Orthop Relat Res*. 1997(334):316-25.
128. Marshall GW, Jr., Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent*. 1997;25(6):441-58.
129. Sepulveda P, Jones JR, Hench LL. In vitro dissolution of melt-derived 45S5 and sol-gel derived 58S bioactive glasses. *J Biomed Mater Res*. 2002;61(2):301-11.
130. Vollenweider M, Brunner TJ, Knecht S, Grass RN, Zehnder M, Imfeld T, et al. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater*. 2007;3(6):936-43.
131. Efflandt SE, Magne P, Douglas WH, Francis LF. Interaction between bioactive glasses and human dentin. *J Mater Sci Mater Med*. 2002;13(6):557-65.
132. Aoba T, Moreno EC, Shimoda S. Competitive adsorption of magnesium and calcium ions onto synthetic and biological apatites. *Calcif Tissue Int*. 1992;51(2):143-50.
133. Yoshiyama M, Sano H, Ebisu S, Tagami J, Ciucchi B, Carvalho RM, et al. Regional strengths of bonding agents to cervical sclerotic root dentin. *J Dent Res*. 1996;75(6):1404-13.

134. Zehnder M, Soderling E, Salonen J, Waltimo T. Preliminary evaluation of bioactive glass S53P4 as an endodontic medication in vitro. *J Endod.* 2004;30(4):220-4.
135. Huan Z, Chang J, Huang XH. Self-setting properties and in vitro bioactivity of Ca₂SiO₄/CaSO₄.1/2H₂O composite bone cement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008;87(2):387-94.
136. Coleman NJ, Awosanya K, Nicholson JW. Aspects of the in vitro bioactivity of hydraulic calcium (alumino)silicate cement. *J Biomed Mater Res A.* 2009;90(1):166-74.
137. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part III: Clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J Endod.* 2010;36(3):400-13.
138. Ryou H, Niu LN, Dai L, Pucci CR, Arola DD, Pashley DH, et al. Effect of biomimetic remineralization on the dynamic nanomechanical properties of dentin hybrid layers. *J Dent Res.* 2011;90(9):1122-8.
139. Melo MA, Cheng L, Zhang K, Weir MD, Rodrigues LK, Xu HH. Novel dental adhesives containing nanoparticles of silver and amorphous calcium phosphate. *Dent Mater.* 2013;29(2):199-210.
140. Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED, Eichmiller FC, Schumacher GE. Physicochemical evaluation of bioactive polymeric composites based on hybrid amorphous calcium phosphates. *J Biomed Mater Res.* 2000;53(4):381-91.
141. Xu HH, Sun L, Weir MD, Antonucci JM, Takagi S, Chow LC, et al. Nano DCPA-whisker composites with high strength and Ca and PO(4) release. *J Dent Res.* 2006;85(8):722-7.
142. Langhorst SE, O'Donnell JN, Skrtic D. In vitro remineralization of enamel by polymeric amorphous calcium phosphate composite: quantitative microradiographic study. *Dent Mater.* 2009;25(7):884-91.
143. Xu HH, Weir MD, Sun L, Moreau JL, Takagi S, Chow LC, et al. Strong nanocomposites with Ca, PO(4), and F release for caries inhibition. *J Dent Res.* 2010;89(1):19-28.
144. Xu HH, Moreau JL, Sun L, Chow LC. Nanocomposite containing amorphous calcium phosphate nanoparticles for caries inhibition. *Dent Mater.* 2011;27(8):762-9.
145. Zhang L, Weir MD, Hack G, Fouad AF, Xu HH. Rechargeable dental adhesive with calcium phosphate nanoparticles for long-term ion release. *J Dent.* 2015;43(12):1587-95.

146. Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, Kitsugi T, Yamamuro T. Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W. *J Biomed Mater Res.* 1990;24(6):721-34.
147. Lalan S, Pomerantseva I, Vacanti JP. Tissue engineering and its potential impact on surgery. *World J Surg.* 2001;25(11):1458-66.
148. Geesink RG, de Groot K, Klein CP. Bonding of bone to apatite-coated implants. *J Bone Joint Surg Br.* 1988;70(1):17-22.
149. Pepla E, Besharat LK, Palaia G, Tenore G, Migliau G. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. *Ann Stomatol (Roma).* 2014;5(3):108-14.
150. Swarup JS, Rao A. Enamel surface remineralization: Using synthetic nanohydroxyapatite. *Contemp Clin Dent.* 2012;3(4):433-6.
151. Liu F, Wang R, Cheng Y, Jiang X, Zhang Q, Zhu M. Polymer grafted hydroxyapatite whisker as a filler for dental composite resin with enhanced physical and mechanical properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2013;33(8):4994-5000.
152. Tang B, Yuan H, Cheng L, Zhou X, Huang X, Li J. Effects of gallic acid on the morphology and growth of hydroxyapatite crystals. *Arch Oral Biol.* 2015;60(1):167-73.
153. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *Journal of Dentistry.* 2011;39(6):430-7.
154. Ebadifar A, Nomani M, Fatemi SA. Effect of nano-hydroxyapatite toothpaste on microhardness of artificial carious lesions created on extracted teeth. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2017;11(1):14-7.
155. Kulal R, Jayanti I, Sambashivaiah S, Bilchodmath S. An In-vitro Comparison of Nano Hydroxyapatite, Novamin and Proargin Desensitizing Toothpastes - A SEM Study. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(10):ZC51-ZC4.
156. Najibfard K, Ramalingam K, Chedjieu I, Amaechi BT. Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *J Clin Dent.* 2011;22(5):139-43.
157. Haghgoo R, Rezvani MB, Salehi Zeinabadi M. Comparison of nano-hydroxyapatite and sodium fluoride mouthrinse for remineralization of incipient carious lesions. *J Dent (Tehran).* 2014;11(4):406-10.

158. Min JH, Kwon HK, Kim BI. The addition of nano-sized hydroxyapatite to a sports drink to inhibit dental erosion: in vitro study using bovine enamel. *J Dent.* 2011;39(9):629-35.
159. Moshaverinia A, Ansari S, Moshaverinia M, Roohpour N, Darr JA, Rehman I. Effects of incorporation of hydroxyapatite and fluoroapatite nanobioceramics into conventional glass ionomer cements (GIC). *Acta Biomater.* 2008;4(2):432-40.
160. Alatawi RAS, Elsayed NH, Mohamed WS. Influence of hydroxyapatite nanoparticles on the properties of glass ionomer cement. *Journal of Materials Research and Technology.* 2018.
161. Arita K, Yamamoto A, Shinonaga Y, Harada K, Abe Y, Nakagawa K, et al. Hydroxyapatite particle characteristics influence the enhancement of the mechanical and chemical properties of conventional restorative glass ionomer cement. *Dent Mater J.* 2011;30(5):672-83.
162. Liu F, Sun B, Jiang X, Aldeyab SS, Zhang Q, Zhu M. Mechanical properties of dental resin/composite containing urchin-like hydroxyapatite. *Dent Mater.* 2014;30(12):1358-68.
163. Santos C, Luklinska ZB, Clarke RL, Davy KW. Hydroxyapatite as a filler for dental composite materials: mechanical properties and in vitro bioactivity of composites. *J Mater Sci Mater Med.* 2001;12(7):565-73.
164. Tarle Z. Bioaktivni dentalni kompozitni materijali. *Rad Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti: Medicinske znanosti.* 2018(533= 45):83-99.
165. Collares FM, Leitune VC, Rostirolla FV, Trommer RM, Bergmann CP, Samuel SM. Nanostructured hydroxyapatite as filler for methacrylate-based root canal sealers. *Int Endod J.* 2012;45(1):63-7.
166. Labella R, Braden M, Deb S. Novel hydroxyapatite-based dental composites. *Biomaterials.* 1994;15(15):1197-200.
167. Kalachandra S. Influence of fillers on the water sorption of composites. *Dent Mater.* 1989;5(4):283-8.
168. Leitune VC, Collares FM, Trommer RM, Andrioli DG, Bergmann CP, Samuel SM. The addition of nanostructured hydroxyapatite to an experimental adhesive resin. *J Dent.* 2013;41(4):321-7.
169. 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):388-92.

170. Wagner A, Belli R, Stotzel C, Hilpert A, Muller FA, Lohbauer U. Biomimetically- and hydrothermally-grown HAp nanoparticles as reinforcing fillers for dental adhesives. *J Adhes Dent*. 2013;15(5):413-22.
171. Sadat-Shojai M. Preparation of Hydroxyapatite Nanoparticles: Comparison between Hydrothermal and Solvo-Treatment Processes and Colloidal Stability of Produced Nanoparticles in a Dilute Experimental Dental Adhesive. *Journal of the Iranian Chemical Society*. 2009;6(2).
172. Meredith N, Sherriff M, Setchell DJ, Swanson SA. Measurement of the microhardness and Young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. *Arch Oral Biol*. 1996;41(6):539-45.
173. White DJ, Faller RV, Bowman WD. Demineralization and remineralization evaluation techniques--added considerations. *J Dent Res*. 1992;71 Spec No:929-33.
174. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res*. 1992;71 Spec No:924-8.
175. Pharr GM, Bolshakov A. Understanding nanoindentation unloading curves. *Journal of Materials Research*. 2011;17(10):2660-71.
176. Oliver WC, Pharr GM. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research*. 2011;7(6):1564-83.
177. Cuy JL, Mann AB, Livi KJ, Teaford MF, Weihs TP. Nanoindentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. *Arch Oral Biol*. 2002;47(4):281-91.
178. Ling L, Xu X, Choi GY, Billodeaux D, Guo G, Diwan RM. Novel F-releasing composite with improved mechanical properties. *J Dent Res*. 2009;88(1):83-8.
179. Lohbauer U. Dental Glass Ionomer Cements as Permanent Filling Materials? – Properties, Limitations and Future Trends. *Materials*. 2010;3(1):76.
180. Silva RC, Zuanon ACC, Esberard RR, Candido MSM, Machado JS. In vitro microhardness of glass ionomer cements. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2007;18(1):139-42.
181. Fung DC, Theriot JA. Imaging techniques in microbiology. *Current Opinion in Microbiology*. 1998;1(3):346-51.
182. Gonzalez-Cabezas C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, et al. Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. A correlational study. *Caries Res*. 1998;32(5):385-92.

183. Kara Tuncer A, Tuncer S. Effect of different final irrigation solutions on dentinal tubule penetration depth and percentage of root canal sealer. *J Endod.* 2012;38(6):860-3.
184. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Bernardineli N, Graeff MS, Garcia RB, de Moraes IG, et al. A preliminary study of the percentage of sealer penetration in roots obturated with the Thermafil and RealSeal-1 obturation techniques in mesial root canals of mandibular molars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(6):961-8.
185. Bolles JA, He J, Svoboda KK, Schneiderman E, Glickman GN. Comparison of Vibringe, EndoActivator, and needle irrigation on sealer penetration in extracted human teeth. *J Endod.* 2013;39(5):708-11.
186. Rosaline H, Kandaswamy D, Gogulnath D, Rubin M. Influence of various herbal irrigants as a final rinse on the adherence of *Enterococcus faecalis* by fluorescence confocal laser scanning microscope. *J Conserv Dent.* 2013;16(4):352-5.
187. Savas S, Kucukyilmaz E, Celik EU. Effects of Remineralization Agents on Artificial Carious Lesions. *Pediatr Dent.* 2016;38(7):511-8.
188. Lin HP, Lin J, Li J, Xu JH, Mehl C. In vitro remineralization of hybrid layers using biomimetic analogs. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2016;17(11):864-73.
189. Akcay M, Arslan H, Mese M, Durmus N, Capar ID. Effect of photon-initiated photoacoustic streaming, passive ultrasonic, and sonic irrigation techniques on dentinal tubule penetration of irrigation solution: a confocal microscopic study. *Clin Oral Investig.* 2016.
190. Zhou W, Apkarian R, Wang ZL, Joy D. Fundamentals of Scanning Electron Microscopy (SEM). In: Zhou W, Wang ZL, editors. *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications.* New York, NY: Springer New York; 2007. p. 1-40.
191. Aharinejad SH, Lametschwandtner A. Fundamentals of Scanning Electron Microscopy. *Microvascular Corrosion Casting in Scanning Electron Microscopy: Techniques and Applications.* Vienna: Springer Vienna; 1992. p. 44-51.
192. Rochow TG, Rochow EG. *Scanning Electron Microscopy. An Introduction to Microscopy by Means of Light, Electrons, X-Rays, or Ultrasound.* Boston, MA: Springer US; 1978. p. 273-98.
193. Williams DB, Carter CB. *The Transmission Electron Microscope. Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science.* Boston, MA: Springer US; 2009. p. 3-22.

194. Kanemura N, Sano H, Tagami J. Tensile bond strength to and SEM evaluation of ground and intact enamel surfaces. *Journal of Dentistry*. 1999;27(7):523-30.
195. De Craene GP, Martens C, Dermaut R. The invasive pit-and-fissure sealing technique in pediatric dentistry: an SEM study of a preventive restoration. *ASDC journal of dentistry for children*. 1988;55(1):34-42.
196. Perdigão J, Lopes L, Lambrechts P, Leitão J, Van Meerbeek B, Vanherle G. Effects of a self-etching primer on enamel shear bond strengths and SEM morphology. *American journal of dentistry*. 1997;10(3):141-6.
197. Hülsmann M, Rummelin C, Schäfers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: A comparative SEM investigation. *Journal of Endodontics*. 1997;23(5):301-6.
198. Alapati SB, Brantley WA, Svec TA, Powers JM, Nusstein JM, Daehn GS. SEM Observations of Nickel-Titanium Rotary Endodontic Instruments that Fractured During Clinical Use. *Journal of Endodontics*. 2005;31(1):40-3.
199. Luo XP, Silikas N, Allaf M, Wilson NHF, Watts DC. AFM and SEM study of the effects of etching on IPS-Empress 2TM dental ceramic. *Surface Science*. 2001;491(3):388-94.
200. Patierno JM, Rueggeberg FA, Anderson RW, Weller RN, Pashley DH. Push-out strength and SEM evaluation of resin composite bonded to internal cervical dentin. *Dental Traumatology*. 1996;12(5):227-36.
201. Breschi L, Gobbi P, Mazzotti G, Ellis TH, Sacher E, Stangel I. Field emission in-lens SEM study of enamel and dentin. *J Biomed Mater Res*. 1999;46(3):315-23.
202. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res*. 2011;45 Suppl 1:13-23.
203. Keleş A, Alçin H. Mikro Bilgisayarlı Tomografi ve Endodontik Araştırmalardaki Yeri. *Türkiye Klinikleri J Endod-Special Topics*. 2015;1(3):32-9.
204. Huang TT, Jones AS, He LH, Darendeliler MA, Swain MV. Characterisation of enamel white spot lesions using X-ray micro-tomography. *J Dent*. 2007;35(9):737-43.
205. Profeta AC. Preparation and properties of calcium-silicate filled resins for dental restoration. Part II: Micro-mechanical behaviour to primed mineral-depleted dentine. *Acta Odontol Scand*. 2014;72(8):607-17.

206. Burke FJ, Hussain A, Nolan L, Fleming GJ. Methods used in dentine bonding tests: an analysis of 102 investigations on bond strength. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. 2008;16(4):158-65.
207. Abreu A, Loza MA, Elias A, Mukhopadhyay S, Looney S, Rueggeberg FA. Tensile bond strength of an adhesive resin cement to different alloys having various surface treatments. *J Prosthet Dent*. 2009;101(2):107-18.
208. Goracci C, Tavares AU, Fabianelli A, Monticelli F, Raffaelli O, Cardoso PC, et al. The adhesion between fiber posts and root canal walls: comparison between microtensile and push-out bond strength measurements. *Eur J Oral Sci*. 2004;112(4):353-61.
209. Sano H, Ciucchi B, Matthews WG, Pashley DH. Tensile properties of mineralized and demineralized human and bovine dentin. *J Dent Res*. 1994;73(6):1205-11.
210. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater*. 1995;11(2):117-25.
211. Kokubo T, Ito S, Huang ZT, Hayashi T, Sakka S, Kitsugi T, et al. Ca,P-rich layer formed on high-strength bioactive glass-ceramic A-W. *J Biomed Mater Res*. 1990;24(3):331-43.
212. White DJ. The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Adv Dent Res*. 1995;9(3):175-93; discussion 94-7.
213. Tersariol IL, Geraldeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Paakkonen V, Martins MT, et al. Cysteine cathepsins in human dentin-pulp complex. *J Endod*. 2010;36(3):475-81.
214. Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, et al. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater*. 2013;29(1):116-35.
215. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 2005;84(2):118-32.
216. Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater*. 2012;28(1):72-86.
217. Bertassoni LE, Orgel JP, Antipova O, Swain MV. The dentin organic matrix - limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta Biomater*. 2012;8(7):2419-33.

218. Niu LN, Zhang W, Pashley DH, Breschi L, Mao J, Chen JH, et al. Biomimetic remineralization of dentin. *Dent Mater.* 2014;30(1):77-96.
219. Kim YK, Yiu CK, Kim JR, Gu L, Kim SK, Weller RN, et al. Failure of a glass ionomer to remineralize apatite-depleted dentin. *J Dent Res.* 2010;89(3):230-5.
220. Nancollas GH, Wu W. Biomineralization mechanisms: a kinetics and interfacial energy approach. *Journal of Crystal Growth.* 2000;211(1):137-42.
221. Chavan PN, Bahir MM, Mene RU, Mahabole MP, Khairnar RS. Study of nanobiomaterial hydroxyapatite in simulated body fluid: Formation and growth of apatite. *Materials Science and Engineering: B.* 2010;168(1):224-30.
222. Garcia IM, Leitune VCB, Samuel SMW, Collares FM. Influence of Different Calcium Phosphates on an Experimental Adhesive Resin. *J Adhes Dent.* 2017;19(5):379-84.
223. Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol.* 2000;45(5):355-61.
224. Miyazaki M, Ando S, Hinoura K, Onose H, Moore BK. Influence of filler addition to bonding agents on shear bond strength to bovine dentin. *Dent Mater.* 1995;11(4):234-8.
225. Lohbauer U, Wagner A, Belli R, Stoetzel C, Hilpert A, Kurland HD, et al. Zirconia nanoparticles prepared by laser vaporization as fillers for dental adhesives. *Acta Biomater.* 2010;6(12):4539-46.
226. Beun S, Bailly C, Dabin A, Vreven J, Devaux J, Leloup G. Rheological properties of experimental Bis-GMA/TEGDMA flowable resin composites with various macrofiller/microfiller ratio. *Dent Mater.* 2009;25(2):198-205.
227. Kokubo T, Ito S, Shigematsu M, Sakka S, Yamamuro T. Mechanical properties of a new type of apatite-containing glass-ceramic for prosthetic application. *Journal of Materials Science.* 1985;20(6):2001-4.
228. Kokubo T, Ito S, Shigematsu M, Sanka S, Yamamuro T. Fatigue and life-time of bioactive glass-ceramic A-W containing apatite and wollastonite. *Journal of Materials Science.* 1987;22(11):4067-70.
229. Kitsugi T, Yamamuro T, Nakamura T, Higashi S, Kakutani Y, Hyakuna K, et al. Bone bonding behavior of three kinds of apatite containing glass ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research.* 1986;20(9):1295-307.

230. Kitsugi T, Nakamura T, Yamamura T, Kokubu T, Shibuya T, Takagi M. SEM-EPMA observation of three types of apatite-containing glass-ceramics implanted in bone: the variance of a Ca-P-rich layer. *J Biomed Mater Res.* 1987;21(10):1255-71.
231. Jones FH. Teeth and bones: applications of surface science to dental materials and related biomaterials. *Surface Science Reports.* 2001;42(3):75-205.
232. Profeta AC, Mannocci F, Foxton RM, Thompson I, Watson TF, Sauro S. Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosilicate on the resin-dentine interface: a microtensile bond strength, scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. *Eur J Oral Sci.* 2012;120(4):353-62.
233. Wang Y, Spencer P. Continuing etching of an all-in-one adhesive in wet dentin tubules. *J Dent Res.* 2005;84(4):350-4.
234. Wang Z, Jiang T, Sauro S, Wang Y, Thompson I, Watson TF, et al. Dentine remineralization induced by two bioactive glasses developed for air abrasion purposes. *J Dent.* 2011;39(11):746-56.
235. Nunes MF, Swift EJ, Perdigao J. Effects of adhesive composition on microtensile bond strength to human dentin. *Am J Dent.* 2001;14(6):340-3.
236. Kondo Y, Takagaki T, Okuda M, Ikeda M, Kadoma Y, Yamauchi J, et al. Effect of PMMA filler particles addition on the physical properties of resin composite. *Dent Mater J.* 2010;29(5):596-601.
237. Gallo JR, Comeaux R, Haines B, Xu X, Burgess JO. Shear bond strength of four filled dentin bonding systems. *Oper Dent.* 2001;26(1):44-7.
238. Hannig M, Friedrichs C. Comparative in vivo and in vitro investigation of interfacial bond variability. *Oper Dent.* 2001;26(1):3-11.
239. Taubock TT, Zehnder M, Schweizer T, Stark WJ, Attin T, Mohn D. Functionalizing a dentin bonding resin to become bioactive. *Dent Mater.* 2014;30(8):868-75.
240. Loguercio AD, Salvalaggio D, Piva AE, Klein-Junior CA, Accorinte Mde L, Meier MM, et al. Adhesive temperature: effects on adhesive properties and resin-dentin bond strength. *Oper Dent.* 2011;36(3):293-303.
241. Ang SF, Scholz T, Klocke A, Schneider GA. Determination of the elastic/plastic transition of human enamel by nanoindentation. *Dent Mater.* 2009;25(11):1403-10.
242. Bajaj D, Arola DD. On the R-curve behavior of human tooth enamel. *Biomaterials.* 2009;30(23-24):4037-46.

243. Gallagher RR, Balooch M, Balooch G, Wilson RS, Marshall SJ, Marshall GW. Coupled Nanomechanical and Raman Microspectroscopic Investigation of Human Third Molar DEJ. *J Dent Biomech.* 2010;2010.
244. Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW, Jr., Balooch M. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometre scale. *Arch Oral Biol.* 2001;46(2):173-83.
245. Mahoney EK, Rohanizadeh R, Ismail FS, Kilpatrick NM, Swain MV. Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. *Biomaterials.* 2004;25(20):5091-100.
246. Marshall GW, Habelitz S, Gallagher R, Balooch M, Balooch G, Marshall SJ. Nanomechanical properties of hydrated carious human dentin. *J Dent Res.* 2001;80(8):1768-71.
247. Jaffer S, Oesterle LJ, Newman SM. Storage media effect on bond strength of orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009;136(1):83-6.
248. Tosun G, Sener Y, Sengun A. Effect of storage duration/solution on microshear bond strength of composite to enamel. *Dent Mater J.* 2007;26(1):116-21.
249. Retief DH, Wendt SL, Bradley EL, Denys FR. The effect of storage media and duration of storage of extracted teeth on the shear bond strength of Scotchbond 2/Silux to dentin. *Am J Dent.* 1989;2(5):269-73.
250. Aydin B, Pamir T, Baltaci A, Orman MN, Turk T. Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *Eur J Dent.* 2015;9(2):262-6.
251. Zeczkowski M, Tenuta LMA, Ambrosano GMB, Aguiar FHB, Lima D. Effect of different storage conditions on the physical properties of bleached enamel: An in vitro vs. in situ study. *J Dent.* 2015;43(9):1154-61.
252. Tosun G, Şener Y, Şengün A. Kompozit rezinin mineye bağlanma dayanımı üzerine farklı saklama solüsyonlarının etkisi. *Hacettepe Diş hek Fak Derg.* 2005;29(3):2-6.
253. Aquilino SA, Williams VD, Svare CW. The effect of storage solutions and mounting media on the bond strengths of a dentinal adhesive to dentin. *Dent Mater.* 1987;3(3):131-5.
254. Lee JJ, Nettey-Marbell A, Cook A, Jr., Pimenta LA, Leonard R, Ritter AV. Using extracted teeth for research: the effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *J Am Dent Assoc.* 2007;138(12):1599-603.

255. Reis A, Grandi V, Carlotto L, Bortoli G, Patzlaff R, Rodrigues Accorinte Mde L, et al. Effect of smear layer thickness and acidity of self-etching solutions on early and long-term bond strength to dentin. *J Dent*. 2005;33(7):549-59.
256. Rouhollahi M, Mohammadibasir M, Talim S. Comparative depth of cure among two light-cured core build-up composites by surface vickers hardness. *J Dent (Tehran)*. 2012;9(3):255-61.
257. Salvio LA, Hipolito VD, Martins AL, de Goes MF. Hybridization quality and bond strength of adhesive systems according to interaction with dentin. *Eur J Dent*. 2013;7(3):315-26.
258. Pashley D, Okabe A, Parham P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endod Dent Traumatol*. 1985;1(5):176-9.
259. Currey JD, Brear K. Hardness, Young's modulus and yield stress in mammalian mineralized tissues. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1990;1(1):14-20.
260. Savas S, Kavrik F, Kucukyilmaz E. Evaluation of the remineralization capacity of CPP-ACP containing fluoride varnish by different quantitative methods. *J Appl Oral Sci*. 2016;24(3):198-203.
261. Chuang SF, Lin SY, Wei PJ, Han CF, Lin JF, Chang HC. Characterization of the elastic and viscoelastic properties of dentin by a nanoindentation creep test. *J Biomech*. 2015;48(10):2155-61.
262. Balooch M, Wu-Magidi IC, Balazs A, Lundkvist AS, Marshall SJ, Marshall GW, et al. Viscoelastic properties of demineralized human dentin measured in water with atomic force microscope (AFM)-based indentation. *J Biomed Mater Res*. 1998;40(4):539-44.
263. Zhou SL, Zhou J, Watanabe S, Watanabe K, Wen LY, Xuan K. In vitro study of the effects of fluoride-releasing dental materials on remineralization in an enamel erosion model. *J Dent*. 2012;40(3):255-63.
264. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Use of transverse microradiography to quantify mineral loss by erosion in bovine enamel. *Caries Res*. 1998;32(5):351-6.
265. Nakata K, Nikaido T, Ikeda M, Foxton RM, Tagami J. Relationship between fluorescence loss of QLF and depth of demineralization in an enamel erosion model. *Dent Mater J*. 2009;28(5):523-9.
266. Milly H, Festy F, Andiappan M, Watson TF, Thompson I, Banerjee A. Surface pre-conditioning with bioactive glass air-abrasion can enhance enamel white spot lesion remineralization. *Dent Mater*. 2015;31(5):522-33.

267. van Gaalen SM, Kruyt MC, Geuze RE, de Bruijn JD, Alblas J, Dhert WJ. Use of fluorochrome labels in in vivo bone tissue engineering research. *Tissue Eng Part B Rev.* 2010;16(2):209-17.
268. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods.* 2012;9(7):671-5.
269. Yuan Y, Shimada Y, Ichinose S, Tagami J. Qualitative analysis of adhesive interface nanoleakage using FE-SEM/EDS. *Dent Mater.* 2007;23(5):561-9.
270. Contreras-Bulnes R, Olea-Mejía OF, Rodríguez-Vilchis LE, Scougall-Vilchis RJ, Centeno-Pedraza C. Structural changes on human dental enamel treated with Er: YAG, CO₂ lasers and remineralizing solution: EDS analysis. *Oral Health Care-Prosthodontics, Periodontology, Biology, Research and Systemic Conditions: InTech;* 2012.
271. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater.* 2010;26(2):e100-21.
272. Peumans M, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Five-year clinical effectiveness of a two-step self-etching adhesive. *J Adhes Dent.* 2007;9(1):7-10.
273. Cardoso PE, Braga RR, Carrilho MR. Evaluation of micro-tensile, shear and tensile tests determining the bond strength of three adhesive systems. *Dent Mater.* 1998;14(6):394-8.
274. Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, et al. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent.* 1999;1(4):299-309.
275. Shinkai K, Taira Y, Suzuki M, Kato C, Yamauchi J, Suzuki S, et al. Dentin bond strength of an experimental adhesive system containing calcium chloride, synthetic peptides derived from dentin matrix protein 1 (pA and pB), and hydroxyapatite for direct pulp capping and as a bonding agent. *Odontology.* 2010;98(2):110-6.
276. Dickens SH, Flaim GM, Takagi S. Mechanical properties and biochemical activity of remineralizing resin-based Ca-PO₄ cements. *Dent Mater.* 2003;19(6):558-66.
277. Bertassoni LE, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW, Jr. Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. *Caries Res.* 2009;43(1):70-7.

278. Tay FR, Pashley DH. Biomimetic remineralization of resin-bonded acid-etched dentin. *J Dent Res*. 2009;88(8):719-24.
279. Sundfeld RH, de Oliveira CH, da Silva AM, Briso AL, Sundfeld ML. Resin tag length of one-step and self-etching adhesives bonded to unground enamel. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2005;46(3):43-9.
280. Sundfeld RH, Valentino TA, de Alexandre RS, Briso AL, Sundfeld ML. Hybrid layer thickness and resin tag length of a self-etching adhesive bonded to sound dentin. *J Dent*. 2005;33(8):675-81.
281. Imazato S, Ma S, Chen J-h, Xu HH. Therapeutic polymers for dental adhesives: loading resins with bio-active components. *Dental Materials*. 2014;30(1):97-104.
282. Sauro S, Osorio R, Osorio E, Watson TF, Toledano M. Novel light-curable materials containing experimental bioactive micro-fillers remineralise mineral-depleted bonded-dentine interfaces. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2013;24(8):940-56.
283. Somasundaran P, Amankonah JO, Ananthapadmabhan KP. Mineral—solution equilibria in sparingly soluble mineral systems. *Colloids and Surfaces*. 1985;15:309-33.
284. Shinkai K, Taira Y, Suzuki M, Kato C, Ebihara T, Wakaki S, et al. Dentin bond strength of a new adhesive system containing calcium phosphate experimentally developed for direct pulp capping. *Dent Mater J*. 2009;28(6):743-9.

EKLER

EK-1



İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU
(İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi 35360 Karabağlar / İZMİR
Tel:0 232 245 04 38 --- 0 232 244 44 44 / 1234 Fax: 0 232 245 04 38 E-posta ikcetik2@gmail.com)

Yrd. Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı

Karar No: 37
Tarih : 26.03.2015

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı Hekimlerinden **Yrd. Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ** sorumluluğunda yapılması planlanan "**Nano Hidroksiapatit İçeren Bonding Ajanların Remineralizasyon Etkinliklerinin Değerlendirilmesi**" adlı araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca **bulunmadığına** toplantıya katılan Etik Kurul üyelerinin **oy birliği** ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Recep SÜTÇÜ
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

EK-2



T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 31829978-050.01.04-E.1800025787
Konu : Girişimsel Olmayan Klinik
Araştırmalar Etik Kurulu Kararı

09/04/2018

Sayın Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ

NANO HİDROKSİAPATİT DOLDURUCU İÇEREN BONDİNG AJANLARIN BAĞLANMA DAYANIMININ DEĞERLENDİRİLMESİ adlı araştırma başvuru dosyanız kurulumuzda gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiştir. İnceleme sonucunda çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde **etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına** kurulumuzun **21.03.2018 tarihli ve 141 sayılı karar numarası** ile toplantıya katılan etik kurul üyelerinin **oy birliği** ile karar verilmiştir. Bilgilerinizi rica ederim

e-İmzalıdır
Doç. Dr. Orhan GÖKALP
Etik Kurul Başkanı

Ek: kararın İngilizce hali 141

[Belge Doğrulamak İçin: http://ubs.ikc.edu.tr/CRMS/Record/ConfirmationPage/Index](http://ubs.ikc.edu.tr/CRMS/Record/ConfirmationPage/Index) adresinden E7AUPCE kodu girerek belgeyi doğrulayabilirsiniz.

Adres : İzmir Katip Celebi Üniversitesi Çiğli Ana
Yerleşkesi 35620 Çiğli/İzmir - TÜRKİYE

Bilgi İçin İrtibat : Bülent Maral - Memur

Telefon : (0 232) 3293535

Belgegeçer No : (0 232) 3860888

İnternet Adresi : www.ikc.edu.tr

e-posta : bulent.maral@ikc.edu.tr



1800025787 numaralı belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince Orhan Gökalp tarafından 09.04.2018 tarihinde güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

1/1

159

ÖZGEÇMİŞ

Adı – Soyadı: Fevzi KAVRIK

Doğum Tarihi: 24.09.1988

Doğum Yeri: Kahramanmaraş

Eğitim: 2002-2006 Kepirtepe Anadolu Öğretmen Lisesi
2006-2011 Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
2012-2018 İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği
Fakültesi Pedodonti Doktora Programı

Yazışma Adresi: İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Ana Bilim Dalı
Aydınlıkevler Mah Cemil Meriç Cad No:40 Çiğli/İzmir

Tel: 0 232 325 40 40

e-posta: fkavrik@gmail.com