

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİŞ HASTALIKLARI VE TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

DOKTORA PROGRAMI

**DENTİN HASSASİYETİ TEDAVİSİNDE KULLANILAN AJANLARIN
SİTOTOKSİSİTESİ VE REZİN-DENTİN BAĞLANMA DAYANIMINA ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Arş. Gör. Dt. Güneş BULUT EYÜBOĞLU

TRABZON-2011

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DİŞ HASTALIKLARI VE TEDAVİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI

DENTİN HASSASIYETİ TEDAVİSİNDE KULLANILAN AJANLARIN
SİTOTOKSİSİTESİ VE REZİN-DENTİN BAĞLANMA DAYANIMINA ETKİSİ

Arş. Gör. Dt. Güneş BULUT EYÜBOĞLU

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 18.11.2011

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 09.12.2011

Tezin Danışmanı : Doç. Dr. Cemal YEŞİLYURT

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mehmet YILDIZ

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yusuf Ziya BAYINDIR

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Tahsin YILDIRIM

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Tamer TAŞDEMİR

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Ahmet KALKAN

Kasım, 2011

TRABZON

İÇİNDEKİLER

İçindekiler	I
Önsöz	IV
Kısaltmalar	V
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Dentinin İnnervasyonu	5
2.2. Dentinin Geçirgenliği	5
2.3. Dentin Hassasiyeti	6
2.3.1. Dentin Hassasiyetinin Etiyolojisi	6
2.3.2. Dentin Hassasiyetinin Mekanizması	8
2.3.3. Dentin Hassasiyetinin Tedavisi	9
2.3.3.1. Dentin Hassasiyetinin Tedavisinde Kullanılan Ajanlar	11
2.4. Biyouyumluluk	25
2.4.1. In Vitro Sitotoksosite Testleri	25
3. MATERYAL VE METOD	30
3.1. Hücre Kültürü Çalışması	30
3.1.1. Doku Parçalarından Fibroblast Hücre Üretimi ve Çoğaltılması	30
3.1.2. Fibroblast Kültürlerinin 24 ve 96 Kuyucuklu Kültür Kaplarında Üretilmesi	32
3.2. Dentin Disklerinin Hazırlanması	34

3.3.	Sitotoksisitenin Belirlenmesi	35
3.3.1.	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Sitotoksisite Testi için Hazırlanması	35
3.3.2.	MTT Testi	36
3.3.3.	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Gingival Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksisitesinin Belirlenmesi	38
3.3.4.	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Farklı Kalınlıklardaki Dentin Bariyeri Kullanıldığında Pulpal Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksisitesinin Belirlenmesi	38
3.4.	Sitotoksisite Değerlerinin İstatistiksel Analizi	46
3.5.	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Rezin-Dentin Bağlanma Dayanımına Etkisinin Belirlenmesi	47
3.5.1.	Dentin Örneklerinin Hazırlanması	47
3.5.2.	Makaslama Bağlanma Dayanımı Testi	51
3.6.	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Tübül Tıkama Etkinliğinin SEM ile İncelenmesi	52
3.7.	Bağlanma Dayanımı Değerlerinin İstatistiksel Analizi	52
4.	BULGULAR	53
4.1.	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Gingival Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksisitesinin Değerlendirilmesi	53
4. 2.	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Farklı Kalınlıklardaki Dentin Bariyeri Kullanıldığında Pulpal Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksisitesinin Değerlendirilmesi	60
4.3.	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Rezin-Dentin Bağlanma Dayanımına Etkisinin Değerlendirilmesi	69
4.4.	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Tübül Tıkama Etkinliğinin SEM ile Değerlendirilmesi	70
4.4.1.	Smart Protect	71
4.4.2.	Systempt Desensitizer	72
4.4.3	Seal&Protect	73
4.4.4.	Aqua Prep F	74

4.4.5.	Isodan	75
4.4.6.	Gluma	76
4.4.7.	BisBlock	77
4.4.8.	UltraEZ	78
4.4.9.	D/Sense Crystal	79
4.4.10.	Colgate Sensitive Pro-Relief	80
4.4.11.	Topex	81
4.4.12.	Clinpro White Varnish	82
5.	TARTIŞMA	83
6.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	99
7.	ÖZET	101
8.	İNGİLİZCE ÖZET	102
9.	KAYNAKLAR	103
	ÖZGEÇMİŞ	126

ÖNSÖZ

Tüm asistanlık hayatım boyunca ve tez çalışmalarım süresince yardım ve desteğini benden esirgemeyen çok değerli tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Cemal YEŞİLYURT'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimimiz süresince yetiştirilmemize çok önemli katkıları olan hocam Sayın Doç. Dr. Tahsin YILDIRIM'a; tez çalışmam süresince biyouyumluluk deneylerinin yapımı ve yorumlanması aşamasında bana çok değerli bilgileri ile yardımcı olan hocam Sayın Prof. Dr. Murat ERTÜRK'e çok teşekkür ederim.

Doktora süresi boyunca beraber vakit geçirdiğim ve bana destek olan araştırma görevlisi arkadaşlarıma ayrıca teşekkürler.

Tüm hayatım boyunca bana her zaman destek olan sevgili aileme, tez çalışmalarım esnasında benden desteğini, sabrını ve anlayışını bir an olsun esirgemeyen eşim İlker'e sonsuz teşekkürler.

Dünyaya teşrif etmek için annesinin tezini sunmasını sabırla bekleyen biricik oğlum Ömer'e de sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Dt. Güneş BULUT EYÜBOĞLU

KISALTMALAR

Bis-GMA	Bisphenol A-Glisidil Metakrilat
°C	Santigrat Derece
CPP	Kazein Fosfopeptid
CO₂	Karbondioksit
DH	Dentin Hassasiyeti
DHGA	Dentin Hassasiyet Giderici Ajanlar
DMSO	Dimetil Sülfoksit
HEMA	Hidroksietil Metakrilat
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EMEM	Eagle's Minimum Essential Medium
FBS	Fetal Sığır Serum
FTSF	Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik
g	Gram
HKV	Hücre Kültür Vasatı
kV	Kilovolt
L	Litre
MPa	Megapascal
mm	Milimetre
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
ug	Mikrogram
µm	Mikrometre
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5-Difenil Tetrazolyum Bromid
NaF	Sodyum Fluorür
Nd:YAG	Neodimiyum:Yitriyum-Alüminyum-Garnet
Nt	Newton
nm	Nanometre
PENTA	Fosfatlanmış Akrilat Esteri
SEM	Taramalı Elektron Mikroskop
TEGDMA	Trietilen Glikol dimetakrilat
UDMA	Üretan Dimetakrilat
NTG-GMA	N- Toly Glisin Glisidil Metakrilat
PMDM	Piromellitik Asit Gliserol di Metakrilat
10-MDP	10-Methacryloyloxydecyl Dihidrojen Fosfat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dentin hassasiyeti (DH), çeşitli nedenlerle ağız ortamına açılmış dentinde kimyasal ve fiziksel etkenlerin oluşturduğu kısa süreli ve keskin ağrıdır. DH toplumda oldukça yaygın olarak görülür (%4-57) ve çok geniş bir yaş aralığını etkiler (18-70). Dentin dokusu mine veya sement ile örtülü olduğu durumlarda dış uyarlardan etkilenmez. Dentin dokusunun açığa çıkmasının en önemli nedenlerinden biri dişeti çekilmesidir. Dişeti çekilmesinden sonra açığa çıkan sement dokusu hatalı diş fırçalama, periodontal tedaviler ve/veya asidik diyetle birlikte kolayca uzaklaşabilir. Böylece dentin dokusu ağız ortamına açılarak dış uyarılara duyarlı hale gelir. DH görülen dentin yüzeylerinde gerek açık dentin tübül sayısı gerekse de dentin tübül çapı daha fazladır. Abrazyon, atrizyon, abfraksiyon ve erozyon gibi durumlarda oluşan sert doku kayıpları da dentin dokusunu açığa çıkarır.

DH'nin mekanizmasıyla ilgili farklı teoriler ortaya atılmasına rağmen 150 yıldan uzun süredir kabul gören teori "*hidrodinamik teori*"dir. Bu teoriye göre açık dentin tübüllerindeki sıvı hareketi DH'den sorumludur. Dentin yüzeyine uygulanan soğuk, sıcak, dokunsal ya da osmotik uyarılar dentin tübüllerinde sıvı hareketine neden olur. Sıvı hareketine bağlı olarak dentin ya da pulpadaki sinir uçları uyarılır ve ağrı oluşur. En sık görülen ağrı soğuk uyarılarla gerçekleşir. DH soğuk havalarda ağız solunumuyla ve klinik muayene esnasında hava uygulama ile de oluşabilir. Bunun yanında meyveler gibi asidik gıdalar, tatlılar ve nadiren tuzlu gıdaların alımı da ağrıya neden olabilir. Çünkü bu uyarılarla dentin sıvı akışı pulpadan dış yüzeye doğrudur ve oluşan ağrı daha keskindir.

DH bir uyarılarla gerçekleştiğinden uyarılar ortadan kalktığında hassasiyette kaybolur. Bu nedenle DH'nin tedavisi, sıvı hareketini durdurmaya yönelik ağrının şiddetine ve lokalizasyonuna göre yapılmaktadır. Dentin tübüllerindeki sıvı hareketini azaltmak amacıyla tübül ağızlarının tıkanması ve/veya sinir iletiminin bloke edilmesiyle ağrı oluşumunun engellenmesi hassasiyetin tedavisinde kullanılan yöntemlerdir. Bu amaçla piyasada farklı içeriklere ve farklı etki mekanizmasına sahip hassasiyet tedavisinde kullanılan ajanlar

bulunmaktadır. Bunların bazıları bireysel olarak kullanabilecek diş macunu ve gargara formunda olup bazıları ise profesyonel kullanım gerektirir. Bu ajanların içerdiği etken maddelerin hassasiyet giderici özellikleri yanında bir kısmının toksik etkileri de bulunabilmektedir. Bu ajanların dişlerin servikal bölgelerine uygulanmasından dolayı dişetiyle teması muhtemeldir. Ayrıca açık dentin tübüllerinden pulpaya ulaşıp pulpal hücreler üzerinde sitotoksik etkilere de neden olabilirler. DH'nin tedavisinde kullanılan bu materyallerin etkinliği ve etki mekanizması ile ilgili literatürde çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen biyouyumlulukları ile ilgili çalışmaların sayısı sınırlıdır. DH'nin tedavisinde kullanılan materyallerin biyouyumluluklarının bilinmesi diş ve dişeti sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Bazı durumlarda DH ile birlikte dişlerin servikal bölgesinde sert doku kayıpları da görülmektedir. Ayrıca hassasiyet giderici ajanların kullanılmasına rağmen DH tedavisi olumlu sonuç vermeyebilir. Böyle durumlarda DH tedavisi yanında servikal sert doku kayıplarının restorasyonları da gerekli olabilmektedir. Bu ajanların uygulandığı dentin yüzeyine bir adeziv restorasyon uygulaması sonrası rezin-dentin bağlanma dayanımı ile ilgili bilgiler sınırlıdır.

Bu tez çalışmasında ilk olarak DH tedavisinde kullanılan çeşitli ajanların insan gingival ve pulpal fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkisinin in vitro olarak belirlenmesi amaçlandı. İkinci olarak, ajanların uygulandığı dentin yüzeylerine bir self-etch adeziv rezinin makaslama bağlanma dayanımının belirlenmesi hedeflendi.

2. GENEL BİLGİLER

Dentinin normal yapı ve fizyolojisinin bilinmesi restoratif diş hekimliğinin anlaşılması ve uygulanmasında oldukça önemlidir. Bunun yanında çürük ve travmaya karşı doku cevabı, yaşlanmaya bağlı değişimler ve restoratif materyallerin dokulara olan etkisinin bilinmesi klinik başarıyı etkiler (1). Dentin ve pulpa embriyolojik kökenlerinin aynı olmasının yanında fizyolojik ve patolojik olaylarda sürekli etkileşim içinde olduklarından pulpa-dentin kompleksi olarak tanımlanır (2). Pulpada ve dentin tübül yapısındaki interstisyel sıvı pulpadan mine-dentin sınırına doğru devamlılık gösterir. Bu nedenle normal ve patolojik durumlardaki hidrodinamik etkiler ve tübüler sıvı hareketi pulpa-dentin kompleksini etkiler (1).

Dentin, kronal bölgede mine dokusuna renk ve elastisite sağlarken, kök dentiniyle birlikte diş dokusuna dayanıklılık ve rijidite sağlar. Kavite preparasyon derinliği ve genişliğinin artışına bağlı olarak diş dokusunun direnci önemli oranda azalır (3, 4). Dentin dokusu hacimce %45-50 oranlarında inorganik apatit kristalleri, %30 oranında organik matriks ve %25 oranında sudan oluşurken, ağırlıkça %70 inorganik materyal, %20 organik matriks ve %10 sudan oluşur (5). İnorganik dentin yapısını kalsiyum fosfat ve kalsiyum hidroksit bileşiminden oluşan hidroksiapatit kristalleri oluşturur (6). Dentinin yapısındaki inorganik apatit kristalleri yüksek oranda karbonat, düşük miktarda kalsiyum içerir (7). Mineye oranla daha az mineralizedir ve daha küçük apatit kristallerine sahiptir. Dentin dokusu kemik dokusundan biraz daha sert bir yapıdır (5). Dentinin organik yapısı ise temel olarak kollajen ve az miktarda non-kollajen proteinlerden oluşmaktadır (7, 8).

Dentin, mine-dentin sınırından pulpa-dentin sınırına doğru tüm kalınlığı boyunca uzanan 2.5-3.5 mm uzunluğundaki tübüllerden oluşur (9). Odontoblast hücresinin uzantısı ile oluşturulan dentin tübülleri pulpa odasının üzerinde birbirlerine yaklaştıkları için tübül yoğunlukları ve yönlendirmeleri bölgesel farklılıklar gösterir (7). Dentin tübül yoğunluğu pulpa-dentin birleşiminde artarken mine-dentin birleşiminde azalır (7, 10). Dentin tübüllerinin içinde kısmen uzanan odontoblastik uzantılar ve plazmaya benzer dentin sıvısı bulunur (11). Dentin tübülleri arasında kollajen matrikse gömülü hidroksiapatitten oluşan intertübüler dentin ve

dentin tübüllerinin duvarlarını oluşturan hipermineralize peritübüler dentinden meydana gelir (5). İntertübüler dentin peritübüler dentine oranla daha az mineralizedir. Diğer taraftan odontoblastlar tarafından mine-dentin sınırında ilk üretilen dentin yüzeyel (dış) dentindir. Yüzeyel dentinin %96'sı intertübüler dentinden oluşur. Yüzeyel dentinde tübül çapı 0.8 mikrometre (μm) olup yaklaşık olarak mm^2 'de 20.000 adet tübül bulunur (12). Ayrıca yüzeyel dentinde tübüllerin terminal dalları arasında düzenli bağlantılar bulunur (13). Pulpa dentin sınırındaki dentin derin dentin olarak tanımlanır ve tübül çapı 2.5-3.0 μm ve tübül sayısı yaklaşık 76.000/ mm^2 'dir (5). İntertübüler dentin derin dentinin yüzey alanının yaklaşık %12'sini oluşturur. Sıvı dolu tübül lümen hacmi ise derin dentin yüzey alanının %22'sini oluşturur (12, 14). Dentin tübülleri hücrel uzantılar, kollajen ve mineral depozitleri ile kısmen dolu olsa da pulpa sınırındaki dentin dokusu mine-dentin sınırındaki dentin dokusundan 8 kat daha geçirgendir (15).

Dişin kök oluşumu tamamlanana kadar üretilen dentin primer dentindir. Odontoblastik aktivitenin yavaşlamasıyla hayat boyu üretilen dentin ise sekonder dentin olarak tanımlanır (16). Sekonder dentinin düzenli tübüler yapısı primer dentine benzerlik gösterirken tübül oryantasyonunda ve depozisyonunda farklılıklar bulunur (17, 18). Restoratif uygulamalar, çürük, abrazyon gibi dış etkenler daha hızlı ve düzensiz dentin depozisyonuna neden olur. Pulpa-dentin kompleksinde koruyucu bir cevap olarak biriken bu lokalize, düzensiz ve daha az sayıda tübül içeren dentin yapısı tersiyer dentin olarak tanımlanır (5, 17). Düzensiz sekonder dentin, reperatif dentin, irritasyon dentini ve reaksiyoner dentin de tersiyer dentin olarak adlandırılmaktadır (19). Dış uyaranlara karşı oluşturulan tersiyer dentin varolan odontoblastlar tarafından üretilmişse reaksiyoner dentin, odontoblast benzeri hücreler tarafından üretilen tersiyer dentin ise reperatif dentindir (5). Diğer taraftan tersiyer dentinde olduğu gibi çevresel uyaranlar (çürük, travma) ve/veya fizyolojik yaşlanma sonucu peritübüler dentin dokusunda mineralizasyon hızlanır ve dentin tübüllerinin geçirgenliği azalır. İlave olarak, çürük asitlerinin demineralizasyonuna bağlı olarak açığa çıkan kalsiyum ve fosfat iyonları dentin tübüllerinin derin tabakalarında birikerek açık dentin tübüllerini tıkayabilir (20). Dentin tübüllerinin mineral kristalleriyle dolması sonucu oluşan bu koruyucu bariyer sklerotik ya da translusent dentini oluşturur (21).

2.1. DENTİNİN İNNERVASYONU

Pulpal sinirlerin derin dentin tübüllerinin yaklaşık olarak %20'sine mikron seviyesinde penetre olabilmesine rağmen dentin dokusu vaskularizasyon ve innervasyondan yoksundur (5, 22). Sinirler; kalınlıklarına, miyelin kılıfına sahip olup olmamalarına, hedef dokularına ve uyarıcı iletim şiddetlerine göre sınıflandırılırlar. Dental duysal sinirler miyelinli A beta, A delta ve miyelinsiz C sinir liflerinden oluşmaktadır. Dental sinirlerin az bir kısmını oluşturan A beta sinir lifleri yüksek iletim hızına sahip olup (23) dentinin mekanik olarak uyarılmasında dokunma, basınç ve proprioseptif impulsları iletirler (24). Dental sinirlerin büyük kısmını miyelinli A delta ve miyelinsiz C sinir lifleri oluşturmaktadır. A delta sinir liflerinin duysal eşik şiddeti düşüktür. Sondalama ve hava uygulama gibi hidrodinamik uyarılarda kısa ve keskin ağrıdan sorumlu olan sinir lifleridir (25). A delta sinir lifleri odontoblastik tabakanın altında miyelin kılıflarını kaybederek dallara ayrılır ve serbest sinir uçlarından oluşan bir pleksus oluşturur (26). Miyelinsiz C sinir liflerinin impuls iletim hızları daha yavaştır. Bu lifler sıcaklık artışı ve pulpitis gibi doku yıkımına sebebiyet veren durumlarda aktive olurlar. C sinir liflerinin aktivasyonu ile oluşan ağrı hissi “yanıcı, zonklayıcı ve lokalize edilmesi güç bir ağrı” çeşididir. Hipoksi ve doku basıncının yükselmesine dirençli olan C sinir lifleri anestezi, enfeksiyon ve dişin vitalitesini kaybetmesi durumlarında bile aktive olarak ağrılı uyarıcı oluşumuna neden olabilir (27).

2.2. DENTİNİN GEÇİRGENLİĞİ

Dentinin dış yüzeyinde koruyucu fonksiyon gören mine ve sement dokusu çürük, kavite preparasyonu, abrazyon ve erozyon gibi dış etkenlerle ortadan kalkabilir. Bu durumda dış ortama açılan dentin tübülleri pulpa ile dış ortam arasında bir geçiş kanalı haline gelir (28). Dış ortama açılmış dentin tübülleri pulpal inflamasyon ve hassasiyet oluşumuna neden olabilir (29). Diğer taraftan restoratif materyal ile diş dokuları arasında termal ekspansiyon katsayısı ve difüzyon farklılıkları nedeniyle zamanla mikrosızıntı oluşabilir. Mikrosızıntı sonucu asidik ve bakteriyel ürünler restorasyon-diş arayüzüne penetre olup kavite duvarlarında demineralizasyona neden olur (30), önlem alınmazsa restorasyon-diş arayüzünden açık dentin tübülleri boyunca pulpaya kadar ulaşabilirler (29). Bu difüzyonun hızı dentinin lokalizasyonuna (15) ve kalan dentin kalınlığına bağlı olarak değişkenlik gösterir (31). Pulpa sınırına yakın dentinde intertübüler dentin miktarı azalmış, tübül sayıları ile tübül lümen

hacimleri ise artmış olduğundan bu bölgedeki dentin geçirgenliği mine-dentin sınırındaki dentinden daha fazladır (15).

Dentinin geçirgenliği kavite preparasyonundan da etkilenir. Kavite preparasyonu esnasında frez veya benzeri kesici aletlerle yapılan aşındırma işlemi sonucu dentin yüzeyinde artık organik ve inorganik bileşenlerden oluşan, 1-5 µm kalınlığında “Smear tabakası” tabakası meydana gelir. Bu tabakanın kalınlığı, preparasyon sırasında ıslak veya kuru çalışılmasına, dentinin organik/inorganik madde içeriğine, çalışılan bölgenin lokalizasyonuna, tübül çapı ve kavite derinliğine göre değişebilmektedir (32). Smear tıkaçları dentin geçirgenliğini dolayısıyla innervasyonunu önemli ölçüde azaltsa da (33) bu tıkaçların submikron porözitesi dentin sıvısının geçişini tamamen engelleyemez (34).

Ağrı karmaşık bir klinik olgudur. Özellikle kronik ağrılar karmaşık patofizyolojik durumlardır. Fakat DH diş yapısında iyi belirlenmiş patolojik değişimler sonucu tübül sıvı hareketine bağlı olarak oluşmaktadır. DH'nin sebeplerinin bilinmesine rağmen, tedavisinin nasıl yapılacağına dair bilgiler sınırlıdır (35).

2.3. DENTİN HASSASİYETİ

Dentin hassasiyeti (DH), zararlı olan ve olmayan uyaranların dentinde oluşturduğu yanıttır (36). Daha spesifik bir tanım ile, termal, kimyasal (ozmotik), dokunsal ve hava basıncı gibi değişkenlerin ekspozite dentinde oluşturduğu ve diğer dental patolojilerle açıklanamayan kısa süreli ve keskin ağrıdır (37, 38). Akut alevlenmelerle seyreden DH zamanla kronikleşerek hastanın yaşam konforunu etkiler (39). DH'nin oluşması için dış ortama açılmış dentin tübüllerinin varlığı ve (40) termal, kimyasal, mekanik bir uyaran gereklidir (41). En sık görülen ağrı soğuk uyaranla gerçekleşir. Ağız solunumuyla ve klinik muayene esnasında hava uygulama ile ağrı oluşabildiği gibi meyveler gibi asidik gıdalar, tatlılar ve tuzlu gıdaların alımı da ağrıya neden olabilir (42).

2.3.1. Dentin Hassasiyetinin Etiyolojisi

Ortalama insan ömrünün artması ve ilerleyen yaşla birlikte dental ve periodontal hastalık prevalansı artmaktadır. Periodontal hastalık ve periodontal tedavilere bağlı olarak oluşan dişeti çekilmesi DH görülme riskini artırmıştır (43). DH her yaş grubunu etkilemekle birlikte en sık olarak 3. ve 4. dekada görülür (44). Yetişkin popülasyonda %4-57 oranında ortaya çıkar (45, 46). DH en sık olarak daimi dişlerde mine-sement bağlantı bölgesinin yakınındaki

bukkal yüzeyde görülür. Bu alan dentin ekspozürünün sıklıkla görüldüğü bir alandır (47, 48). Dentin ekspozürü okluzal ve lingual servikal yüzeylerde de görülebilir. Fakat bu lokalizasyonlarda duyarlılık nadir olarak bildirilmiştir (47, 49). DH, bazı hastalar için oldukça rahatsız edici olmasına rağmen pek çok kişi tarafından ciddi bir problem olarak algılanmayıp tedavi arama yoluna gidilmemektedir. Örneğin, DH teşhisi konulan dört hastadan yalnızca biri hassasiyet giderici macun kullanmaktadır (50, 51). Periodontitisli hastalarda ise DH görülme sıklığı %60-98 arasındadır (52). İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da kadınlarda daha sık görülür (44). En sık olarak kanin ve premolar dişlerde (49, 53) ve dişlerin bukkal ya da labial yüzeylerinin servikal marjinlerinde görülür (47).

DH'nin oluşmasında mine kaybı ve dişeti çekilmesi önemli rol oynar (54). Normal klinik koşullarda mine ve sement dokusu dentini kaplayarak dentinin dış ortamla bağlantı halinde olmasını engeller. Fakat bazı bireylerde dişlerin servikal bölgesinde, anatomik olarak mine ve sementin tam olarak birleşmediği ağız ortamına açılmış dentin dokusu bulunmaktadır (55). Dişlerin %5-10 kadarında sement dokusu mine-sement bağlantı bölgesine ulaşamaz. Bu nedenle dentin ekspozürü görülür (56). Mine-sement bağlantı bölgesinde mine ve sement dokuları çok ince olduğundan olumsuz çevresel faktörlerin etkisiyle bu dokular kolayca uzaklaşak dentin dokusu ağız ortamına açılır (57, 58). Atrizyon, abrazyon veya erozyonla mine veya diş dokusu kayıpları oluşur. Örneğin günümüz beslenme alışkanlıkları içinde sıklıkla yer alan asidik yiyecek ve içeceklerin tüketilmesi mine kaybına ve alttaki dentin dokusunun açığa çıkmasına neden olabilir (59).

Dişeti çekilmesi DH'nin oluşmasında rol alan önemli faktörlerden biridir. Periodontal hastalıklar, dişlerin malpozisyonuna bağlı olarak bukkal kemiğin ve anatomik olarak yapışık dişetinin ince olması, parafonksiyonel alışkanlıklar, hatalı ağız bakım uygulamaları, restoratif tedavi için dişlerin preparasyonu gibi faktörler dişeti çekilmesine neden olur. Dişeti çekilmesi sonucu sement dokusu açığa çıkar (60, 61). Ekspoze olan kök yüzeylerindeki sement tabakası detertraj, kök yüzey düzlemesi işlemleri ve kimyasal etkilerle kısmen veya tamamen ortadan kalkar. Sement tabakasının uzaklaşmasına bağlı olarak açığa çıkan dentin tübülleri oral çevreye açılır. Dentin tübül sıvı basıncındaki değişimler sinirlerin polarize olmasına ve bireyin ağrı hissetmesine neden olur. pH değişimi gibi içsel faktörler de DH'nin oluşmasına neden olabilir (62). Sistemik bir derlemede, detertraj ve kök yüzey düzlemesi işlemleri sonrasında hastaların yaklaşık %50'sinde DH bildirilmiştir (63).

DH bir hastalıktan ziyade bir semptom olarak tanımlanır. Çatlak diş sendromu, çürük lezyonları, kırık restorasyonlar ve dişler, periodontal hastalık, postoperatif duyarlılık, palatal-gingival yivler, mine defektleri, konjenital olarak açık mine-dentin bağlantısı, izolasyonun eksik olduğu metalik restorasyonlar, oklüzal travmalar ve diş beyazlatma tedavileri de DH ile benzer semptomlar gösterebilir (64). Bu nedenle DH'nin ayırıcı tanısının ve mekanizmasının bilinmesi önemlidir.

2.3.2. Dentin Hassasiyetinin Mekanizması

DH'ye neden olan fizyolojik süreçler ile ilgili çeşitli teoriler vardır. En yaygın olarak kabul edilen teori pulpa-dentin kompleksinden dışarıya doğru dentin sıvı akışının rol aldığını kabul eden hidrodinamik teoridir (62, 65-67). DH mekanizmasını açıklayan teoriler şunlardır;

a- Odontoblastik İletim Teorisi: Odontoblastların mine-dentin sınırında dallanmalar yapması ve dentin tübülleri içerisindeki uzantılarının reseptör olarak görev almasını temel alarak bu teori ileri sürülmüştür (37, 68). Odontoblastların embriyolojik kökeninin trigeminal uzantılardan gelen bir ektomezencekimde bulunması sinir lifi gibi çalışabileceğini düşündürür. Bu teoriye göre kimyasal veya mekanik uyarılar odontoblastik uzantılardan nörotransmitterlerin salınmasına neden olur ve uyarılar sinir uçlarına iletilir. Fakat dentin yüzeyinde algılanan bir stimülusu odontoblastlar boyunca taşıyacak sinaptik bağlantı bulunmamaktadır. Ayrıca odontoblastik uzantı dentin tübüllerinde 0.7 µm kadar ilerler (69) ve sinir uzantıları tübüllerin sadece 100 µm'sinde gözlenir (70). Diğer taraftan odontoblastik hücre tabakası hasar gördüğünde DH'nin devam ettiği görülmüştür (71). Asetil kolin ve histamin gibi ağrı oluşturan maddeler dentine uygulandığında ağrıya neden olmazken pulpada ağrı oluşturmaktadır (72). Günümüzde odontoblastik uzantıların nörotransmitter saldıgına dair hiçbir kanıt bulunamamıştır (55). Tüm bu gerekçeler nedeniyle bu teori kabul görmemiştir.

b- Doğrudan Sinir Sonlanması Teorisi: Bu teoride dentin tübülleri içerisindeki sinir uçlarının uyarılmasıyla uyarının doğrudan pulpaya iletiildiği ileri sürülmektedir. Kök dentininin dış tabakaları içerisinde miyelinsiz sinir liflerinin varlığının gösterilmesi bu teoriyi desteklemiştir (73). Fakat pulpal sinirler derin dentin tübüllerinin yaklaşık olarak %20'sine birkaç mikron kadar penetre olmaktadır (5, 22). Bu verilere göre dentindeki hassasiyet mekanizması direkt pulpada sonlanan sinir iletimiyle oluşmamaktadır. Bu teoriyi destekleyen kesin kanıtlar bulunmamaktadır (74).

c- Hidrodinamik Teori: DH'nin oluşum mekanizmasında uzun yıllardan beri ekspozite dentin tübüllerindeki sıvı hareketinin sorumlu olduğu kabul edilmektedir (75). 1900 yılında

Gysi'ye göre dentin, hava akımı ve diğer ağırlı stimuluslara maruz kaldığında tübüllerdeki sıvı hareketi intradental sinirleri aktive eder (76). In vitro çalışmalarda ekspoze dentinde ağrı oluşturan uyarıların dentin tübüllerinde ölçülebilen sıvı hareketine neden olması hidrodinamik teorisinin kanıtı olarak gösterilir (77). Hidrodinamik teorisinin üstünlüğünü gösteren in vivo ve in vitro çalışmalar ilk olarak Brannström M. ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (78-80). Brannström sıvı dolu dentinal tübüllerin kapiller akış dinamiğini temel alan bir teori ileri sürmüştür. Brannström'ün hidrodinamik teorisine göre duyarlı dentin geçirgen dentindir (81). Hava basıncı, soğuk, sıcak ya da dokunsal bir uyarı ile 4-6 mm/sn.'lik tübül sıvı akışı oluşur (78). Dentin tübüllerindeki bu sıvı hareketi dentin ya da pulpadaki sinir uçlarını stimüle ederek ağrıya neden olur (82). DH görülen dişlerin kök yüzeyinde hassasiyet görülmeyen dişlere oranla birim alandaki dentin tübül sayısı (8 kat) ve tübül çapı (2 kat) daha fazla bulunmuştur (83, 84).

2.3.3. Dentin Hassasiyetinin Tedavisi

DH'nin tedavisinde hedef; dentin tübüllerini tıkayarak ve/veya duyu sinirlerinin ağrı eşiğini yükselterek ağrı oluşum mekanizmasını engellemektir (85). Dentin geçirgenliğini azaltan bazı faktörler, DH'nin spontan olarak remisyonuna neden olabilir. Buna “*doğal dentin desensitizasyonu*” denir. Örneğin pulpa-dentin sınırında düzensiz olarak irritasyon dentini oluşumu dentin tübüllerinin tıkanmasına yol açar ve hassasiyetin ortadan kalkmasına neden olur. Bunun yanında tükürük minerallerinden oluşan intratübüler kristaller ve dentin yüzeyindeki diştaşı oluşumu dentin geçirgenliğini azaltır (86). Ayrıca smear tabakası ekspoze dentin yüzeyini örterek dentin tübüllerinin tıkanmasını sağlar. Böylece sıvı hareketini bloke ederek hidrolik iletim azalır ve buna bağlı olarak DH'nin azalmasına neden olabilir (87). Fakat bazı durumlarda smear tabakası diş yüzeyinden kolayca kaldırılabilir. Bu durumda DH'ye karşı yeterli koruma sağlanamaz (85).

DH tedavisi hekim veya hasta tarafından 2 farklı şekilde uygulanabilir. Hasta tarafından uygulanan tedavi kolay ve ekonomiktir. Fakat klinik etkilerinin yavaş başlaması, belirli bölgelere uygulama güçlükleri ve devamlı kullanım gereksinimi gibi zorlukları vardır. Bu amaçla kullanılan çok sayıda ürün olmakla birlikte hasta tarafından uygulanan ideal bir DH giderici ajan şu özellikleri taşımalıdır;

- Pulpayı irrite edici olmamalı,
- Restorasyon veya diş yüzeyinde artık bırakmamalı,

- Yumuşak dokular için irrite edici olmamalı,
- Kolay uygulanabilmeli,
- Etkisi hızlı başlamalı,
- Uzun süreli ve etkin bir rahatlama sağlamalıdır.

Genel olarak dentin tübülleri içinde çökme özelliği gösteren materyallerle tübüllerin tıkanması ve sinir uçlarında desensitizasyonun sağlanması tedavideki temel hedeftir (88, 89). Dentin tübüllerini tıkayan ajanlar dentin kanalları boyunca sıvı hareketinin azalmasına neden olur. Bu şekilde ağrı iletiminin bloke edilmesinde Brannstrom'ün hidrodinamik teorisi temel alınmıştır. Bu gruba örnek olarak stronsiyum tuzları ve fluorür içeren diş macunları örnek olarak verilebilir. Duyusal sinirlerin ağrı eşiğini artırarak sinir uçlarında desensitizasyon sağlayan ürünler ise ağrı sinyalinin santral sinir sistemine taşınmasını önler ve duyuşal sinir aktivitesini azaltır. Hassasiyet giderici macunlar potasyum nitrat, potasyum klorid ve potasyum sitrat gibi aktif ajanlar içerir.

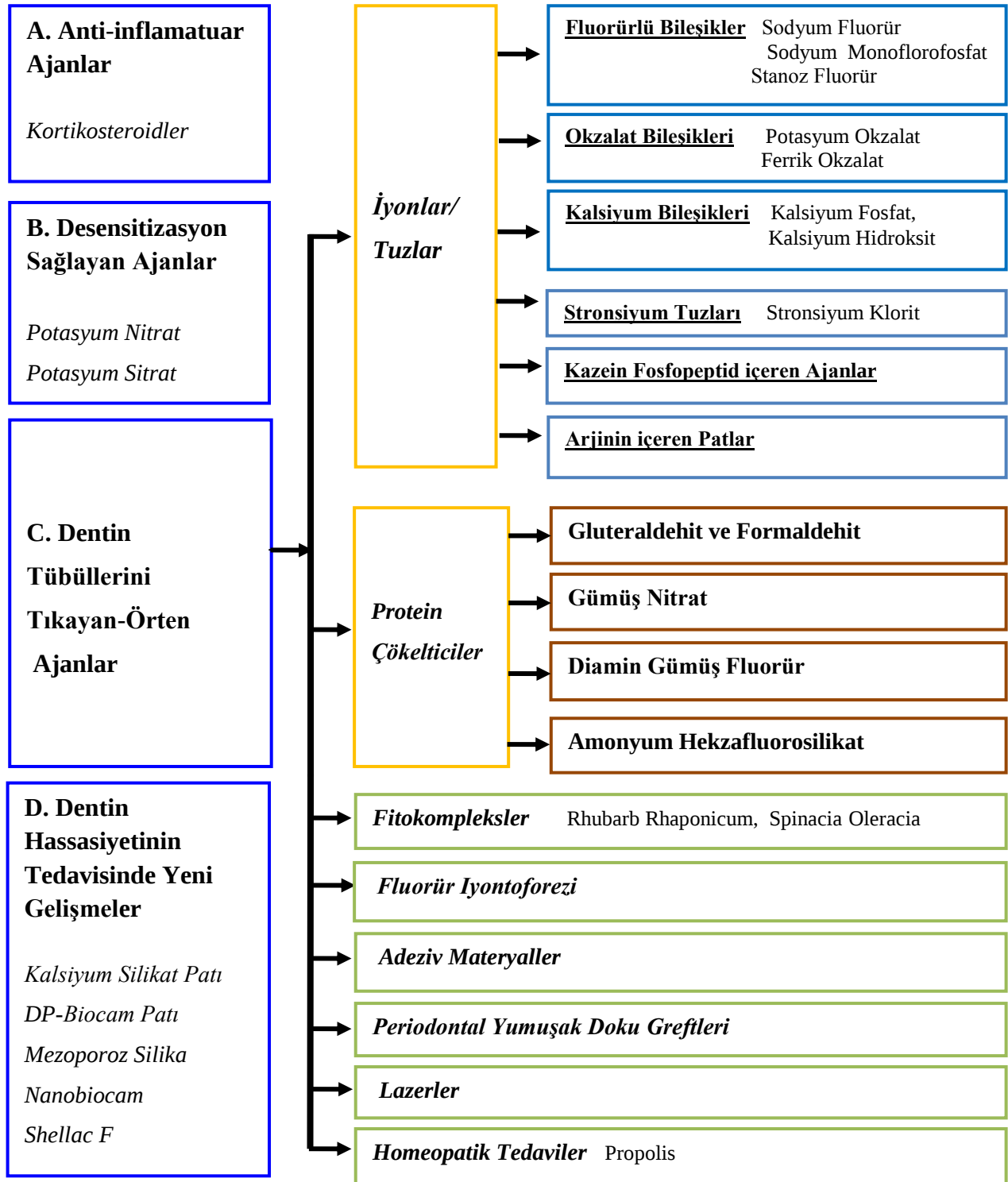
Potasyum içeren macunların ekstraselüler sıvıdaki potasyum iyon konsantrasyonunu arttırarak aksiyon potansiyeli oluşumunu önlediği böylece ağrı iletimini bloke ettiği ileri sürülmüştür (90). Potasyum nitrat (%5) içeren macunların 2-4 hafta süreyle kullanılmaları bu etkiyi başlatmaktadır (61). Potasyum iyon konsantrasyonundaki artışın sinir iletimini bloke ettiği bilirse de bu artış potasyum içeren hassasiyet giderici ajanların etki mekanizmasını açıklamak için yeterli değildir (91). Bunun yanında potasyum nitrat içeren macunların yapısına eklenen fluorür ile remineralizasyonun arttırılması da hedeflenmektedir (61).

Diğer taraftan çok az sayıda diş macunu dentin tübüllerini tıkayarak hassasiyet giderici etki gösterir. Pek çoğu ince bir smear tabakası veya smear tıkaçları oluşturarak dentin tübül sıvı akışını azaltır. Ayrıca bu macunların içindeki abrazivler (kalsiyum karbonat, alumina, di kalsiyum fosfat, silika) direkt olarak dentin tübüllerini tıkar ya da indirekt olarak smear tabakası oluşumunu sağlayabilir (92). Diş macunlarına ilaveten gargara kullanımı, diş fırçalama alışkanlığının düzenlenmesi, diyetle yapılacak modifikasyonlar ve parafonksiyonel alışkanlıkların elimine edilmesi DH tedavisinde başvuru olan indirekt tedavi yöntemlerdir. Bunlara ilaveten tükürük akışını ve tamponlama kapasitesini artırıcı stratejiler ve tükürük pH'sının arttırılması DH'nin tedavisinde hasta konforunu artırıcı faktörlerdir. DH hastanın yaşam kalitesini etkileyen önemli bir problemdir ve tedavisi hasta kooperasyonunun sürekliliğini gerektirir (93).

2.3.3.1. Dentin Hassasiyetinin Tedavisinde Kullanılan Ajanlar

Tablo 1’de DH tedavisinde kullanılan farklı etki mekanizmalarına sahip ajanlar özetlenmiştir.

Tablo 1: DH tedavisinde kullanılan ajanlar



A. ANTI-İNFLAMATUAR AJANLAR

- **Kortikosteroidler:** Glukokortikoidler gibi anti-inflamatuar ilaçların hassasiyeti azaltılabileceği ileri sürülmüştür. Fakat bu ajanların DH'yi giderici etkinliğini destekleyen çok az deneysel veri vardır (94). Bir glukokortikoid türevi olan parametazonun DH giderici etkisi olduğunu bilinmektedir (95). Kortikosteroidler dentin tübülllerinde tam bir tıkanma oluşturduğundan ekspoze dentin yüzeyine uygulanması dentin geçirgenliğini belirli ölçüde azaltır (96).

B. DESENSİTİZASYON SAĞLAYAN AJANLAR

- *Potasyum Nitrat, Potasyum Sitrat*

DH tedavisinde potasyum nitrat kullanımı ilk olarak 1974 yılında Hodosh tarafından bildirilmiştir (97). Daha sonra 1986 yılında American Dental Association (ADA) tarafından kabul edilmesi ile DH tedavisinde en sık kullanılan ajanlardan biri olmuştur (98). Diş macunlarına ve gargaralara ilave edilerek hasta tarafından da kullanılabilir. Potasyum nitratın aktif olan kısmı potasyum iyonudur (99). Potasyum iyonunun etki mekanizması tam olarak netlik kazanmasa da, pulpaya olan nöral iletimi bloke ettiği ve odontoblastların etrafındaki sinirleri depolarize ettiği görüşü kabul görmektedir (97, 100). Sinir uçlarının etrafında ekstrasellüler potasyum konsantrasyonunun artması sinir uçlarında depolarizasyona neden olup repolarizasyonu engeller. Böylece aksiyon potansiyeli inaktive edilmiş olur (101, 102). %5'lik potasyum nitrat patı uygulaması ile DH 1 haftadan 4 haftaya kadar etkin bir şekilde azalmaktadır (103). Potasyum nitratın DH giderici etkinliği yapılan klinik çalışmalarla desteklenmekle birlikte (97, 104, 105), hassasiyet giderici etkinliği ile ilgili çelişkili sonuçlar da bildirilmiştir (106, 107). Genel görüş potasyum nitrat ve florür içeren diş macunlarının DH tedavisinde etkin olduğu yönündedir (108, 109). DH tedavisinde potasyum nitratın etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar çoğunlukta olsa da bazı çalışmalarda potasyum sitrat kullanılmıştır (110, 111). Bu çalışmalarda potasyum sitratın da DH'nin azalmasında etkin olduğu gösterilmiştir.

C. DENTİN TÜBÜLLERİNİ TIKAYAN - ÖRTEN AJANLAR

C.1. İyonlar/Tuzlar

- ✓ Fluorürlü Bileşikler *Sodyum Fluorür, Sodyum Monoflorofosfat, Stanoz Fluorür*
- ✓ Okzalat Bileşikleri *Potasyum Okzalat, Ferrik Okzalat*
- ✓ Kalsiyum Bileşikleri *Kalsiyum Fosfat, Kalsiyum Hidroksit*
- ✓ Stronsiyum Tuzları *Stronsiyum Klorit*
- ✓ Kazein Fosfopeptid içeren Ajanlar
- ✓ Arjinin içeren Patlar

Fluorürlü Bileşikler

DH tedavisinde topikal fluorür uygulamaları 60 yıldan uzun süredir kullanılmaktadır (112). Florürlü bileşiklerin çok bilinen çürük önleyici etkinliğine ilaveten hassasiyetin giderilmesi amacıyla da uygulanmaktadır (113, 114). Topikal fluorür uygulamaları, dentin tübüllerinin içinde kalsiyum fluorür (CaF_2) kristallerinin çökmesiyle bariyer oluşumuna neden olur. Böylece dentin tübül geçirgenliği ve hassasiyet azalır (115, 116). Fakat bu birikimlerin zamanla tükürük içinde çözülmesiyle etkinliği azalabilir (117). Örneğin %5'lik sodyum fluorür uygulamasından sonra fluorürün büyük bir kısmının 2 hafta içinde salındığı tedaviden 21 hafta sonrasında sadece küçük bir miktar fluorürün salındığı bildirilmiştir (118).

-Sodyum Fluorür, Sodyum Monofluorofosfat, Kalay Fluorür: Fluorürün yapısal bileşenlerinin dentin tübüllerini mekanik olarak tıkadığı böylece ağrılı stimülusa neden olan sıvı iletimini bloke ettiği ileri sürülmektedir. Bu amaçla %5'lik sodyum fluorür kullanılmaktadır (43). Florürün etki mekanizmasıyla ilgili diğer bir açıklamada oldukça kararsız olan fluorür iyonunun dentinin organik matriksinde nöral iletimi biyokimyasal olarak bloke edebileceğidir (119). Fakat bir taramalı elektron mikroskop (SEM) ve mikroradyografi çalışmasında sodyum fluorür uygulanan dentin yüzeylerinde tübül tıkanması tespit edilmemiştir (120). Sodyum fluorürün %2'lik aköz solüsyonları (nötral/ya da asidüle) ile %33'lük pat formu iyontoforez tekniği ile birlikte veya tek başına DH tedavisinde kullanabilmektedir (61). Diğer bir fluorür bileşiği olan sodyum monofluorofosfatın antikaryojenik etkinliği ispatlanmış olsa da DH'nin tedavisindeki etkinliği ile ilgili bilgiler çelişkilidir (121-123). Diğer taraftan %0.4'lük kalay fluorür (SnF_2) uygulaması ile DH'nin

tedavisinde olumlu sonuçlar alınmıştır (124, 125). Dentin yüzeylerine farklı konsantrasyonlarda (%1-10) SnF_2 uygulandıktan sonra yapılan SEM incelemelerinde dentin yüzeylerinde kalay ve florür içeren globüler partiküller tespit edilmiştir. Bunun yanında en düşük konsantrasyonda (%1) uygulanan SnF_2 'nin de dentin tübüllerinde tam bir tıkama oluşturduğu gösterilmiştir (126). Başarılı bir tedavi için %0.4'lük SnF_2 uygulamasının en az 4 hafta süre ile uygulanması önerilmektedir (124).

Okzalal Bileşikleri

✓ *Potasyum Okzalal*

✓ *Ferrik Okzalal*

DH'nin tedavisinde etkin olarak kullanılan okzalal bileşikleri kalsiyum okzalal kristalleri oluşturarak dentin tübüllerini tıkayarak fonksiyon görür (127, 128). Bu solusyonlar dentin yüzeyini hafifçe dağlayarak dentinden Ca iyonunun açığa çıkmasını sağlar. Çözünür haldeki okzalalla reaksiyona giren Ca iyonları dentin tübülleri içinde ve dentin yüzeyinde çözünmeyen formda kalsiyum okzalal kristalleri oluşturur (100). Fakat okzalal solusyonlarının en önemli dezavantajı toksik potansiyel göstermeleri ve gastrik irritasyona yolaçabilmeleridir. Bu nedenle okzalal içerikli hassasiyet gidericilerin kullanılmasına dikkat etmek gerekir (129). Potasyum okzalal ve ferrik okzalalın DH'yi azaltıcı etkisi, dentin tübüllerine kalsiyum okzalal kristalleri ve ferrik/potasyum fosfat tuzlarının çökmesiyle sağlanır (130).

-Potasyum Okzalal: Potasyum okzalalın tübül tıkayıcı özelliği yanında, potasyum iyonlarının sinir aktivitesini azaltıcı etkisi vardır (100). Potasyum okzalal, dentin tübül sıvı akışını %98.4 oranında azaltır (131). %2'lik potasyum okzalalın dentin geçirgenliğini %95.7 oranında azalttığı belirlenmiştir (101). Potasyum okzalal uygulamasının DH'de önemli azalma oluşturduğu klinik çalışmalarla gösterilmiştir (132, 133).

-Ferrik Okzalal: Dentin yüzeylerine ferrik okzalal uygulanması dentin geçirgenliğini önemli oranda azaltır (134). Ferrik okzalalın muhtemel etki mekanizması smear tabakasını çözmesi ve kalsiyum okzalal ve ferrik fosfat tuzları oluşturarak dentin tübüllerini tıkamasıdır (135). Ferrik okzalal solüsyonunun ekspozite dentin yüzeylerine uygulanması sonucu DH'de hızlı ve etkin bir azalma oluşturduğunu gösteren klinik çalışmalar mevcuttur (136, 137).

Kalsiyum Bileşikleri

-Kalsiyum Fosfat, Kalsiyum Hidroksit: Kalsiyum fosfat mineralleri dentin dokusunun ana inorganik bileşenleridir. Mineralden zengin bu yapılar fizyolojik dentin sklerozu ile tübül tıkanmasını sağlar (138). DH tedavisinde ekspozite dentin yüzeylerine kalsiyum fosfat bileşiklerinin uygulanmasıyla bu fizyolojik süreçler taklit edilmeye çalışılmıştır. Kalsiyum fosfat bileşiklerinden amorf kalsiyum fosfat (ACP) hızlı bir şekilde hidroksiapatit kristallerine dönüşerek açık dentin tübüllerini tıkar (139). Ayrıca kalsiyum fosfatın tübül tıkaçıcı özelliği dentin tübül çapından bağımsızdır. Yani geniş çaplı dentin tübüllerini de tıkayabilme özelliği vardır (140-142). Kalsiyum hidroksit Ca(OH)_2 patı da ekspozite dentin yüzeyine uygulandığında DH'de hızlı bir azalmaya neden olur (143). Bu nedenle Ca(OH)_2 'in özellikle cerrahi olmayan periodontal tedaviler sonrasında oluşan DH'nin tedavisinde kullanımı önerilmektedir (144).

Stronsiyum Tuzları

-Stronsiyum Klorit: %10'luk stronsiyum klorid içeren diş macunları DH tedavisi amacıyla piyasaya sürülen ilk macunlardan biridir. Stronsiyumun DH tedavisindeki etki mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte (89) diş dokularına bağlanarak dentin tübüllerini tıkadığı ve böylece reperatif dentin formasyonunu stimüle ettiği ileri sürülmektedir. Bunun yanında duyuşal sinir aktivitesini azaltıcı etkiye sahip olduğu da düşünülmektedir. Stronsiyumun DH tedavisindeki etkinliği ile ilgili farklı çalışma sonuçları mevcuttur. Bazı çalışmalarda stronsiyum kloridin DH tedavisinde etkin olduğu gösterilse de (145, 146) stronsiyum kloridin etkinliğinin diğer ajanlardan daha az olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (108, 147). Stronsiyum, fluorürle aynı formülasyonun içine konulduğunda fluorürle reaksiyona girebilir ve etkinliği azalabilir. Bu etkileşimi önlemek için fluorür kombinasyonunda stronsiyum asetat kullanılır (148, 149).

Kazein Fosfopeptid İçeren Ajanlar

Kazein, sığır sütündeki total proteinin yaklaşık %80'ini oluşturur (150). Kazein fosfopeptid (CPP), kazeinden türetilen ve kalsiyum fosfatı stabilize ederek amorf kalsiyum fosfat (ACP) şeklinde taşıyabilen peptidlerdir (151-153). Reynolds ve ark., kazein fosfopeptid-amorf kalsiyum fosfatın (CPP-ACP) diş yüzeyine bağlanarak diş çevresinde ACP konsantrasyonunu arttırdığını bildirmiştir. Yazarlar, asidik koşullarda CPP-ACP'nin serbest kalsiyum ve fosfat iyonlarını tamponlayarak plakta kalsiyum fosfat seviyesini yükselttiğini, mine demineralizasyonunu önlediğini ve remineralizasyonu arttırdığını ileri sürmüşlerdir (153,

154). Bazı laboratuvar ve hayvan çalışmaları CPP-ACP'nin antikaryojenik potansiyeli olduğunu göstermektedir (151, 154, 155). Ayrıca bu peptid kompleksleri hidroksiapatite bağlanarak mine-dentin remineralizasyonu için kalsiyum ve fosfat kaynağı oluşturmakta ve dentinal tübül oklüzyonu sağlayabilmektedir. (141, 156). CPP'nin DH tedavisinde kullanımı ofis tipi beyazlatma, detertraj, küretaj gibi işlemlerden sonra “*MI Paste and MI Paste Plus*” ticari ismiyle Amerika’da onaylanmıştır. Amerika dışında bu ürünler “*GC Tooth Mousse ve GC Tooth Mousse Plus*” ismiyle piyasaya sürülmüştür (157). GC Tooth Mousse’un dentin örnekleri üzerine uygulanmasının dentin geçirgenliğini kısmen azalttığı ve dentin yüzeyinde az miktarda çökeltme oluştursa da bu birikimlerin yapay tükrük ve sitrik asit uygulamasına karşı dirençli olmadığı bildirilmiştir (158).

Arjinin İçeren Patlar

DH tedavisinde kullanılan ajanların uzun süreli etkinliğinin sınırlı olması ve her zaman beklenen terapötik etkinin elde edilememesi nedeniyle daha hızlı etki gösteren ve etkinliği daha uzun süren hassasiyet giderici ajanların geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Arjinin, ilk olarak 1886 yılında İsviçreli bilim adamı Ernst Schultze tarafından lupin (acı bakla) bitkisinin özütünden izole edilerek bikarbonat ve kalsiyum karbonatla kombine edilmiş, dentin tübül tıkayıcı etkisi ile dentin hassasiyetini giderici etkisi incelenmiştir. 2002 yılında, Kleinberg ve ark. tükrüğün doğal hassasiyet giderici etki mekanizmasından ve bu teknolojiye yola çıkarak yeni bir DH giderici geliştirmişlerdir. Bu teknolojinin adı Proarjin olup ana bileşenleri %8 arjinin, bikarbonat ve kalsiyum karbonattır. DH giderici etkisi fiziksel tıkaçlarla ekspozite dentin tübüllerini tıkamasıyla oluşur (159). Arjinin fizyolojik pH’da pozitif yüklü olan bir aminoasittir. Arjinin-kalsiyum karbonat teknolojisinin etki mekanizmasıyla ilgili çeşitli in vitro çalışmalar yapılmıştır. Confocal Lazer Taramalı Mikroskop (CLSM) çalışmaları ile Arjinin-kalsiyum karbonat içeren hassasiyet giderici patın açık dentin tübüllerini yüksek oranda tıkayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. Yine CLSM çalışmalarında, arjininin tübül tıkaçlarının yapısına katıldığı ve bu patın oluşturduğu tübül tıkaçlarının asit ataklara karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. Yüksek çözünürlüklü SEM incelemelerinde arjinin-kalsiyum karbonat patının oluşturduğu dentin tıkaçlarının tübül içi derinliğinin 2 µm’ye ulaştığı belirlenmiştir. Ayrıca patla tıkanan dentin yüzeylerinde yapılan incelemelerde dentin yüzeyinde ve dentin tübüllerindeki tıkaçların primer olarak kalsiyum ve fosfattan oluştuğu, bunların yanında karbonat varlığı da saptanmıştır (160). Normal pulpal basınca ve

asit etkisine karşı dirençli olan bu tıkaçlar tübül sıvı akışını etkin bir şekilde engelleyerek DH'yi azaltır (161).

2007 yılında, Colgate-Palmolive Şirketi bu ürünün haklarını satın alarak Colgate Sensitive Pro-Relief ofis tipi hassasiyet giderici patı ve ev tipi hassasiyet giderici diş macununu piyasaya sunmuştur. DH tespit edilen bireylere diştaşı temizliği öncesinde ve sonrasında %8'lik arjinin ve kalsiyum karbonat içeren pat uygulamasının DH'de anlamlı oranda azalma sağladığı tespit edilmiştir (162, 163).

C.2. Protein Çökelticiler

- ✓ *Gluteraldehit ve Formaldehit*
- ✓ *Gümüş Nitrat*
- ✓ *Diamin Gümüş Fluorür*
- ✓ *Amonyum Hekzafluorosilikat*

-Gluteraldehit ve Formaldehit: Gluteraldehit periferik tübül sıvıdaki proteinleri koagüle eder. Böylece tübül sıvı akışını önleyerek DH tedavisinde etkin rol oynar (164). Gluteraldehit içeren solüsyonların topikal olarak uygulanması sonucunda hassasiyet giderici etkisi yaklaşık olarak 6 ay boyunca devam eder (165). Formaldehitin tek başına ya da tükürük ile birlikte dentin yüzeylerine uygulanmasının tübül oklüzyonuna etkisinin olmadığı bildirilmiştir (166).

-Gümüş Nitrat: Protein çökeltici özelliği nedeniyle DH tedavisinde kullanılmıştır. Gümüş nitrat DH giderici etkisini dentin tübüllerindeki tomes uzantılarını hızlı bir şekilde koagüle ederek gösterir. Koagülasyon sonucunda tomes uzantıları gümüş albüminata dönüşür. Bu bileşik diş yüzeyinde siyah renklenmeye neden olur. Bu nedenle daimi dişlerde tercih edilmez. Süt dişlerinde de kullanımı sınırlıdır (53, 122). Ayrıca dentin boyunca pulpaya difüze olarak minör inflamasyona neden olur (167).

-Diamin Gümüş Fluorür: Çürük oluşumunun önlenmesinde ve DH tedavisinde kullanılmıştır (168). Gümüş nitrat gibi pulpal dokularda inflamasyona neden olmaz. Fakat diş yüzeylerinde gümüş çökmesini sağlayarak dişlerde koyu renkli boyanmalara yol açar. Bu nedenle daimi dişlerde kullanımı sınırlıdır. Diamin gümüş fluorür'ün dentin diskleri üzerine uygulanması sonrası alınan SEM görüntülerinde dentin tübül yüzey örtme etkisinin sınırlı olduğu görülmüştür (169).

-Amonyum Hekzafluorosilikat: Dişlerde renklenmeye neden olmayan ve açık dentin tübüllerini silikat-kalsiyum fosfat çökeltileriyle tıkayan bir bileşiktir (168). Amonyum hekzafluorosilikat'ın içeriğinde gümüş yerine silika bulunduğundan diş renginde değişime neden olmaz ve yapay vücut sıvılarından apatit formasyonu oluşumunu indüklediği iyi bilinmektedir (170). Amonyum hekzafluorosilikat uygulandıktan sonra 7 gün boyunca yapay tükürkte bekleyen dentin örneklerinde tübüllerin tamamen tıkalı olduğu SEM incelemelerinde görülmüştür. Ayrıca dentin yüzeylerinde kalsiyum fosfat çökelmeleri tespit edilmiştir (168). Amonyum hekzafluorosilikat uygulamasının yaklaşık olarak %10.3 oranında dentin geçirgenliğini azaltıcı etkisi olduğu belirlenmiştir (169).

C.3. Fitokompleksler

-Rhubarb Rhaponicum (Ravent), Spinacia Oleracea (Ispanak): Fitokomplekslerin içindeki okzalit ve okzalit asit dentindeki kalsiyumla reaksiyona girerek kalsiyum okzalit kristallerini oluşturur. Kalsiyum okzalit kristalleri dentinal proteinlere bağlanarak tübüllerin tıkanmasını sağlar. Ispanak ve ravent (yaprakları pazı bitkisine benzeyen bir bitki) fitokompleksleri kalsiyum okzalit kristallerinin oluşumuyla dentin tübüllerini tıkalı etki gösterir. Fitokomplekslerin etkinliği total okzalit miktarı ve çözülebilen okzalit miktarıyla açıklanır. Ayrıca okzalatin kalsiyuma oranının artması (okzalit/kalsiyum>1), okzalatin kalsiyuma bağlanmasını artırır. Böylece dentin tübülleri içinde direkt olarak kalsiyum okzalit oluşumunu sağlar (171). Bu fitokomplekslerin cerrahi olmayan periodontal tedaviler sonrasında dentin yüzeyine uygulanmasıyla dentin yüzeyini asidik ataklara karşı dirençli hale getirdiği ve tübül ekspozürünü önlediği bildirilmiştir. Bu nedenle test edilen fitokompleks solüsyonlarının dentin demineralizasyonunu önlediği ve periodontal tedaviler sonrasında oluşabilecek DH'yi önleyebileceği belirtilmektedir (172).

C.4. Fluorür İyontoforezi

DH tedavisinde iyontoforez ilk olarak 1960'lı yılların başlarında kullanılmıştır. İyontoforez, düşük amperli elektrik akımı kullanılarak iyonların veya iyonize ilaçların dokulara iletilmesini sağlar. Böylece lokalize bir alanda ilacın belirli bir konsantrasyonda uygulanması sağlanır. İyontoforezle DH giderilmesinin etki mekanizması tam olarak açıklanamasa da bu konuda çeşitli hipotezler mevcuttur. Bunlardan biri, dentine elektrik akımı uygulanmasını takiben reperatif dentin formasyonunun oluşmasıdır. Diğer bir hipoteze göre elektrik akımı, ağrı iletiminin duysal mekanizmasını değişime uğratarak paresteziye neden olur. Başka bir

hipoteze göre ise iyontoforez, kalsiyum fluorür iyonlarının mikroçökmesiyle ağrıya neden olabilecek hidrodinamik stimülusların oluşumunu bloke eder (173). %2'lik sodyum fluorürün iyontoforezle uygulanması topikal uygulamaya göre dentin yüzeyinde 2 kat daha fazla fluorür konsantrasyonu oluşturur (174). Fluorür iyontoforeziyle DH tedavisinde hızlı sonuç alınmasının yanında etkisinin uzun dönem devam ettiği gösterilmiştir (175, 176).

C.5. Adeziv Materyaller

Dental sert doku kayıpları olduğunda rezin kompozitler ve cam iyonomerler gibi restoratif materyaller açık dentin yüzeyini örterek DH oluşumunu engelleyebilir (53, 55, 177-179). Dişlerin servikal bölgesindeki erozyon/abrazyon lezyonlarında, cam iyonomer restoratif materyallerin ya da rezin kompozitlerin tek başına ya da kombine olarak kullanılması erken dönemde DH'de anlamlı bir azalma sağlamıştır (179). Sert doku kaybının olmadığı durumlarda ise yalnızca bir dentin adezivin kullanılması hassasiyet tedavisinde etkili olabilmektedir (180). Dentin adezivlerin ekspozite dentin üzerine uygulandığında adeziv dayanıklılığı yeterli olmakla birlikte adeziv materyalin kendi içindeki kırılmaların zamanla sorun oluşturabileceği bildirilmiştir (181). Bu nedenle belli aralıklarla tedavinin tekrarlanması gerekebilmektedir.

Genellikle adeziv uygulamalar, DH'nin lokalize ve spesifik olduğu durumlarda, yaygın olduğu durumlara oranla daha çok tercih edilirler (182). Gluma (Heraeus Kulzer, Germany) gibi rezin içeren DH giderici ajanların yapısında hidroksietil metakrilat (HEMA) ve gluteraldehit bulunur. HEMA fiziksel olarak dentin tübüllerini tıkarken, gluteraldehit tübül sıvısındaki plazma proteinlerinin koagülasyonuna neden olur. Böylece dentin geçirgenliği azalır. Gluma'nın DH giderici etkisinin iki reaksiyonla sağlandığı düşünülmektedir. İlk olarak gluteraldehit dentin tübül sıvısındaki serum albüminiyle reaksiyona girerek albüminin çökmesine neden olur. Sonra gluteraldehit, albüminle ikinci bir reaksiyona girerek HEMA'nın polimerizasyonunu sağlar (183). Gluma'nın hassasiyet giderici etkisinin uzun dönem devam ettiği gösterilmiştir (184, 185).

Dentin Bağlayıcı Ajanlar: Mine ve dentin dokuları, gerek yapısal gerekse de organik ve inorganik bileşenleri arasındaki farklılıklar nedeniyle bağlanma özellikleri açısından önemli farklılık gösterir. Mine dokusu, düzgün yüzeyli ve homojen yapıdadır. Primer olarak hidroksiapatit kristallerinden oluşması nedeniyle yüzey enerjisi yüksektir. Dentin dokusu ise birbirinden farklı iki yapı olan hidroksiapatit ve kollajenden oluşur. Ayrıca dentinin yapısında yüksek oranda su bulunur (ağırlık olarak %12, hacim olarak %25) (186, 187). Mine yüzeyine

adezyon rezin bağlayıcı ajanın asitlenmiş yüzey düzensizliklerine mikromekanik kilitlenmesiyle sağlanır.

Dentine adezyon ise büyük oranda mikromekanik bağlanma ile sağlanır. Primer ve sekonder kimyasal bağlar da dentine adezyona katkı yapmaktadır (188). Dentin bonding mekanizmasındaki mikromekanik kilitlenme, dentin yüzeyine uygulanan adeziv rezinle dentin kollajeni arasındaki bağlanma ile oluşur. Resin monomerle dentin bileşenleri arasındaki bu mekanik bileşime hibrit tabakası (189) ya da resin-dentin interdifüzyon bölgesi denilir (190). Ayrıca dentin bileşenleri, intertübüler ve peritübüler dentinde eşit olarak dağılmadığından dentinin heterojen bir yapısı vardır. Dentin tübüllerindeki tübül sıvısı nedeniyle dentin ıslak bir yapıdadır ve pulpadan dışa doğru devamlı bir basınç altındadır. Dentin bu heterojen yapısı nedeniyle düşük yüzey enerjisine sahiptir. Oral çevrede diş yüzeyi çok düşük kritik yüzey gerilimine sahip olan organik bir tükruk pelikülüyle kaplıdır. Pelikül diş yüzeyinin adeziv uygulamasıyla oluşan ıslanabilirliğini azaltır (191). Bunun yanında kavite preparasyonu esnasında oluşan smear tabakası da düşük yüzey enerjisine sahiptir. Bu nedenle diş yüzeyine bonding ajanların uygulanmasından önce diş yüzeyi temizlenmeli ve yüzey enerjisi artırılarak bonding işlemlerine uygun hale getirilmelidir. Son yıllarda dentin adeziv sistemler bileşimlerdeki modifikasyonlara göre farklı şekillerde sınıflandırılmıştır. Bunlar, kronolojik (jenerasyon/nesil) sınıflandırma, kimyasal yapılarına göre sınıflandırma ve smear tabakası ile olan ilişkilerine göre sınıflandırmadır (192). Van Meerbeek ve ark. adezivlerin diş sert dokularıyla ilişkilerini ve uygulama aşamalarını göz önünde bulundurarak daha basit bir sınıflandırma ileri sürmüşlerdir. Bu sınıflandırmaya göre dentin adeziv sistemler (193):

- a. Etch-and-rinse Adeziv Sistemler (İki ve Üç Aşamalı Sistemler)
- b. Self-etch Adeziv Sistemler (Bir ve İki Aşamalı Sistemler)
- c. Cam İyonomer esaslı Adezivler

a. Etch-and-rinse Adeziv Sistemler: İki veya üç aşamalı sistemler olup asitle pürüzlendirme işleminin ardından primer ve bonding aşamaları ayrı ayrı veya tek şişede kombine edilerek uygulanır. Bu sistemlerin geleneksel formunda dentinin asitle pürüzlendirilmesi işleminden sonra primer (adezyon artırıcı ajan) uygulaması yapılır. Son olarak da dentin bonding ajan (adeziv rezin) uygulanır. Basitleştirilmiş iki aşamalı etch-and-rinse adeziv sistemlerde ise ikinci (priming) ve üçüncü (bonding) aşamalar birleştirilmiştir (193-196). Etch-and-rinse adeziv sistemlerde asitle pürüzlendirme işlemi, smear tabakasını tamamen ortadan kaldırıp dentinde demineralizasyon meydana getirerek kollajen ağını açığa

çıkartır ve neredeyse bütün hidroksiapatitleri ortamdan uzaklaştırır. Dentinin fosforik asitle pürüzlendirilmesi sadece mikromekanik adezyonla bağlanmayı sağlar (194). Asitleme süresinin uzaması kollajen yapısında modifikasyonlara ve bozulmalara neden olur. Pürüzlendirme işlemi sonrası dentin tübülleri huni şeklini alarak daha uzun rezin tagların oluşumunu sağlar (197). Asitle pürüzlendirme işlemi dentinin sklerotik veya normal olmasına, derinliğine, tübüllerin uyumuna bağlıdır (198).

Etch-and-rinse adeziv sistemlerdeki önemli bileşenler monomerler (primer) ve monomerlerin içinde çözülmüş olarak bulunduğu solventlerdir (196). Primerler, hidrofilik özellikleri ile ekspozite kollajen fibrillere afinite gösterirken hidrofobik özellikleri ile adeziv rezinlerle kopolimerize olurlar (199). Böylece primer uygulaması ile hidrofilik dentin yüzeyi hidrofobik hale getirilerek adeziv rezinin ekspozite kollajen ağı etkin bir şekilde penetrasyonu sağlanır (200). HEMA hem üç aşamalı hem de iki aşamalı etch-and-rinse adeziv sistemlerde yaygın olarak kullanılan bir monomerdur. Hidrofilik olması nedeniyle adezyon artırıcı rol oynar. İki aşamalı etch-and-rinse adezivler üç aşamalı adezivlere göre daha yüksek oranda hidrofilik monomer içerdiğinden polimerizasyondan sonra hibrit tabaka içinde daha fazla su dolu alanlar oluşur (201). Son zamanlarda HEMA gibi hidrofilik monomerlerin oranı azaltılıp yerine UDMA ve TEGDMA gibi monomerler kullanılmaya başlanmıştır (202). HEMA'nın yanında PENTA, NTG-GMA ve PMDM gibi monomerler de kullanılır. Üç aşamalı etch-and-rinse adeziv sistemlerdeki hidrofobik tabaka suya karşı geçirgen olmaması ve hidrofobik ajanların polimerizasyon derecesinin yüksek olması sebebiyle hibrit tabakayı hidrolize karşı korur (203). Solventler, viskozitesi düşük olan primer ve primer-adeziv rezinlerin asitle pürüzlendirilmiş demineralize dentin yüzeyinde monomer difüzyonunu artırarak adeziv performansı önemli ölçüde etkiler. Dental adezivlerde en çok kullanılan solventler, su, etanol ve aseton (196). Suyun buhar basıncı düşük olduğundan su bazlı adezivlerde suyun uzaklaştırılması ve monomer difüzyonu zaman alır. Su organik monomerler için zayıf bir çözücü olduğundan ikinci bir solventin ilavesiyle bu sorun giderilmeye çalışılmıştır (202). Su bazlı adezivlerin bir avantajı aşırı kurulum gibi kollajenin büzülmesine neden olan durumlarda kollajenin genişlemesini sağlamasıdır. Aseton bazlı adezivlerde ise kollajeni genişletme özelliği olmadığından monomerin tam olarak difüzyonu sağlanamaz (204). Aseton bazlı adeziv sistemler teknik hassasiyeti yüksek olan sistemlerdir. Adeziv rezinler; Bis-GMA ve UDMA gibi hidrofobik monomerler, TEG-DMA ve HEMA gibi viskozite düzenleyicilerdir. Adeziv rezinlerin asıl fonksiyonu hibrit tabakayı stabilize ederek dentin tübüllerine rezin infiltrasyonu ile rezin tagların oluşumunu sağlamaktır. Adeziv rezinler

polimerize olduktan sonra rezin-diş bağlantı yüzeyini stabilize ederek kompozit rezinlerin polimerizasyon büzülmesi sonucu oluşan streslerine direnç gösterir (205).

b. Self-etch Adeziv Sistemler (Bir ve İki Aşamalı Sistemler): “Self-etch” adeziv sistemler, (yıkılmayan) asidik monomerlerin kullanılmasıyla dentinin hem pürüzlendirilip hem de priming (yüzey hazırlanması ve primer) işlemlerine aynı anda tabi tutulması esasına dayanır. Bu sistemlerde yıkama fazı elimine edildiğinden uygulama esnasında hata yapma riski ve teknik hassasiyet düşüktür (193, 195, 196). Self-etch adeziv sistemler geleneksel olarak self-etch primer uygulamasını hidrofobik rezin bonding uygulaması takip eden iki aşamalı sistemlerdir. Basitleştirilmiş self-etch adezivlerde primer ve adeziv rezin kombine edilerek “all-in-one” adeziv olarak adlandırılan tek aşamalı sistemler geliştirilmiştir (194). Self-etch adezivler, ılımlı (mild-pH~2.0), sert (strong-pH≤1) ve orta derecede sert (intermediary strong-pH~1.5) olmak üzere üç ana başlıkta incelenir kombine edilerek “all-in-one” adeziv olarak adlandırılan tek aşamalı sistemler geliştirilmiştir (196, 202, 206). Strong self-etch adeziv sistemlerin asiditeleri yüksek olduğundan (pH≤1) dentinde oluşturdukları bağlantı arayüz morfolojileri etch-and-rinse adeziv sistemleri ile elde edilen arayüz morfolojileri ile benzerlik gösterir (207). Mild self-etch adeziv sistemler ise dentin yüzeyinde kısmi bir çözünmeye neden olur. Böylece kollajen fibrillerin üzerinde önemli miktarda hidroksiapatit kristalleri kalır. Rezidüel hidroksiapatitle fonksiyonel monomerlerin karboksil ve fosfat grupları kimyasal bağ yaparlar. Bu kimyasal bağların kollajeni hidrolitik parçalanmaya karşı koruduğu ve bağlantının erken dönemde zarar görmesini önlediği düşünülmektedir (208). Self-etch adezivlerdeki mikromekanik bağlanma yanında kimyasal bağlanmanın restorasyonun dayanıklılığını arttırdığı kabul edilmektedir (194). Yapılan çalışmalarda bazı self etch adezivlerin yapısına fonksiyonel monomer olarak katılan 10-MDP, 4-MET gibi monomerlerin hidroksiapatitle reaksiyona girerek mikro ve nano sızıntı sonucu oluşan degradasyona karşı direnç gösterdiği bildirilmiştir (209).

Self-etch adezivlerin bileşiminde suyun bulunması demineralizasyonun sağlanması ve asidik monomerlerin iyonize edilmesi için gereklidir. Fakat adeziv arayüzünde kalan suyun fazla miktarda olması bağlanma dayanımını olumsuz yönde etkilemektedir. Özellikle strong self-etch adezivler yüksek miktarda su içerir ve suyun uzaklaştırılması zordur (193). Bu nedenle bazı self-etch adezivlerde suyun yanında çözücü olarak etanol ve aseton ilavesi yapılmıştır (196). HEMA, etch and rinse adeziv sistemlerde olduğu gibi self-etch adeziv sistemlerde de adezyon arttırıcı fonksiyonu nedeniyle kullanılmaktadır. Özellikle tek aşamalı self-etch adezivlerde HEMA’nın yüksek konsantrasyonlarının (%19-36) kullanımı erken dönemde

bağlanma dayanımını azaltır. Uzun dönemde hidrolize neden olarak polimerin mekanik özelliklerini zayıflatır. HEMA'nın suya afinitesi monomer dilüsyonunu artırarak polimerizasyon derecesini azaltır. Yüksek konsantrasyonda HEMA içeren tek aşamalı self-etch adeziv sistemlerde bu sorunun üstesinden gelmek için priming aşamasından sonra hidrofobik bir rezin tabaka uygulamasının gerekli olduğu ileri sürülmüştür (210).

c. Cam İyonomer Esaslı Adezivler: Cam iyonomerler diş dokusuna self-adezyon gösteren tek materyaldir. Cam iyonomer bazlı adezivlerde cam iyonomer ve rezin-adeziv teknolojisi kombine edilerek dentin yüzeyine hem mikromekanik hem de kimyasal adezyon sağlanmaktadır (211, 212).

C.6. Periodontal Yumuşak Doku Greftleri

DH'ye sebep olan lokalize dişeti çekilmelerinin tedavisinde ekspoz kök yüzeylerinin örtülmesi ile ekspoz dentin tübüleri oral çevreden izole edilmeye çalışılır. Bu amaçla kullanılan teknikler laterale kaydırılan greftler, serbest gingival greftler, bağ dokusu greftleri ve koronale repozisyone edilen greftlerdir. Yumuşak doku greftleri çok dikkatli bir tedavi planlaması gerektirir. Genellikle DH'nin tedavisinde yumuşak doku greftlerinin kullanımı ile elde edilecek tedavi sonuçlarının ön görülmesi mümkün olmamaktadır (55, 61).

C.7. Lazerler

Lazer uygulamasının DH'nin giderilmesindeki etki mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte Pashley'e göre lazer uygulaması, dentin tübül sıvısındaki plazma proteinlerinin çökmesine ve koagülasyonuna neden olabilir veya sinir uçlarının aktivitesini değiştirebilir (213). Lazerlerin DH giderici etkisi lazerin özelliklerine ve parametrelere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Şiddetli vakalarda lazer uygulamasının etkinliği azalmakla birlikte etkinliğinin %5.2-100 arasında olduğu bildirilmiştir (214).

Karbondioksit (CO₂) lazer uygulaması, DH tedavisinde etkin bir tedavi şeklidir (215, 216). CO₂ lazer uygulaması ile stanöz fluorür uygulamasının kombine edilmesi sonucu yapılan incelemelerde dentin tübüllerinde tam bir tıkanma belirlenmiştir (215). Neodimiyum: Yitriyum-Alüminyum-Garnet (Nd:YAG) lazer uygulaması da DH tedavisinde etkili bir yöntemdir (217, 218). Nd:YAG lazer, dentin yüzeyinde erimeye neden olarak ekspoz dentin tübüllerinde yaklaşık olarak 4 mikron derinliğinde tıkanmaya yol açar (219). Erbiyum:YAG lazer uygulaması da hem erken hem de uzun dönemde DH tedavisinde etkilidir (220, 221).

C.8. Homeopatik Tedaviler

-Propolis: Rezin, temel yağlar ve balmumu karışımından oluşur. Ayrıca aminoasit, mineraller, etanol, vitamin A, B, E kompleksi, polen, bioflavonoid içerir. Çok eski zamanlardan beri halk arasında faydalı etkilerinden ötürü kullanılmıştır. Propolis, dentin tübül tıkayıcı özelliği ile DH giderici etki gösterir (222, 223).

D. DENTİN HASSASIYETİNİN TEDAVİSİNDE YENİ GELİŞMELER

- ✓ Kalsiyum Silikat Patı
- ✓ DP-Biyocam Patı
- ✓ Mezoporoz Silika
- ✓ Nanobiyocam

-Kalsiyum Silikat Patı: Deneysel bir portland siman türevidir. Tübül oklüzyonu sağlayarak dentin geçirgenliğini azaltıcı etki gösterir. Portland simanın modifikasyonu ile elde edilen bu patın dentin yüzeyine uygulanması sonucu elde edilen tübül tıkaçları asit ataklara karşı dirençli olup SEM incelemelerinde 1-2 µm derinliğinde tıkaçların oluştuğu bildirilmiştir (158).

-DP-Biyocam Patı: DP-biyocam materyali %30'luk fosforik asitle karıştırılarak homojen bir pat elde edilmiştir. Bu patın dentin yüzeylerinde CO₂ lazer uygulanarak eritilmesi sonucu dentin tübüllerinde 60 µm derinliğinde etkin ve homojen bir tıkanma görülmüştür (224). DP-Biyocam Patı ile Nd:YAG lazerin kombine edilerek dentin yüzeyine uygulaması ile dentin tübüllerinin 2-10 µm'ye kadar tıkanabildiği yapılan SEM incelemelerde gösterilmiştir. DP-Biocom erime derecesi azaltılarak ve Nd:YAG lazer ile kombine edilerek DH'nin giderilmesinde klinik olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (225).

-Mezoporoz Silika: Nano boyutlu kalsiyum oksit partikülleri ile %30'luk fosforik asitin karıştırılması sonucu elde edilir. Yüksek oranda kalsiyum ve fosfat iyonları içerir. Bu patın dentin yüzeyine uygulanması sonucu iyonlar dentin tübüllerine çöker. 100 µm derinliğinde tıkaçlar oluşur. Oluşan tübül tıkaçları dentin tübüllerini etkin bir şekilde tıkar. Pulpal basıncı taklit eden durumlarda da etkinliğini devam ettirir (226).

-Nanobiyocam: Nanoboyutlu biyocam olup ($0.65 \pm 0.19 \mu\text{m}$) dentin yüzeyine uygulanması sonucu tübüllere sıkıca tutunan ve tübüllerden dışarıya doğru uzanan, 270 µm derinliğinde apatit rodları gözlenmiştir. Mikroboyutlu biyocam ($3.30 \pm 0.42 \mu\text{m}$) senteziyle de dentine sıkıca bağlanan bir apatit tabakası oluşturulur (227).

-Shellac F: Laccifer Lacca Kerr (lak böceği) isimli böcekten elde edilen doğal bir polimerdir. Suda çözünmeyen yüzeyel bir koruyucu film tabakası oluşturma özelliğinden ötürü ilaçların kaplanması için kullanılır (228). Ayrıca bazı pasifik ülkelerinde dental lak olarak da kullanılmaktadır. Son yıllarda Shellac'la ilgili bazı klinik çalışmalar yapılarak dental çürük önleyici etkisi ve DH giderici özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla 1997 yılında Shellac ve %5'lik sodyum florürden oluşan Shellac F geliştirilmiştir (229). Shellac F'in dentin geçirgenliği azaltıcı etkisi vardır. Ayrıca biyouyumluluğu nedeniyle potansiyel bir hassasiyet giderici ajan olarak kullanılabilir (230).

DH tedavisinde kullanılan çok sayıdaki ajanın sitotoksik potansiyeli bulunmaktadır. Çünkü bu ajanların pek çoğunun bileşiminde glutraldehit, HEMA, aseton, triklosan, metakrilat rezinler, benzathonyum klorid, polimerizasyon başlatıcılar, sodyum fluorür gibi bileşenler bulunmaktadır (231-237). Bu ajanlar servikal bölgede açığa çıkmış dentin nedeniyle gelişen hassasiyetin tedavisinde kullanılırken dişetiyle temas etmeleri muhtemeldir. Ayrıca dentin tübülleri aracılığıyla pulpa dokusuna ilerleyerek gerek dişeti dokusunda gerekse pulpal dokularda sitotoksik etki gösterebilirler. Bu nedenle bu ajanların biyouyumluluklarının bilinmesi oral çevrede güvenli kullanım açısından önemlidir.

2.4. BİYOUYUMLULUK

Biyoyumluluk, bir materyal canlı bir dokuya uygulandığında o materyale karşı uygun doku cevabının oluşmasıdır. Biyouyumlu olmayan materyallere karşı oluşan olumsuz doku reaksiyonları “toksisite” olarak değerlendirilebilir. Dental materyallerin toksisitesinin değerlendirilmesinde in vitro test metodları, hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalar kullanılmaktadır (238). In vitro testler biyouyumluluk değerlendirmesinde kullanılan diğer test metodlarına göre daha düşük maliyetli, daha hızlı sonuca varılan ve etik açıdan problem oluşturmayan testlerdir (239, 240). Bu nedenle in vitro sitotoksikite testleri materyallerin biyouyumluluk değerlendirmelerinde diğer zaman alıcı testlere oranla sıklıkla tercih edilmektedir (241).

2.4.1. In Vitro Sitotoksikite Testleri

In vitro sitotoksikite testleri bir materyalin vücut dokuları üzerine ve içine yerleştirildiğinde oluşan reaksiyonları taklit eden testlerdir. Bu testlerde, toksik maddelerin 12-24 saatlik ekspozür süresinden sonra hücreler üzerinde oluşturdıkları sınırlı etkiler belirlenebilir (239). Bu etkiler test maddelerine maruz kaldıktan sonra hücrelerde oluşan akut, subkronik etkiler ve canlı kalma süreleri gibi kantitatif etkilerdir (238). Toksik etkiler sonucunda hücre ölür ya da

hayatta kalır (242). Rezinlerin sitotoksitesinin incelendiği in vitro çalışmalarda primer hücreler olan insan periodontal ligament hücreleri ve pulpa fibroblastları, gingival fibroblastlar, odontoblast benzeri hücreler yanında (243-245) daimi hücreler olan 3T3 ve L-929 fare fibroblastları kullanılmıştır. Ayrıca primer ve immortalize edilmiş sığır dental papillasından türetilmiş hücreler de in vitro sitotoksiste çalışmalarında kullanılmıştır (233, 246-248).

In vitro testlerde doku kültür metodlarının bir teknik olarak kullanımının kabul edilmesinden yaklaşık 30 yıl sonra çeşitli sentetik materyallerin toksisite çalışmalarına başlanmıştır (242). 1950'li yıllarda Kawahara laboratuvarlarında hücre kültür metodları dental materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde kullanılmaya başlanmıştır (249). İlk kantitatif in vitro testlerden birisi krom-salınım deneyi olarak adlandırılan L-929 hücreleri ve insan epitelyal hücreleri kullanılarak yapılan membran geçirgenlik testidir. Bu testin amacı kültür ortamında sentetik materyal varlığında devital ve boyanan hücre sayısının belirlenmesidir. Fakat bu deney hücre ölümünü takiben membran geçirgenliğinin değerlendirilmesinde yetersiz kalmıştır (250). L-929 fare fibroblast hücreleri üzerine plastik materyallerin direkt olarak yerleştirilmesi ile yapılan toksisite değerlendirmesinin duyarlı bir test metodu olduğu belirlenmiştir (251). Daha sonra hücre tabakasının üzeri bir agar katmanıyla kaplanarak deneyin verimliliği artırılmıştır (247). Dental materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde, test materyali ile hedef hücreler arasında kontakt sağlanmalıdır. Bu temas, direkt kontakt ve indirekt kontakt şeklinde olabilir. Direkt temas testlerinde hücrelerle kültür ortamı direkt temas halindedir (238). İndirekt kontakt testlerinde ise hücrelerle test materyalleri arasında geçirgen bir bariyer mevcuttur. Örneğin; Agar difüzyon testinde bir agar tabakası, Milipore filtre metodunda ise milipore filtre bulunmaktadır. Dentin bariyer testinde ise test materyalleri ile kültür ortamı arasında dentin diski vardır (240).

a. Direkt Temas Testleri: Bu test yönteminde test materyalleri ile kültür ortamı fiziksel olarak temas halindedir. Suda çözülebilen materyaller direkt olarak kültür ortamına ilave edildiklerinde iyi bir hücre-materyal kontağı oluşturarak testin duyarlılığını arttıırırlar. Materyallerin farklı dilüasyonlarının test edilmesinde doz/sonuç etkileşiminin incelenmesi daha kolay olur (238). Direkt hücre-materyal kontağı esas olarak katı ve sertleşmiş materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde kullanılır. In vitro testlerde direkt hücre-materyal kontakt metodları kullanıldığından bazı in vivo koşulları taklit eder. Örneğin; dolgu-gingival dokuların direkt kontağı veya pulpal ekspozür durumlarında dolgu-pulpal dokular arasında direkt kontakt oluşumu gibi (240).

b. Agar Difüzyon Testi: İlk olarak Schmalz tarafından dental materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Bu teknikte, plastik bir kültür kabı içinde L-929 hücreleri üretilerek üzerleri agarla kaplanır. Agarın üzerine yerleştirilen toksik test materyali, agardan difüze olarak membran geçirgenliğine neden olur. Agardan difüze olan materyalin sitotoksitesinin belirlenmesi amacıyla ortama verilen nötral kırmızı boyanın hücre membranından geçirgenlik artışına bağlı olarak hücrede birikmesine göre sitotoksite değerlendirilir (248). Agar difüzyon deneyinde sadece suda çözünen maddeler agar tabakasından difüze olabilir. Materyallerin bazı bileşenleri agar tarafından absorbe edildiğinden hedef hücrelere materyal ve bileşenlerin ulaşması risklidir. Bu nedenle agarın difüzyon özelliğinin artırılması için agaroz kullanılarak metodun duyarlılığı artırılmaya çalışılır (247).

c. Milipore Filtre Metodu: Wennberg ve ark. Milipore filtre metodu kullanarak insan epitel hücreleri ve fare L-929 hücrelerini filtre kâğıdı üzerinde üretmişler ve test örneklerini hücrelerden moleküler bir filtre ile ayırmışlardır. Filtre katılaştırılmış agar ortamına yerleştirilerek test örnekleri filtrenin üzerine yerleştirilir. Bu test metodunda membran geçirgenliği ve süksinil dehidrogenaz aktivitesi kullanılarak hücre canlılığı ölçülmektedir. Milipore filtre ince (125 μm) olduğundan ve hücreler porlarda üreyebildiğinden bu test metodunda test materyalleriyle hücreler arasında yaklaşık olarak direkt kontakt sağlanır. Böylece test materyallerinden sızabilen tüm materyaller ve hedef hücrelere ulaşmaktadır (252).

d. Dentin Bariyer Testi: Sitotoksite testlerinde bariyer olarak dentinin kullanılması ilk defa Tyas tarafından gerçekleştirilmiştir (253). Daha sonra, Meryon (254), Hume (255) ve Hanks (256) insan 3. molarlarından elde ettikleri dentin disklerini kültür ortamı ile test örnekleri arasına yerleştirdikleri split-chamber aletini modifiye ederek sitotoksite deneyleri gerçekleştirmişlerdir. Stanley, sitotoksite konsantrasyonlarının ölçümü için en uygun dentin kalınlığının 0.5 mm olduğunu bildirmiştir (257). Pashley ve ark., moleküllerin boyut ve konsantrasyonu, dentin tübül yoğunluğu, tübül çapı ve tübül uzunluğu ile sıcaklık gibi dentin tübüllerinde difüzyonu etkileyen faktörleri belirlemişlerdir (258, 259). Araştırmacılar tekli ve çok ortamlı split-chamber aleti kullanarak pek çok çalışma yayınlamışlardır. İlk olarak geliştirilen çok ortamlı split-chamber aletinde benzer kalınlıkta ve hidrolik iletim değerine sahip 12 adet insan molar dişi kullanılmıştır. Böylece hem moleküllerin difüzyonu hem de sitotoksitesi aynı anda ölçülmeye çalışılmıştır (260). Daha sonra bu çoklu split-chamber aletinin kullanışsız olduğu ve 2 aşamalı bir cihazın daha kesin sonuçlar vereceği bildirilmiştir.

Bu aşamalar ilk olarak biyolojik etkilere neden olan konsantrasyonların ve farklı koşullar altında materyalin dentinden difüze olabilme özelliğinin belirlenmesidir. Örneğin; smear tabakası varlığında veya pozitif ve negatif pulpal basınç altında difüze olabilme özelliği gibi (239).

Schmalz, L-929 fare fibroblastlarını kullanarak farklı bir dentin bariyer modeli belirlemiştir. Bu modelde sıgır dentin disklerinin pulpal yüzeyinde L-929 fare fibroblastları üretilmiş ve dentin disklerinin koronal kısmına uygulanan test materyalinin 24 saat süreyle inkübasyonundan sonra dentin diskinin pulpal yüzeyinde kalan canlı hücre sayısının belirlenmesi için floresan boyalar kullanmıştır. Farklı fenol konsantrasyonları ve farklı dentin kalınlıkları kullanıldığında dentin kalınlığı farklı sitotoksik etkiler oluşturmuştur (261). Dentin bariyer testlerinin kullanılmasıyla ilgili bazı problemler mevcuttur. Örneğin; farklı dentin diskleri arasında geçirgenlik farkının olması, sınırlı sayıda uygun insan dentininin elde edilmesi (262), farklı dentin bariyer modelleri arasındaki farklılıklar, dentin bariyerinden difüze olabilen materyal gibi hacminin azalması, farklı hücre tiplerinin oluşturduğu pulpal cevaplar arasındaki farklılıklar (örneğin odontoblastlar, preodontoblastlar, fibroblastlar, daha az diferansiye olmuş mezenşimal hücreler, endotelial hücreler...) (239).

Sıgır dentini, insan dentinine benzer hidrolik iletim özelliklerine sahip olması ve sınırsız sayıda elde edilebilmesi nedeniyle dentin bariyer testlerinde kullanılmaktadır (240). DHGA'nın sitotoksik etkisinin incelenmesinde direkt kontakt testleri ve dentin bariyer testleri kullanılmıştır (230, 263, 264). DHGA dişlerin servikal bölgelerine uygulanırken dişeti dokusu ile direkt temas halindedir. Piyasadaki rezin içeren DHGA'nın bazıları dentin bonding ajanlarla benzer içeriklere sahiptir. Bonding ajanlar dişetine uygulandıktan sonra oral mukoza üzerinde patolojik değişimlere neden olmuştur (265). Bunun yanında farklı hücre kültür çalışmalarında bonding ajanların fibroblast hücrelerine direkt temas halinde zararlı etkileri bildirilmiştir (266). Fakat DHGA'nın sitotoksik etkisiyle ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (266, 270, 271). Bunun yanında DHGA oral bakteriyel mikroorganizmaların gelişimini inhibe edebilmektedir (267). Yüksek konsantrasyonda HEMA içeren DHGA insan gingival hücrelerinin mitokondriyal fonksiyonlarını etkileyip hücre gelişimini inhibe etmektedir (231, 268). Pek çok DHGA'nın bileşiminde bulunan HEMA'nın kültüre edilmiş insan epitel hücreleri ve pulpal fibroblastlar üzerinde anormal morfolojik gelişime ve hücre çoğalmasının inhibisyonuna neden olduğu bildirilmiştir (231). Ayrıca DH tedavisinde macunlara, gargaralara ilave edilerek sıklıkla kullanılan fluorür bileşiklerinin de sitotoksik etkileri bilinmektedir (269, 270). Fluorür özellikle insan pulpa hücrelerinin protein sentezi ve

mitokondriyal aktiviteleri üzerinde baskılayıcı etki göstermektedir (271). Dentin geçirgenliğini azaltıcı özelliğinden ötürü hassasiyet gidericilerin bileşimine ilave edilen glutaradehitin protein yapıları koagule edici özelliği vardır (164). Okzalat tuzları da MDCK (köpek böbrek hücreleri) için toksik olup hücre yıkım ürünleri oluşturduğu bilinmektedir (272).

Toplumda oldukça yaygın olarak görülen DH'nin tedavisinde kullanılmak amacıyla piyasada çok sayıda ve farklı etki mekanizmasına sahip olan DHGA mevcuttur. Bu ajanların pek çoğunun yapısına ilave edilen ve sitotoksik potansiyeli olan bileşenlerin DHGA'nın sitotoksitesini nasıl etkileyeceğinin bilinmesi diş ve dişeti sağlığı kadar genel sağlığa etkisi açısından da önemlidir.

Bu tez çalışmasında ilk olarak, DHGA'nın insan dişeti bağ dokusu hücreleri (gingival fibroblastlar) ve pulpa hücreleri (pulpal fibroblastlar) üzerindeki sitotoksik etkilerinin incelenmesi planlandı.

Dentin yüzeyine uygulanan hassasiyet giderici ajanlar, sonrasında yapılacak bir adeziv restorasyonun dentine bağlanma dayanımını etkileyebilir. Bu nedenle hassasiyet giderici bir ajanın rezin-dentin bağlanma dayanımına etkisinin bilinmesi klinik başarı açısından önemlidir. Tez çalışmasının 2. aşamasında DHGA'nın bir self etch adezivin dentine bağlanma dayanımına etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

3. MATERYAL VE METOD

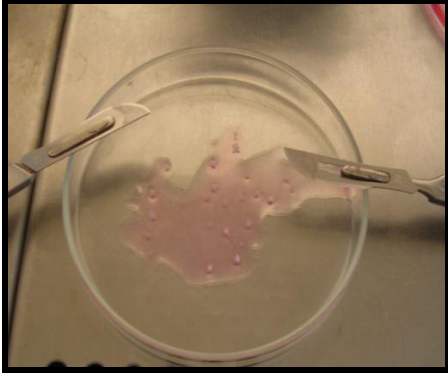
Bu tez çalışması Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bilimsel Araştırmaları Değerlendirme Komisyonu'nda 2010/82 dosya numarası ile 29.11.2010 tarihinde onaylandı. Çalışmanın materyal ve metodu iki aşamadan oluşmaktadır. İlk olarak DHGA'nın insan gingival ve pulpal fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksitesinin incelenmesi amacıyla yapılan deneyler Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi. İkinci olarak DHGA'nın rezin-dentin bağlanma dayanımına etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan makaslama bağlanma dayanımı deneyleri ve SEM incelemeleri Karadeniz Teknik Üniversitesi, Makine Mühendisliği Fakültesi laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Tüm deneylerde kullanılan dentin örnekleri Karadeniz Teknik Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Araştırma Laboratuvarında hazırlandı.

3.1. Hücre Kültürü Çalışması

İnsan gingival fibroblastları hastalardan bilgilendirilmiş onam alındıktan sonra 16-20 yaşındaki 3 farklı sağlıklı bireyin ortodontik tedavi amaçlı fakültemiz Cerrahi Kliniği'nde yeni çekilen premolar dişlerinin üzerinde kalan gingival doku artıklarından elde edildi. İnsan pulpal fibroblastlar ise 16 yaşındaki bir bireyin yeni çekilmiş, sürmemiş 3. büyük azı dişinden elde edildi. Çekilen diş vertikal olarak mezyodistal yönde bir separe yardımıyla ayrıldıktan sonra pulpa dokusu bir küret yardımıyla pulpa odasından ayrıldı. Doku parçaları taşıma solüsyonu olarak hazırlanan vasat [%10'luk fetal sığır serumu (FBS), 200 U/ml penisilin, 200 ug/ml streptomisin, 50 ug/ml fungizon katkılı Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM)] içerisine aktarıldı ve aşağıda belirtildiği gibi işlenmek üzere laboratuvara taşındı.

3.1.1. Doku Parçalarından Fibroblast Hücre Üretimi ve Çoğaltılması

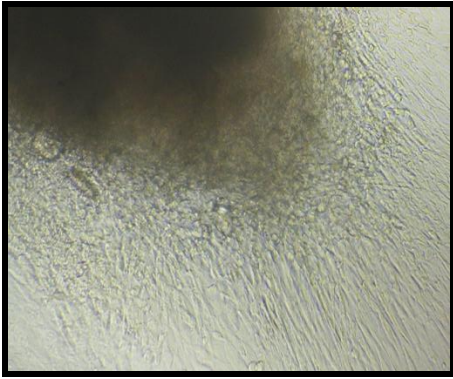
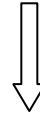
Doku parçaları steril şartlarda bistüri yardımıyla milimetrik parçalara ayrıldıktan sonra T75 hücre kültür kabının iç kısmında tabana belli aralıklarla yerleştirildi (Resim1a-e).



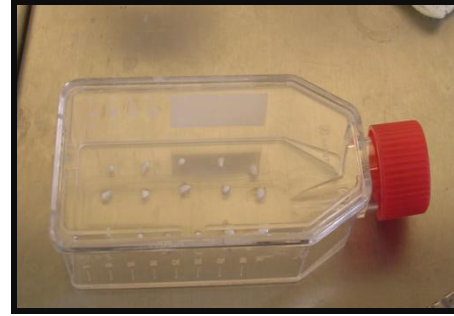
Resim 1.a. Gingiva / pulpa dokusunun küçük parçalara ayrılması



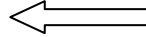
Resim 1.b. Dokulardan elde edilen küçük parçaların kültür kabına ekilmesi



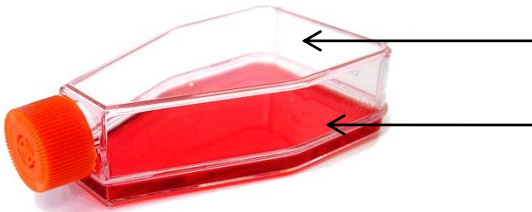
Resim 1.d. Kültür kabı yüzeyine yapışan dokulardan 10-15 gün içerisinde filizlenen hücre tabakası (P0)



Resim 1.c. Doku parçalarının kültür kabındaki görünümü



Hücre tabakasının tripsinizasyonla kaldırılıp hücre süspansiyonu hazırlanması ve T75 kültür kabına ekilmesi (P1)



Resim 1.e. T 75 kültür kabı

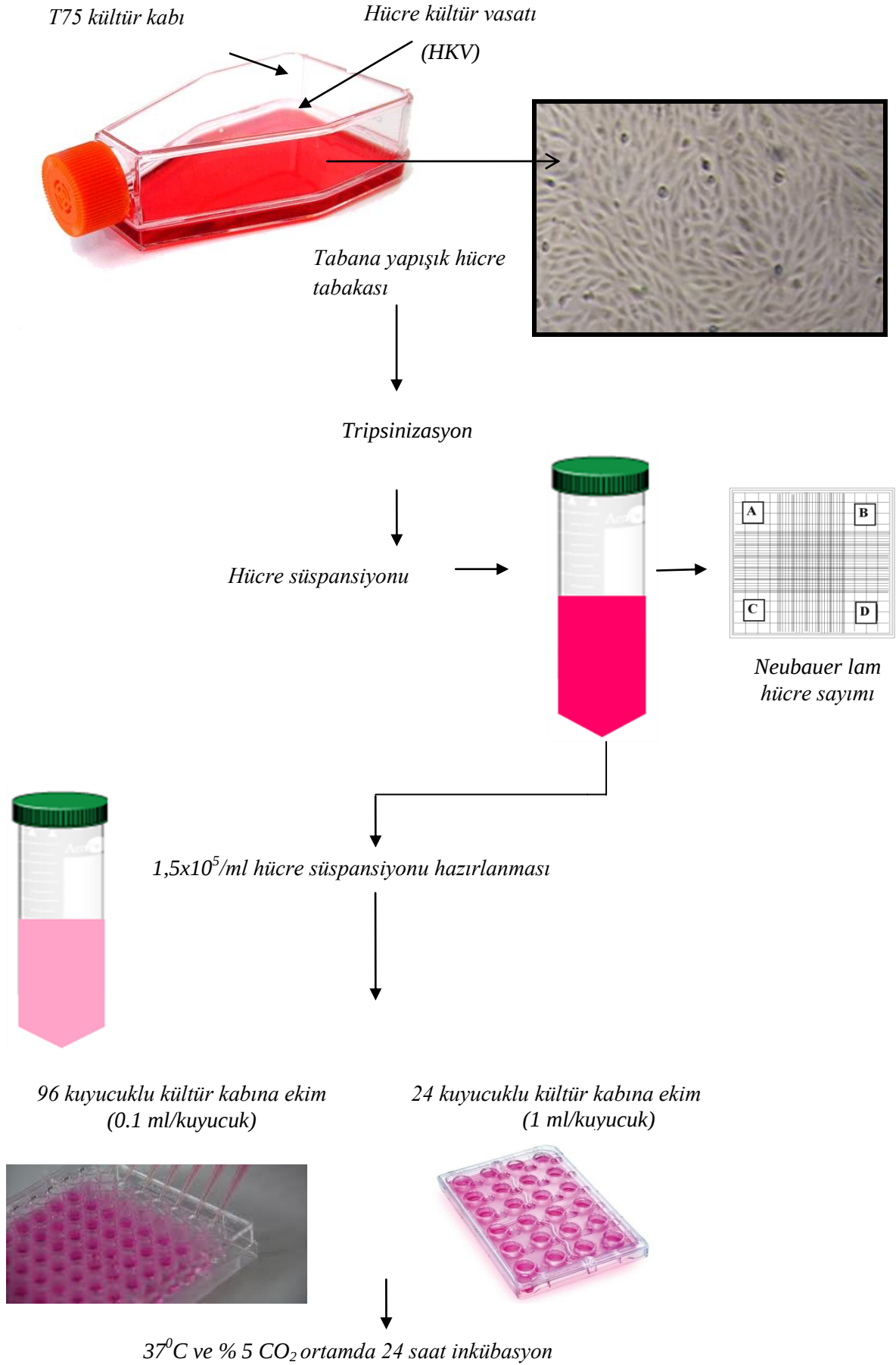
% 10'luk FBS katkılı EMEM hücre kültür vasatı (HKV)

Resim 1.a-e. Gingival/pulpal doku parçalarından fibroblast hücre kültürü elde edilmesi ve çoğaltılması aşamaları

Doku parçalarının kurumaması için üzerlerine bir miktar %10'luk FBS içeren EMEM hücre kültür vasatı (HKV) dikkatlice eklendi. Kültür kabı 37 °C, %5 CO₂ inkübatörde 24 saat bekletildi. Süre sonunda doku parçaları üzerine tüm yüzeyi kapatacak kadar HKV ilave edildi ve tekrar inkübatöre yerleştirildi. 10-15 gün sonra ters mikroskop altında incelenen doku parçaları etrafında fibroblast üremesi kaydedildi. Tek tabaka halinde üreyen hücreler belli bir yoğunluğa ulaştığında fosfat tamponlu serum fizyolojik (FTSF) ile 2 kez yıkandı. Hücreleri süspansiyon haline getirmek için ortama FTSF içerisinde hazırlanmış %0.25'lik tripsin ilave edildi. Yapıştıkları yüzeyden ayrılan hücreler üzerine HKV ilave edilerek tripsin aktivitesi durduruldu ve hücreler pastör pipeti ile süspanse edildi. Pasaj sıfır (P0) ortamdan elde edilen hücreler T75 hücre kültür kabına aktarıldı. HKV ilave edilerek 37 °C, %5 CO₂ inkübatörde kültür kabı tabanı %80-90 oranında kaplanıncaya kadar bekletildi (Resim1a-e). Elde edilen hücreler 1. pasaj olarak adlandırıldı. Çalışmada kullanılmak üzere daha fazla hücre elde etmek için hücreler tripsinizasyon ve tekrar T75 kültür kaplarına ekim usulü ile çoğaltıldı.

3.1.2. Fibroblast Kültürlerinin 24 ve 96 Kuyucuklu Kültür Kaplarında Üretilmesi

DHGA'nın gingival veya pulpal fibroblastlar üzerine toksik etkileri, yukarıda tarif edildiği gibi çoğaltılan hücrelerin 3-4. pasajları (P3-P4) kullanılarak test edildi. Bu amaçla; önce hücreler HKV içeren T75 kültür kaplarında %90 oranında tek tabaka oluşturana kadar 37 °C, %5 CO₂ ortamında üremeye bırakıldı. Kültür kaplarında tek tabaka olarak üreyen hücreler %0.25 tripsin ile kaldırılıp HKV içerisinde süspanse edildi. Hücre süspansiyonu mililitresinde $1,5 \times 10^5$ olacak şekilde sulandırıldıktan sonra hücre kültür kaplarına dağıtıldı (Şekil 1).



Şekil 1. Fibroblast hücrelerinin 96 veya 24 kuyucuklu kültür kaplarına ekilmesi

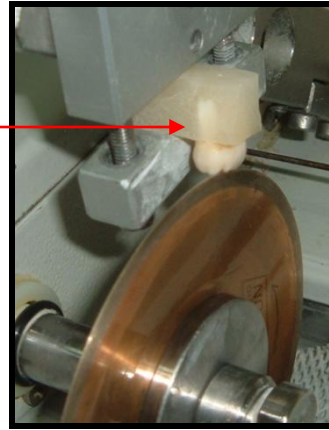
3.2. Dentin Disklerinin Hazırlanması

Dentin bariyer testinde kullanılmak üzere dentin disklerinin hazırlanması için 130 adet çürüksüz, insan üçüncü molar dişi kullanıldı. Çekimi takiben en çok 3 ay içinde kullanılan dişler, yumuşak doku artıkları ve eklentiler uzaklaştırıldıktan sonra kullanılabilecek kadar +4 °C’ de, timol içeren sodyum azid solusyonu içerisinde saklandı.

Dişler bukkal yüzeylerinden başlanarak vertikal olarak mezyodistal yönde 0.5 ± 0.05 mm ve 1 ± 0.05 mm’lik dentin örnekleri elde edilecek şekilde düşük hızda çalışan hassas kesme cihazı (Micra Cut 125, düşük hızlı hassas kesme cihazı, Metkon, Bursa) ve 0.38 mm kalınlığındaki bir elmas separe (Diatech 910D; Coltène/Whaledent AG, Altstätten, Switzerland) yardımı ile su soğutması altında kesilerek dentin diskleri elde edildi (Resim 2, 3).

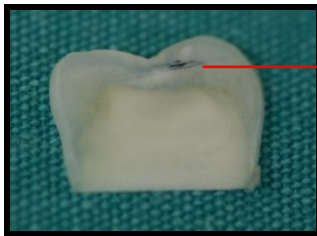


Resim 2: Düşük hızlı hassas kesme cihazı



Resim 3: Dişlerin elmas separe ile mezyodistal yönde kesilmesi

Elde edilen dentin örneklerinden pulpaya en yakın olan fakat pulpa dokusu içermeyen örnekler çalışmaya dahil edildi. Disklerin bukkal ve pulpal yüzeylerinin karışmaması için dentin disklerinin pulpal yüzeylerine işaret konuldu (Resim 4).



Dentin disklerinin bukkal ve pulpal yüzeylerinin karışmaması için pulpal yüzeyleri işaretlendi.

Resim 4: Pulpaya en yakın fakat pulpa dokusu içermeyen dentin diski

3.3. Sitotoksitenin Belirlenmesi

Smear tabakasının kaldırılması amacıyla dentin yüzeyine 2 dakika boyunca %17'lik EDTA uygulandı. Beş dakika boyunca musluk suyu altında yıkandı. Diskler tekrar işaretlendikten sonra kullanılacağı zamana kadar serum fizyolojik solusyonu içinde bekletildi.

3.3.1. Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Sitotoksite Testi için Hazırlanması

Gingival ve pulpal fibroblastlar üzerindeki toksik etkileri incelenen DHGA (Resim 5), bileşimleri, üretici firmaları ve üretim numaraları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2: Çalışmada kullanılan dentin hassasiyet giderici ajanlar, içerikleri, üretici firmaları ve üretim numaraları

Grup	Test Maddesi	İçeriği	Firma Adı	Üretim No
1	Smart Protect	Antibakteriyel içeriğe sahip aköz alkolik solüsyon (%2-10 glutraldehit ve %20-30 izopropil alkol) ve %0.14 fluorür	Detax, Ettlingen, Germany	090201
2	Systemp Desensitizer	%5 glutraldehit, <%0.1 maleik asit, polietilen glikol dimetakrilat, su	Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Lichtenstein	M74246
3	Seal&Protect	Di ve tri metakrilat rezin, PENTA, fotoinitiatörler, bütiled hidroksitoluen, cetilamin hidrofluorür, triklosan, aseton, silika	DentsplyDetrey, Konstanz, Germany	0906004007
4	Aqua-Prep F	%10-30 HEMA ve %1-2 NaF	Bisco Inc., Schaumburg, IL, USA	1000004372
5	Isodan	%0-40 HEMA, %0-0.5 NaF, %0-5 potasyum nitrat, tatlandırıcılar, gliserol	Septodont, St. Maur des Fosses, Cedex, France	46061
6	Gluma	%35 HEMA, %5 glutraldehit, su	Heraeus Kulzer GmbH& Co, Hanau, Germany	010092
7	BisBlock	<%5 Okzalik asit, potasyum tuzu, su	Bisco Inc, Schaumburg, IL, USA	1000003731
8	UltraEZ	%3 Potasyum nitrat, %0.11 fluorür	Ultradent, South Jordan, Utah, USA	53
9	D/Sense Crystal	%2.5 potasyum diokzalat, %2.5 nitrik asit	Centrix, Shelton, USA	91749
10	Colgate Sens. Pro-Relief	L-Arjinin, kalsiyum karbonat, gliserin, su, bikarbonat, hidrate silika, sodyum sakkarin	Colgate-Palmolive Co, New York, USA	9323201110
11	Topex Topikal A.P.F. Jel	%2.7 NaF, sodyum sakkarin, kaolin, gliserin	Sultan Healthcare, New Jersey, USA	0513100519
12	Clinpro White Varnish	%5 NaF	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	M13340



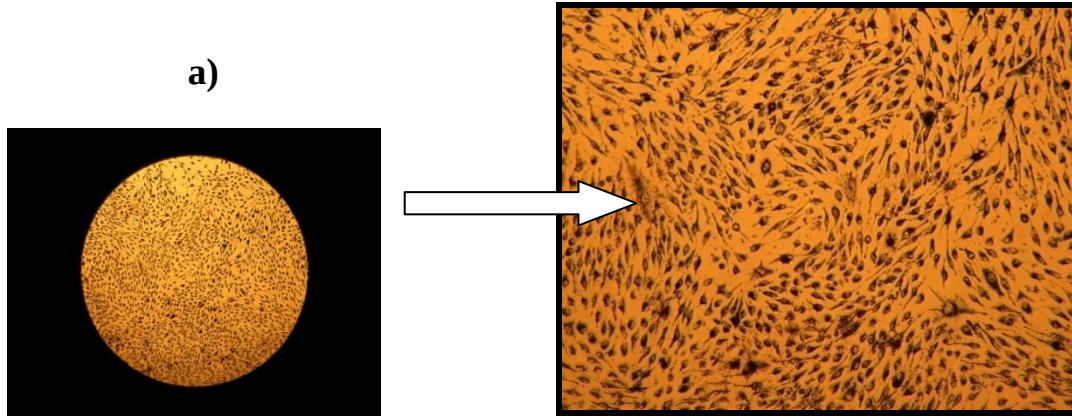
Resim 5: Çalışmada kullanılan dentin hassasiyet giderici ajanlar

DHGA içerisinde sıvı/yarı sıvı olanlar yani Smart Protect (Grup1), Systemp Desensitizer (Grup 2), Seal&Protect (Grup 3), Aqua-Prep F (Grup 4), Isodan (Grup 5), Gluma (Grup 6), BisBlock (Grup 7), D/Sense Crystal (Grup 9) doğrudan HKV içerisinde %50, %20, %10 ve %1 oranlarında sulandırılarak kullanıldı. Katı/yarı katı olanlar yani UltraEZ (Grup 8), Colgate Sensitive Pro Relief (Grup 10), Topex (Grup 11), Clinpro White Varnish (Grup12) için ise literatürde tarif edildiği gibi (230) önce 0,1 veya 1 g miktarlarda tartıldı. Bir veya 10 mililitre kültür vasatı içerisine aktarıldı. Vorteksleme işleminden sonra 37 °C, %5 CO₂ ortamda 24 saat bekletildi; 0.45 µm filtreden geçirildikten sonra HKV içerisinde %50, %20, %10 ve %1 oranlarında sulandırıldı. Bu çalışmada DHGA uygulama talimatlarına bakılmaksızın direkt olarak testlerde kullanıldı.

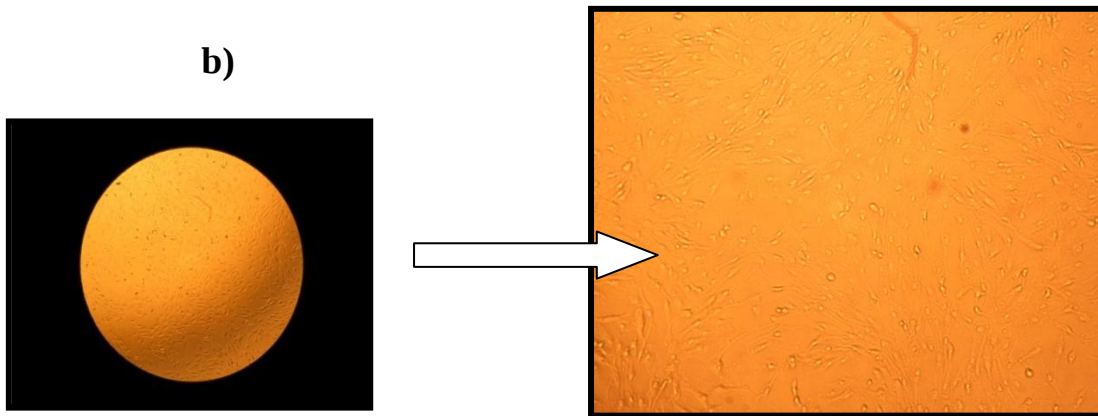
3.3.2. MTT Testi

DHGA'nın hücreler üzerine toksik etkisi MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolyum bromid] maddesi (Sigma, USA) ile değerlendirildi. Bu yöntemde bir tetrazolyum

tuzu olan MTT boyasının canlı hücreler tarafından indirgenmesi özelliğinden yararlanılır: Canlı hücrelerin mitokondriyal enzimleri MTT boyasının tetrazolyum halkasını parçalayarak sarı renkli MTT boyasını mor renkli formazan ürününe dönüştürür (Şekil 2.a-b). Hücre içerisinde tutulan formazan kristalleri dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözündürüldüğünde oluşan renk yoğunluğu 570 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk yoğunluğu ortamdaki canlı hücre sayısı ile orantılıdır (273).



Şekil 2.a. MTT ile boyanan canlı (a) hücrelerin mikroskopik görüntüsü. Canlı hücrelerin MTT boyasını indirgemesiyle hücre içinde oluşan formazan kristaller



Şekil 2.b. MTT ile boyanan ölü hücrelerin mikroskopik görüntüsü.

3.3.3. Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Gingival Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksitesinin Belirlenmesi

DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki toksik etkileri 96-kuyucuklu kültür kaplarında üretilen tek tabaka hücreler üzerinde değerlendirildi. Hücre süspansiyonu mililitresinde $1,5 \times 10^5$ olacak şekilde sulandırıldıktan sonra 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına 100'er µl şeklinde dağıtıldı. 24 saat sonra kültür vasatı dökülüp üzerlerine HKV ile hazırlanan DHGA'nın FBS içermeyen EMEM ile yapılan sulandırmalarından (%50, %20, %10, %1) her bir sulandırma için 4 kuyucuk olacak şekilde eklendi. Test maddesi içermeyen sulandırma vasatının ayrı kuyucuklara eklendiği kültür kabı 37 °C, %5 CO₂ içeren ortamda 24 saat bekletildi. Süre bitiminde kültür kabının içeriği boşaltıldıktan sonra kuyucuklar FTSF ile yıkandı. Kuyucuklara FBS içermeyen EMEM eklendi ve 37 °C, %5 CO₂ içeren ortamda 10 dakika beklendi. Süre sonunda kabın içeriği boşaltılıp kuyucuklara 100'er µl FBS içermeyen EMEM daha sonra da MTT (5 µl/kuyucuk) boyası eklendi ve 37 °C, %5 CO₂ içeren ortamda 2 saat beklendi. İnkübasyondan sonra boya döküldü ve kuyucuklarda kalan sıvı, kültür kabının alt kısmından tutularak kâğıt peçete üzerine hafifçe vurmak suretiyle giderildi. Canlı hücreler tarafından metabolize edilip hücre içinde tutulan formazan kristallerinin çözülmesi için kuyucuklara 100'er µl DMSO eklendi ve kültür kabı sallayıcısı üzerinde 15 dakika çalkalandı. Mikroskop altında hücre içi boya kristallerinin tamamen eridiği kontrol edildikten sonra renk yoğunluğu ELISA okuyucusunda 570-630 nm dalga boyunda ölçüldü. Bu deney 2 kere yapıldı. Her bir konsantrasyon için elde edilen optik yoğunluk değerlerinin ortalaması alındı.

3.3.4. Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Farklı Kalınlıklardaki Dentin Bariyeri Kullanıldığında Pulpal Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksitesinin Belirlenmesi

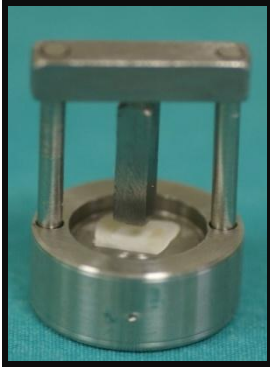
-Dentin Bariyerinin Yerleştirileceği Silikon Kalıpların Hazırlanması

Dentin disklerinin 24 kuyucuklu kaplara stabil bir şekilde yerleştirilip pulpal fibroblast hücrelerine temas edebilecek ve disklerin üzerine DHGA'nın uygulanmasına izin verecek bir aparey tasarlandı (Resim 6, 7).

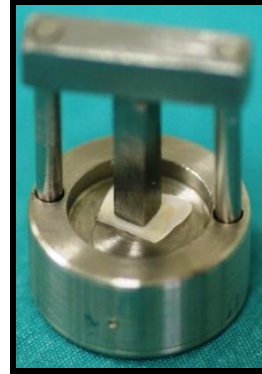


Resim 6, 7: Dentin disklerinin yerleştirilmesi için tasarlanan aparat

Bu aparatın çapı 24 kuyucuklu hücre kültür kabının bir kuyucuğunun çapının ölçüsünde hazırlandı. Ayrıca bu aparatın üst kısmının ortasında, tabanı 3x3 mm boyutlarında olan bir metal çubuk tasarlandı (Resim 6, 7). 0.5 mm ve 1 mm kalınlığındaki dentin disklerinin işaretli olan pulpal yüzeyleri aparatın alt kısmına temas edecek ve aparatın üst kısmındaki metal çubuğun tam altına gelecek şekilde yerleştirildi (Resim 8, 9).



Resim 8: Dentin diskinin pulpal yüzeyinin aparatın tabanına temas edecek şekilde yerleştirilmesi.

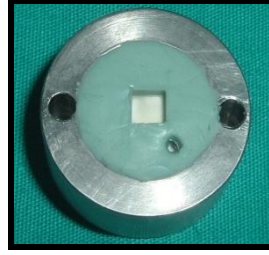


Resim 9: Dentin diskinin aparatın üst kısmıyla tam temasının sağlanması

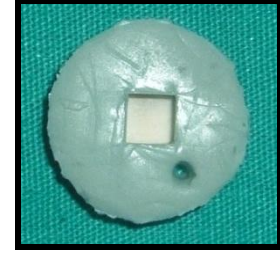
Sonra hidrofilik vinil silikon ölçü maddesi (Bisico S1, Bisico Bielefelder Dentalsilicone GmbH, Bielefeld, Germany) ile çubuğun etrafı tamamen dolduruldu. Elde edilecek kalıpların kolaylıkla preselle tutulup 24 kuyucuklu kaba yerleştirilebilmesi amacıyla ölçü maddesi sertleşmeden kenarında bir el aleti yardımıyla küçük bir delik açıldı (Resim 10). Ölçü maddesinin sertleşmesinden sonra kalıbın üst kısmı çıkarıldı (Resim 11). Böylece ortasında 3x3 mm'lik dentin örneği sabitlenmiş olan 3 mm yüksekliğinde kalıplar hazırlandı (Resim 12).



Resim 10: Hidrofilik vinil silikon ölçü maddesi ile metal çubuğun etrafının tamamen doldurulması



Resim 11: Ölçü maddesinin sertleşmesinden sonra kalıbın üst parçasının çıkarılması

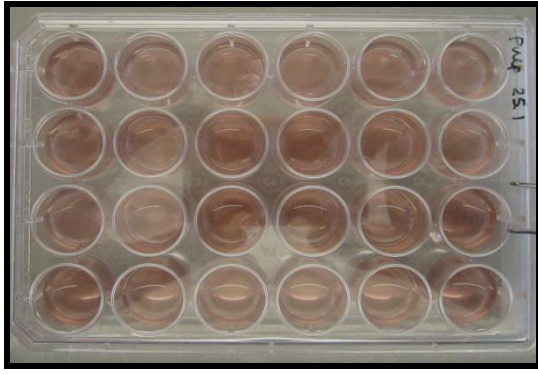


Resim 12: 3x3 mm'lik dentin örneğinin içine sabitlendiği 3 mm yüksekliğindeki silikon kalıplar

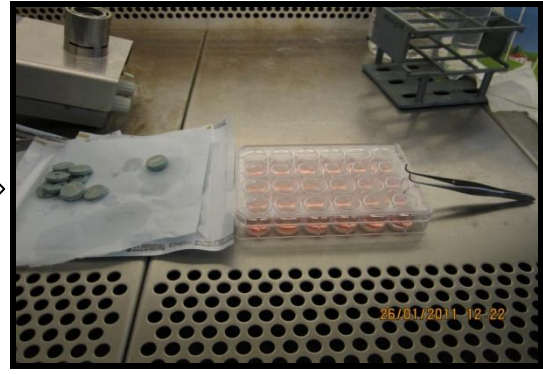
Dentin diskinin ölçü maddesi ile birleşim sınırı pulpal taraftan dental mumla hermetik şekilde kapatıldı. Yapılan kontrollerde dentin diski ile ölçü maddesi arasında sızıntı olmadığı tespit edildi. Aynı kalınlıktaki dentin diskleri kendi içinde rastgele 13 gruba ayrıldı ve her bir gruptan 5 örnek olacak şekilde aparey yardımıyla silikon kalıplara yerleştirildi. Bu şekilde elde edilen silikon kalıplar içindeki 0.5 mm ve 1 mm kalınlığındaki toplam 130 adet dentin diski etilen oksit gazı ile sterilize edildi.

DHGA'nın pulpal fibroblastlar üzerindeki toksik etkileri 24 kuyucuklu kültür kaplarında üretilen tek tabaka hücreler üzerinde değerlendirildi. Bu amaçla; önce hücreler HKV kullanılarak T75 kültür kaplarında %90 oranında tek tabaka oluşturana kadar 37 °C'de, %5 CO₂ içeren ortamda üremeye bırakıldı. Hücreler %0.25 tripsin ile kaldırılıp HKV içerisinde süspanse edildi ve mililitresinde $1,5 \times 10^4$ olacak şekilde sulandırıldıktan sonra 24 kuyucuklu hücre kültür kaplarına 1'er mililitre dağıtıldı. 24 saat sonra kuyucuklara 0.5 ve 1 mm kalınlığında hazırlanan dentin diskleri yerleştirildi (Resim 13.a-d).

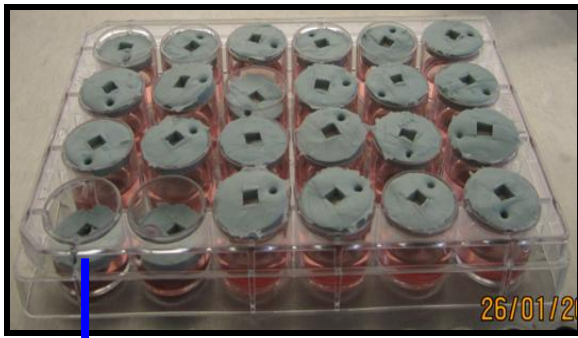
Kalıplar üst kısımlarından pense yardımıyla kuyucuk içine doğru kültür vasatı ile tam temas sağlanana kadar dikkatlice itildi. Her bir test maddesi sulandırılmaları yapılmadan (sıvı halde olanlar mikropipet, katı olanlar fırça yardımıyla) silikon kalıplar üzerindeki hazneyi tam dolduracak miktarlarda yerleştirildi.



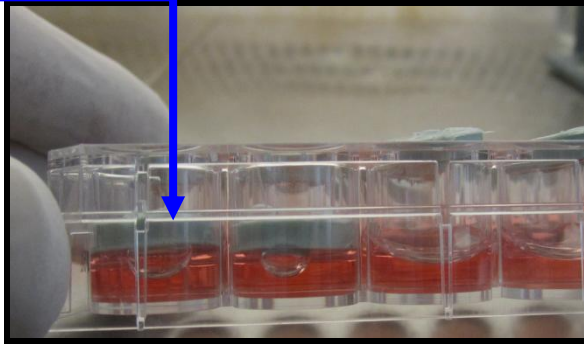
Resim 13.a



Resim 13.b



Resim 13.c

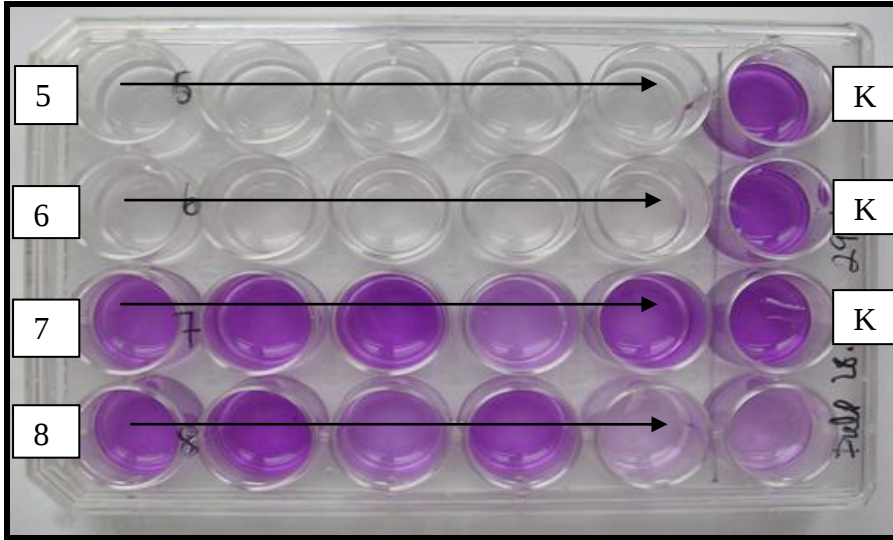


Resim 13.d

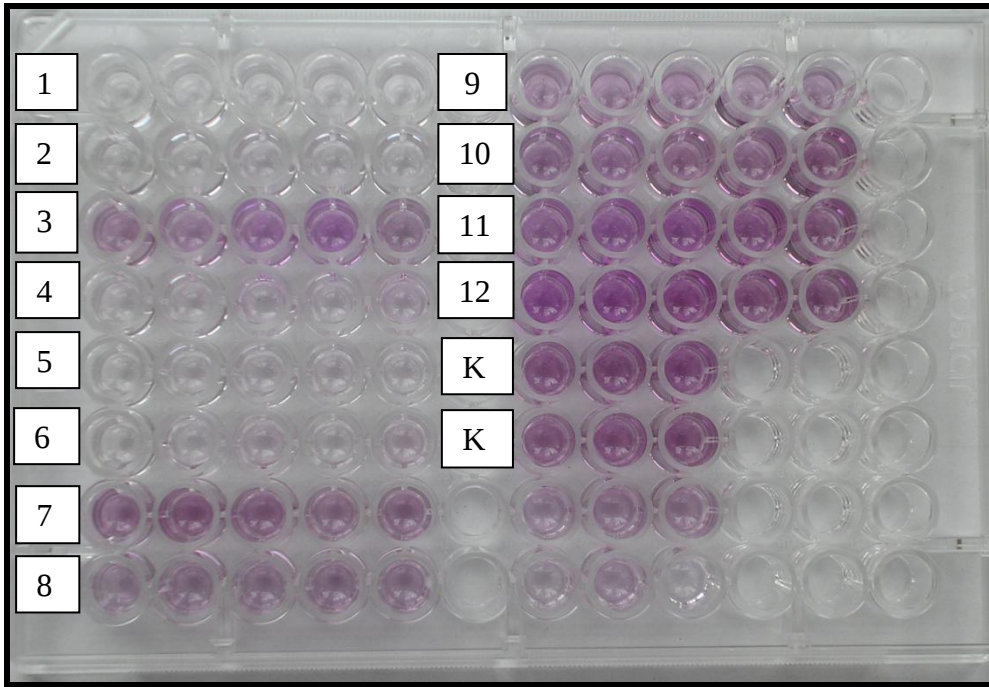
Resim 13.a-d. 24 kuyucuklu kapta dentin disklerinin pulpal fibroblast hücre tabakası içeren kültür kaplarına yerleştirilmesi

Kültür kabı 37 °C, %5 CO₂ içeren ortamda 24 saat bekletildi. Süre bitiminde kalıplar pens yardımıyla çıkartılıp atıldı. Kuyucuk içeriği (daha sonra 96 kuyucuklu kaplarda üretilen pulpal fibroblastlar üzerinde direkt toksik etkilerini değerlendirmek için) ayrı ayrı alınarak eppendorf tüplere konuldu. Kuyucuklar FBS ile 2 kez yıkandıktan sonra her birine FBS içermeyen EMEM eklendi ve 37 C, %5 CO₂ içeren ortamda 10 dakika bekletildi. Süre

sonunda kabın içeriği boşaltılıp kuyucuklara 0,5'er mililitre FBS içermeyen EMEM daha sonra da MTT (25 µl/kuyucuk) boyası eklendi. 37 °C, %5 CO₂ içeren ortamda 2 saatlik inkübasyondan sonra boya döküldü ve kuyucuklarda kalan sıvı kültür kabının alt kısmından tutularak kâğıt peçete üzerine hafifçe vurmak suretiyle giderildi. Canlı hücreler tarafından metabolize edilip hücre içinde tutulan formazan kristallerinin çözülmesi için kuyucuklara 0,5'er ml DMSO eklendi ve kültür kabı sallayıcısı üzerinde 15 dakika çalkalandı. Mikroskop altında hücre içi boya kristallerinin tamamen eridiği kontrol edildikten sonra optik renk yoğunluğunu ölçmek için her bir kuyucuktan 0,1 mililitre alınarak düz tabanlı boş bir 96 kuyucuklu kaba aktarıldı (Resim 14.a-b). Spektrofotometrede 570-630 nm dalga boyunda optik renk yoğunluğu ölçüldü.

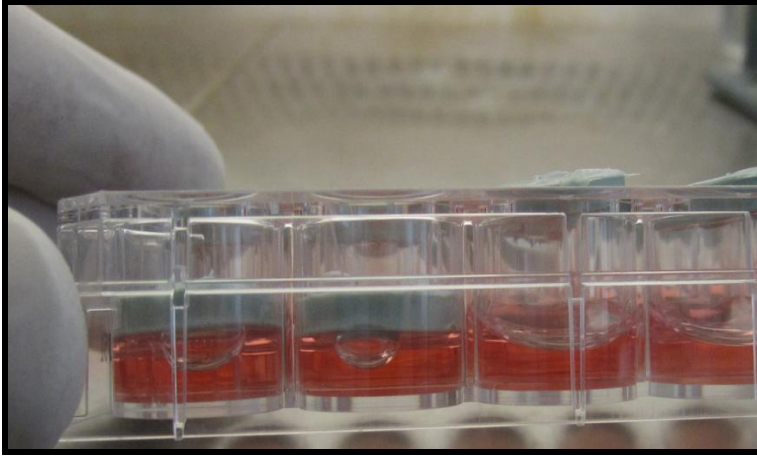


Resim 14.a. DHGA'nın dentin diskinden geçerek 24 kuyucuklu kültür kabında üretilen pulpal fibroblast hücreleri üzerine toksik etkisinin MTT boyama ile gösterilmesi

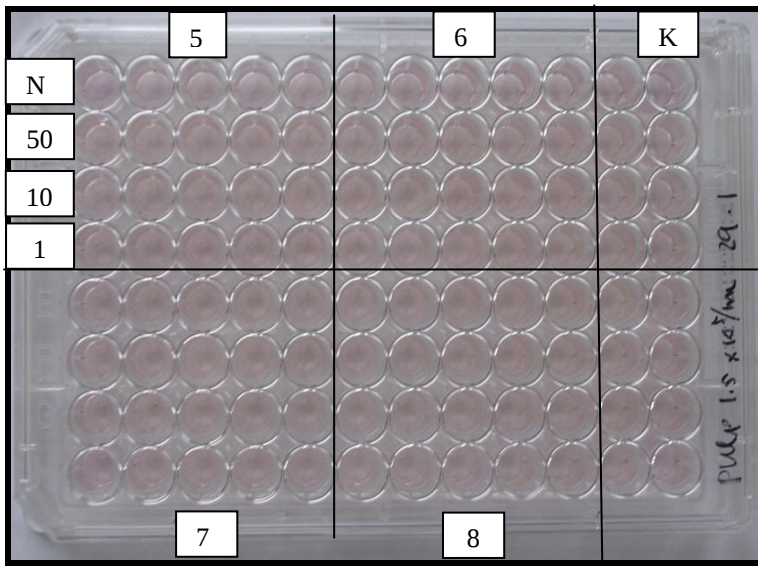


Resim 14.b. Renk yoğunluğu ölçümü için kuyucuk içeriklerinin 96 kuyucuklu kaba aktarılması. 1-12: DHGA, K: Kontrol

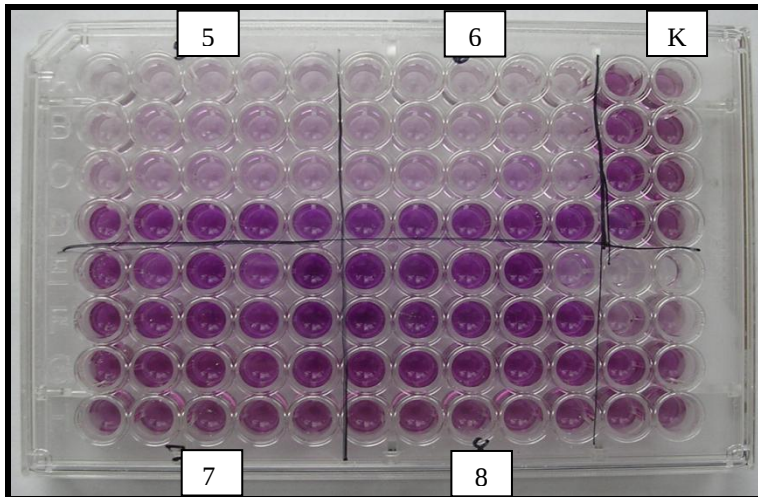
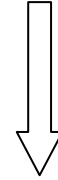
Dentin diskleri üzerine sulandırma yapmadan olduğu gibi yerleştirilen DHGA'nın, kuyucuklardaki 1 mililitre HKV içerisine 24 saatte geçen kısmının pulpal fibroblast hücreleri üzerindeki toksik etkileri ayrıca değerlendirildi. Bu maksatla literatürde tarif edildiği gibi (230) bir gün önceden 96 kuyucuklu kültür kaplarına $1,5 \times 10^4$ /kuyucuk şeklinde ekilmiş pulpal fibroblastlar üzerine her bir test maddesinin 5'erli örneğinin her birisinin doğrudan (N) veya HKV içerisinde %50, %10 ve %1 seyreltilmiş örnekleri yerleştirildi (Resim15.a-c). Test maddesi içermeyen örnekler de (kontrol grubu) aynı şekilde hücreler üzerine uygulandı. Kültür kapları 37 °C, %5 CO₂ içeren ortamda 24 saat bekletildi. Süre bitiminde kültür kabı içeriği boşaltıldıktan sonra kuyucuklar iki kez fosfat tamponlu fizyolojik serum ile yıkandı. Kuyucuklara FBS içermeyen EMEM eklendi ve 37 °C, %5 CO₂ içeren ortamda 10 dakika beklendi. Süre sonunda kabın içeriği boşaltılıp kuyucuklara 100'er µl FBS içermeyen EMEM daha sonra da MTT (5 µl/kuyucuk) boyası eklendi. 37 °C, %5 CO₂ içeren ortamda 2 saat inkübasyondan sonra boya döküldü ve kuyucuklarda kalan sıvı, kültür kabı alt kısmından tutularak kâğıt peçete üzerine hafifçe vurmak suretiyle giderildi. Canlı hücreler tarafından metabolize edilip hücre içinde tutulan formazan kristallerinin çözülmesi için kuyucuklara 100'er µl DMSO eklendi ve kültür kabı sallayıcısı üzerinde 15 dakika çalkalandı. Mikroskop altında hücre içi boya kristallerinin tamamen eridiği kontrol edildikten sonra renk yoğunluğu spektrofotometrede 570-630 nm dalga boyunda ölçüldü. Her bir grup için optik yoğunluk değeri deney sonuçlarının ortalaması alınarak elde edildi.



Resim 15.a. Dentin diskleri pulpal fibroblast hücre tabakası içeren 24 kuyucuklu kültür kabı kuyucuklarına yerleştirildikten sonra disk haznesine test maddesi uygulandı ve 37 °C, % 5 CO₂ içeren ortamda 24 saat bekletildi.



Resim 15.b. 24 saat sonra sıvı kısma geçen test maddesi alındı ve sulandırılmaları yapılarak 96 kuyucuklu kültür kabında üretilen pulpal fibroblastlar üzerine eklendi.



Resim 15.c. 24 saat sonra hücreler MTT ile boyandı ve optik renk yoğunluğu ölçüldü.

Resim 15.a-c. Dentin diskini geçen test maddesinin pulpal fibroblast hücreleri üzerindeki toksik etkisinin değerlendirilmesi. 5-7: DHGA; K: Kontrol

3.4. Sitotoksisite Değerlerinin İstatistiksel Analizi

Verilerin analizi bir istatistik paket programında (SPSS, 11.5) yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma şeklinde gösterildi.

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan hassasiyet giderici ajanların sitotoksisite ortalamaları ile 96 kuyucuklu kapta farklı kalınlık ve konsantrasyonlardan elde edilen optik yoğunluk düzeyleri Çok Değişkenli Varyans Analizi (Multivariate ANOVA) ile araştırıldı. Gruplar içerisinde konsantrasyonlar arasındaki farkın önemliliği Bonferroni Düzeltmeli Çoklu Karşılaştırma testiyle incelendi.

24 kuyucuklu kapta farklı kalınlıklarda yapılan dentin bariyer testi optik yoğunluk düzeyleri yönünden gruplar arasında farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirildi. Tek Yönlü Varyans Analizi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunması halinde post hoc Tukey testi kullanılarak farka neden olan durumlar tespit edildi. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ancak olası tüm çoklu karşılaştırmalarda Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni Düzeltmesine başvuruldu.

3.5. Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Rezin-Dentin Bağlanma Dayanımına Etkisinin Belirlenmesi

3.5.1. Dentin Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak dişler %0.2'lik sodyum azid solüsyonu içerisinde 1 hafta oda sıcaklığında bekletilerek dezenfekte edildi. Çalışmada kullanılmak üzere 195 adet daimi alt 3. molar dişi seçildi. Dişler rastgele 13 gruba ayrıldı (n=15).

Dişlerin bukkal yüzeyden itibaren dentin yüzeyi açığa çıkacak şekilde 0.38 mm kalınlığındaki elmas separe ve düşük hızlı hassas kesme cihazı ile su soğutması altında mezyodistal olarak mine dokusu uzaklaştırıldı (Resim 16, 17). Dentin örnekleri hazırlanan kalıpların tam ortasına gelecek şekilde yerleştirildi ve kalıbın içine şeffaf akril dökülerek deneylerde kullanılacak dentin örnekleri elde edildi (Resim 18).



Resim 16, 17: Mine dokusunun elmas separe ve düşük hızlı kesme cihazı ile su soğutması altında uzaklaştırılması sonrası bukkal yüzeyi açığa çıkmış dentin örneği

Resim 18: Şeffaf akril içine yerleştirilen dentin örnekleri

Daha sonra dentin örneklerinin yüzeyinde standart bir smear tabakası elde etmek amacıyla 320, 600, 800, 1000 grenli zımpara ve bol miktarda akan su altında zımparalandı. Musluk suyunda yıkandı ve hava spreyiyle hafif hava uygulanarak kurulandı.

Dentin hassasiyeti giderici ajanlar Tablo 3'deki uygulama talimatlarına göre uygulandı.

Tablo 3: Çalışmada kullanılan dentin hassasiyet giderici ajanların uygulama talimatları

Gruplar	Test Maddesi	Uygulama Talimatları
1	Smart Protect	Dentin yüzeyine fırça yardımıyla 10 saniye aktif olarak uygulanır. 20 saniye beklendikten sonra bir miktar havayla hafifçe kurulanır.
2	Systemp Desensitizer	Dentin yüzeyine 10 saniye boyunca bir fırça yardımıyla hafifçe uygulanır ve 20 saniye beklenir. Hafif hava ile dağıtılır, dentin aşırı kurulanmaz.
3	Seal&Protect	Dentin yüzeyi bir proflaksi patı ve proflaksi lastiğiyle temizlenir. Pat, su spreyiyle uzaklaştırılır, dentin yüzeyine 2 saniye hava sıkılır. Nemli bırakılan dentin yüzeyine 2-3 damla uygulanan ajan dağıtılmadan 20 saniye beklenir. Fazlası hafif havayla uzaklaştırılır ve 10 saniye ışık uygulanır. 2. bir tabaka ajan uygulanır ve fazlası hafif havayla uzaklaştırılır. 10 saniye ışık uygulanır.
4	Aqua-Prep F	Dentin yüzeyi 15 saniye asitlenir ve 5 saniye yıkanır. 2-4 saniye havayla kurulanır. Aşırı kurulamadan kaçınılmalıdır. Bir karıştırma kabına 2 damla Aqua-Prep F konulur. Dentin yüzeyine uygulanır. 20 saniye beklenir. Hafif havayla ürünün fazlası uzaklaştırılır.
5	Isodan	Kurulanmış dentin yüzeyine ince bir tabaka ilave edilir, havayla dikkatli bir biçimde dağıtılır.
6	Gluma	En az miktarda Gluma, temiz dentin yüzeyine bir pamuk pelet veya fırça yardımıyla uygulanır ve 30-60 saniye yüzeyde bırakılır. Sonra yüzeydeki film tabakası kayboluncaya kadar havayla kurulanır. Sonra bol suyla yıkanır.
7	BisBlock	Dentin yüzeyi 15 saniye asitlendikten sonra, bol suyla yıkanır ve yüzeyde görünür su olmayacak şekilde 2-3 saniye hafif havayla kurutulur. BisBlock uygulanır ve 30 saniye beklenir. Bol suyla yıkanır ve hafif havayla kurulanır.
8	UltraEZ	Hazırlanan apareylere jel halindeki UltraEZ uygulanıp dişlere adapte edilir. 15-30 dakika arasında ağızda bekletildikten sonra çıkarılır, dişler fırçalanır, yutulmaz.
9	D/Sense Crystal	Nemli ya da kuru dentine 20 saniye aktif olarak uygulanır, yüzeyin doyurulduğundan emin olunur. Yüzeye hafif hava uygulanır ve yüzey kurulanır.
10	Colgate Sensitive Pro-Relief	Proflaksi lastiği içine yeterli miktarda pat konur, düşük hızdan orta hıza doğru kuru dentin yüzeyine 3 saniye uygulanır. Sonra 2. bir uygulama daha yapılır.
11	Topex	Temiz ve kuru dentin yüzeyine 60 saniye boyunca uygulanır.
12	Clinpro White Varnish	Doz rehberine göre ayarlama yapılarak dikkatli bir biçimde karıştırılır. Temiz ve kuru dentin yüzeylerine uygulanır.

Tüm grublardaki dentin örnekleri ajanların uygulanmasından sonra yapay tükürüğe konuldu. Kontrol grubundaki dentin örneklerine ise hassasiyet giderici ajan uygulanmadan yapay tükürüğe konuldu. Tüm örnekler yapay tükürük içinde 14 gün boyunca 37 °C’de bekletildi. 14 günün sonunda örnekler yapay tükürükten alındı, suyla yıkandı ve yumuşak bir diş fırçası yardımıyla dentin yüzeyindeki kalıntılar 8-10 kez uygulanan dairesel hareketlerle uzaklaştırıldı. Dentin yüzeyi tekrar yıkandı ve 5 saniye hava-su spreyiyle kurulandı. Clearfil Tri-S Bond (Kuraray Medical Inc, Kurashiki, Japan) ve kompozit rezin (Filtek Z 250, 3M ESPE, St Paul, MN, USA) dentin yüzeyine Tablo 4’teki uygulama talimatlarına göre uygulandı.

Tablo 4: Çalışmada kullanılan dentin bonding ajan ve kompozit rezin uygulama talimatları

Materyal	İçerik	Üretici Firma	Üretim No	Uygulama Talimatları
Clearfil Tri-S Bond	MDP, BIS-GMA, HEMA, kamferokinon, etil alkol, su, silanlanmış koloidal silika	Kuraray Medikal, Kurashiki, Japan	00149A	Bonding ajan kavite yüzeylerine uygulanıp 20 saniye beklenir. En az 5 saniye yüksek basınçlı hava ile ajanın dağıtılması sağlanır. 10 saniye ışıkla polimerize edilir.
Filtek Z250	Silanlanmış seramik, BISEMA6, UDMA, BIS-GMA, TEGDMA	3M ESPE, St Paul, MN, USA	8JC	2.5 mm’yi geçmeyecek şekilde tabakalama tekniğiyle uygulanır. 20 saniye ışıkla polimerize edilir.

Dentin yüzeyine Clearfil Tri-S Bond üretici talimatlarına göre uygulandıktan sonra 10 saniye boyunca LED ışık cihazı (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) ile polimerize edildi. Daha sonra 3 mm yüksekliğinde ve 2.68 mm çapındaki silindirik uçlar dentin yüzeyine dikkatli bir şekilde tutturularak mikrohibrit bir kompozit rezin olan Filtek Z250, A1 tonu dentin yüzeyine uygulandı. Kompozit materyalin fazlası dentin yüzeyinden uzaklaştırıldı (Resim 19, 20).



Resim 19: Dentin yüzeyine silindirik uçlar üzerinden kompozit rezin uygulaması sonrası elde edilen örnekler



Resim 20: Kompozit rezin uygulaması sonrası silindirik uçların yandan görünümü

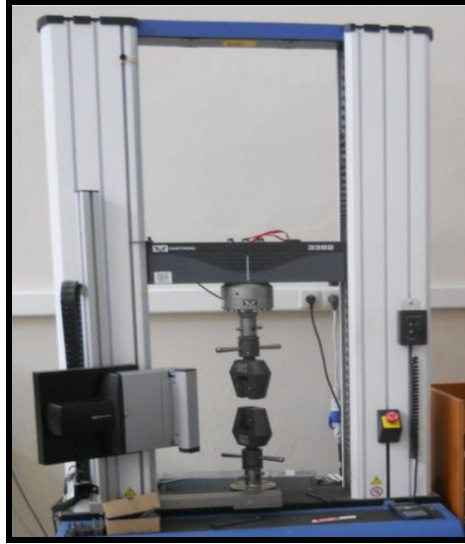
Her gruptan 15 örnek elde edilecek şekilde 195 adet örnek hazırlandı (Resim 21, 22). Hazırlanan örnekler 24 saat boyunca distile suda, 37 °C’de, etüvde bekletildi. Örnekler distile sudan alınarak makaslama bağlantı direnci testine geçildi.



Resim 21, 22: Dentin yüzeylerine silindirik uçlardan kompozit rezin uygulaması sonrası her grupta $n=15$ olacak şekilde hazırlanan örnekler

3.5.2. Makaslama Bağlanma Dayanımı Testi

Kompozit çubukların dentin yüzeyine makaslama bağlanma dayanımının ölçüm testleri bir Universal Çekme-Basma Test Sistemi (Instron 3382, USA) kullanılarak yapıldı (Resim 23).



Resim 23: Universal Çekme-Basma Test Sistemi

Dentin örnekleri test cihazına sabitlendi. Akrilik yüzeye paralel olarak yük uygulandı (Test cihazının hızı 1 mm/sn'ye ayarlandı) (Resim 24, 25). Newton olarak elde edilen sonuçlar Megapascal'a (MPa) çevrildi.



Resim 24, 25: Dentin örnekleri test cihazının model tutucuları arasında bağlantı yüzeyleri yer düzlemine dik olacak şekilde sabitlendi.

Örneklerin kopma yüzeyleri optik mikroskop (Olympus Metallurgical Microscope) altında incelenerek bağlantıdaki başarısızlık aşağıdaki kopma tiplerine göre belirlendi (274).

Adeziv başarısızlık: Tamamen adezivin içinde meydana gelen kopma

Koheziv başarısızlık: Dentin veya kompozitte meydana gelen kopma

Karışık tipte başarısızlık: Adeziv kopma yanında kompozitte veya dentinde koheziv kopma

3.6. DHGA'nın Tübül Tıkama Etkinliğinin SEM ile İncelenmesi

Her bir grup için 3 adet dentin örneği SEM incelemesi için hazırlandı.

Örneklerin Hazırlanması;

1- Standart bir smear tabakası elde etmek amacıyla sırasıyla 600, 800, 1000 ve 1200 grenli zımparalar ile bol miktarda distile su kullanılarak dentin yüzeyleri zımparalandı. Sonrasında 1 µm ve ¼ µm boyutlarındaki alumina pat ve parlatma keçeleri kullanılarak cilalandı (Buehler, Beta Grinder&Polisher, USA).

2- Örnekler 30 dakika boyunca distile suyla birlikte ultrasonikatore konuldu.

3- Distile sudan alınan dentin örnekleri hafif havayla kurulandı.

4- Dentin yüzeylerine basınç uygulanmadan %17'lik EDTA uygulandı ve 2 dakika boyunca bekletildikten sonra dentin örnekleri 5 dakika boyunca musluk suyu altında yıkandı. Örnekler hafif basınçlı hava spreyiyle kurulandı.

5- Dentin yüzeylerine üretici talimatlarına göre DHGA uygulandı.

6- Dentin örnekleri ince bir altın film tabakasıyla kaplandı. SEM incelemeleri (JSM 6400, Japan) ile 15 kV'de, X1000 - X10.000 arasındaki büyütmelemlerde yapıldı.

Hazırlanan dentin örnekleri dişlerin bukkal yüzeyindeki mine dokusu kaldırılarak elde edildiğinden DHGA'nın dişlerin bukkal yüzeylerinde bulunan dentin tübüllerindeki etkinliği incelendi. Daha sonra incelenen dentin örnekleri vertikal olarak kırılarak ajanların dentin tübüllerinin arayüz morfolojisine etkisi de 15 kV'de ve X1000 ve X10.000'lik büyütmelemlerde SEM ile incelendi.

3.7. Bağlanma Dayanımı Değerlerinin İstatistiksel Analizi

Verilerin analizi bir istatistik paket programında (SPSS, 11.5) yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma şeklinde gösterildi. Gruplar arasında bağlanma dayanımı yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirildi. Tek Yönlü Varyans Analizi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunması halinde post hoc Tukey testi kullanılarak farka neden olan durumlar tespit edildi. $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ancak olası tüm çoklu karşılaştırmalarda Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni Düzeltmesine başvuruldu.

4. BULGULAR

4.1. Dentin Hassasiyet Giderici Ajanların Gingival Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan DHGA'nın %50, %20, %10 ve %1'lik konsantrasyonlarının gingival fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksikite değerlendirmelerinde, MTT testi sonucu elde edilen optik yoğunluklara ait Ortalama $\pm$ Standart Sapma değerleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan DHGA'nın optik yoğunluk değerleri (Ort $\pm$ Ss)

Tablo 5'te kontrol grubunun optik yoğunluk değeri farklı konsantrasyonlardaki DHGA'nın optik yoğunluk değerinden yüksek bulundu.

Dentin Hassasiyet Giderici Ajanlar	Ortalama $\pm$ Standart Sapma			
	%50'lik konsantrasyon	%20'lik konsantrasyon	%10'luk konsantrasyon	%1'lik konsantrasyon
1. Smart Protect	0.057 $\pm$ 0.010	0.108 $\pm$ 0.010	0.144 $\pm$ 0.013	0.363 $\pm$ 0.017
2. Systemp Desensitizer	0.057 $\pm$ 0.007	0.042 $\pm$ 0.004	0.038 $\pm$ 0.006	0.035 $\pm$ 0.007
3. Seal & Protect	0.052 $\pm$ 0.032	0.162 $\pm$ 0.019	0.204 $\pm$ 0.091	0.253 $\pm$ 0.084
4. Aqua-Prep F	0,020 $\pm$ 0.003	0.017 $\pm$ 0.002	0.018 $\pm$ 0.004	0.022 $\pm$ 0.008
5. Isodan	0.032 $\pm$ 0.017	0.023 $\pm$ 0.007	0.016 $\pm$ 0.004	0.015 $\pm$ 0.001
6. Gluma	0.058 $\pm$ 0.003	0.042 $\pm$ 0.007	0.035 $\pm$ 0.004	0.026 $\pm$ 0.003
7. BisBlock	0.020 $\pm$ 0.003	0.019 $\pm$ 0.003	0.061 $\pm$ 0.092	0.315 $\pm$ 0.205
8. UltraEZ	0.014 $\pm$ 0.001	0.319 $\pm$ 0.173	0.607 $\pm$ 0.156	0.689 $\pm$ 0.255
9. D/Sense Crystal	0.024 $\pm$ 0.009	0.020 $\pm$ 0.004	0.023 $\pm$ 0.006	0.259 $\pm$ 0.148
10. Colgate Sens.Pro Relief	0.200 $\pm$ 0.203	0.669 $\pm$ 0.149	0.750 $\pm$ 0.257	0.741 $\pm$ 0.225
11. Topex	0.033 $\pm$ 0.031	0.604 $\pm$ 0.160	0.755 $\pm$ 0.190	0.735 $\pm$ 0.146
12. Clinpro White Varnish	0.197 $\pm$ 0.152	0.535 $\pm$ 0.059	0.656 $\pm$ 0.124	0.671 $\pm$ 0.185
13. Kontrol	0.707 $\pm$ 0.177	0.707 $\pm$ 0.177	0.707 $\pm$ 0.177	0.707 $\pm$ 0.177

Optik yoğunluk değerinin yükselmesi, DHGA'nın deney hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin azalması, optik yoğunluk değerinin sıfıra yaklaşması ise ajanların hücreler üzerindeki sitotoksik etkisinin artması anlamına gelmektedir. DHGA'nın uygulandıkları

hücreler üzerindeki ölüm oranlarının yüzdelik değerleri optik yoğunluk değerleri kullanılarak aşağıdaki formülle hesaplandı (275).

$$\% \text{Hücre ölümü} = \frac{\text{Kontrol grubu OYD} - \text{İncelenen grup OYD}}{\text{Kontrol grubu OYD}} \times 100$$

Bu formüle göre; %50'lik konsantrasyonda hazırlanan Smart Protect, gingival fibroblastlar hücrelerinin %92'sini öldürmüştür.

%50'lik Konsantrasyonda DHGA'nın Gingival Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

MTT testi sonucu elde edilen optik yoğunluk değerleri incelendiğinde tüm DHGA'nın %50'lik konsantrasyonları kontrol grubuna göre daha fazla sitotoksik etki gösterdi ($p < 0.001$). DHGA'nın %50'lik konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde Smart Protect, Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Gluma, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0.0125$) (Tablo 6). Colgate Sensitive Pro-Relief sayısal olarak en yüksek optik yoğunluk değerini (en düşük sitotoksik etkiyi) gösterdi.

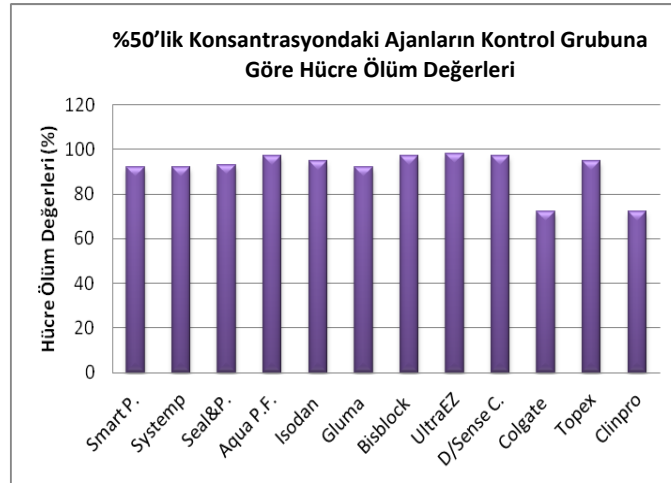
Aqua-Prep F, BisBlock, UltraEZ, D/Sense Crystal arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0.0125$). Bu 4 grup Colgate Sensitive Pro-Relief ve Clinpro White Varnish'e göre daha fazla sitotoksik etki gösterdi ($p < 0.0125$). Fakat Aqua-Prep F, BisBlock, UltraEZ, D/Sense Crystal ile diğer gruplar (grup 1, 2, 3, 5, 6, 11) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p > 0.0125$). Diğer taraftan Isodan, Colgate Sensitive Pro-Relief'e göre daha fazla sitotoksik etki gösterdi ($p < 0.0125$).

Tablo: 6. % 50'lik konsantrasyonda DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksosite değerlendirmeleri arasındaki anlamlılık tablosu

DHGA	GRUPLAR										
	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
1. Smart Protect											
2. Systemp D.											
3. Seal & Protect											
4. Aqua-Prep F.	*		*								
5. Isodan			*								
6. Gluma											
7. BisBlock	*		*								
8. UltraEZ	*		*								
9. D/Sense Crystal	*		*								
10. Colgate Sens.P.R.											
11. Topex											
12. Clinpro White V.											

(* İstatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.)

%50'lik konsantrasyonda hazırlanan DHGA'nın optik yoğunluk değerlerine göre hücre ölüm oranları incelendiğinde; %98 ile UltraEZ en yüksek hücre ölüm oranını gösterdi. Aqua-Prep F, BisBlock, D/Sense Crystal %97'lik hücre ölüm oranı gösterirken %72 ile Colgate Sensitive Pro-Relief ve Clinpro White Varnish en düşük hücre ölüm oranını gösterdi (Grafik 1).



Grafik 1. %50'lik konsantrasyondaki DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki hücre ölüm oranlarının yüzde olarak gösterilmesi

%20'lik Konsantrasyonda Hazırlanan DHGA'nın Gingival Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

MTT testi sonucu elde edilen optik yoğunluk değerleri incelendiğinde DHGA'nın %20'lik konsantrasyonlarında, Colgate Sensitive Pro-Relief, Clinpro White Varnish ve Topex grupları dışındaki gruplar (grup 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) kontrol grubuna göre daha fazla sitotoksik etki gösterdi ($p<0.001$). Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.001$).

Ajanların %20'lik konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde (Tablo 7); Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamakla birlikte ($p>0.0125$), bu 3 grup diğer gruplara göre (grup 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) anlamlı oranda daha düşük sitotoksik etki gösterdi ($p<0.0125$).

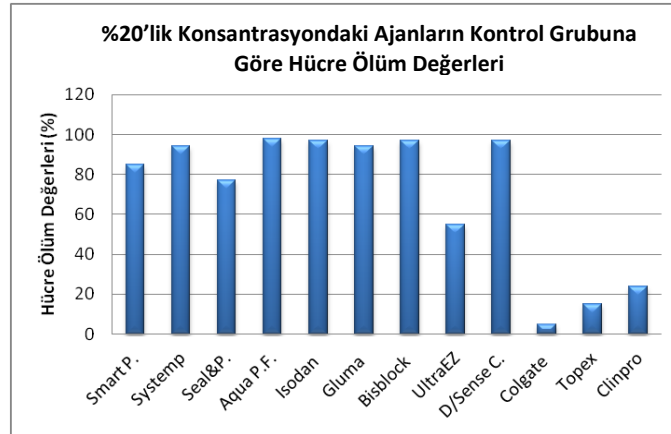
Smart Protect, Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma, BisBlock, D/Sense Crystal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p>0.0125$), Seal&Protect dışındaki bu gruplar UltraEZ grubuna göre daha sitotoksik bulundu ($p<0.0125$). Seal&Protect grubu ile UltraEZ arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0.0125$).

Tablo 7. %20'lik konsantrasyonda DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksitesite değerlendirmeleri arasındaki anlamlılık tablosu

DHGA	GRUPLAR										
	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
1. Smart Protect	*	*	*		*						
2. Systemp D.	*	*	*		*						
3. Seal & Protect	*	*	*								
4. Aqua-Prep F.	*	*	*		*						
5. Isodan	*	*	*		*						
6. Gluma	*	*	*		*						
7. BisBlock	*	*	*		*						
8. UltraEZ	*	*	*	*							
9. D/Sense Crystal	*	*	*								
10. Colgate Sens. P.R.											
11. Topex											
12. Clinpro White V.											

(* İstatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.)

%20'lik konsantrasyonda hazırlanan DHGA'nın optik yoğunluk değerlerine göre hücre ölüm oranları incelendiğinde; %98 ile Aqua-Prep F en yüksek hücre ölüm oranını gösterirken %5'le en düşük hücre ölüm oranı Colgate Sensitive Pro-Relief'te görüldü. Bu grubu Topex (%15) ve Clinpro White Varnish (%24) takip etmiştir (Grafik 2).



Grafik 2. %20'lik konsantrasyondaki DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki hücre ölümüne sebebiyet verme değerlerinin kontrol grubuna göre yüzde olarak gösterilmesi

%10'luk Konsantrasyonda DHGA'nın Gingival Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

MTT testi sonucu elde edilen optik yoğunluk değerleri incelendiğinde ajanların %10'luk konsantrasyonlarında UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.001$). Diğer gruplar (Smart Protect, Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma, BisBlock, D/Sense Crystal) kontrol grubuna göre daha fazla sitotoksik etki gösterdi ($p<0.001$).

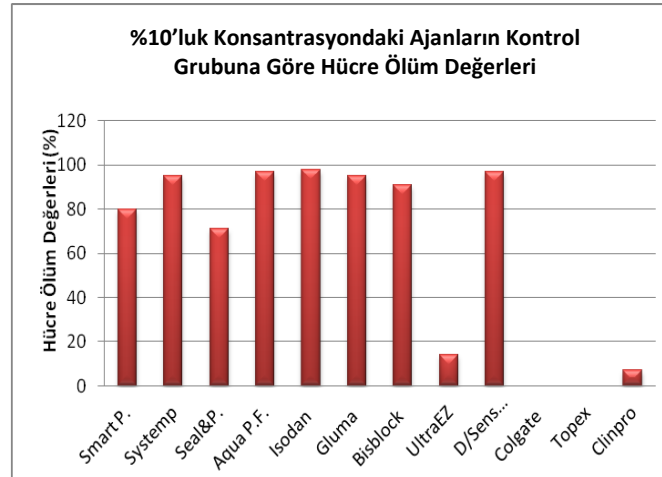
DHGA'nın %10'luk konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde (Tablo 8); UltraEZ, Colgate Sensitive Pro Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte ($p>0.0125$), bu 4 grup diğer gruplara göre (grup 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9) daha az sitotoksik etki gösterdi ($p<0.0125$). Smart Protect, Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma, BisBlock, D/Sense Crystal grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken ($p>0.0125$) bu gruplar diğer gruplara göre daha sitotoksik bulundu ($p<0.0125$).

Tablo 8. %10'luk konsantrasyonda DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksosite değerlendirmeleri arasındaki anlamlılık tablosu

DHGA	GRUPLAR										
	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
1. Smart Protect	*	*	*		*						
2. Systemp D.					*						
3. Seal & Protect	*	*	*		*						
4. Aqua-Prep F.	*	*	*		*						
5. Isodan	*	*	*		*						
6. Gluma	*	*	*		*						
7. BisBlock	*	*	*		*						
8. UltraEZ				*							
9. D/Sense Crystal	*	*	*								
10. Colgate Sens. P.R.											
11. Topex											
12. Clinpro White V.											

(* İstatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.)

%10'luk konsantrasyonda hazırlanan ajanların optik yoğunluk değerlerine göre hücre ölüm oranları incelendiğinde; %97 ile Isodan ile en yüksek hücre ölüm oranını gösterdi. En düşük hücre ölüm oranını Colgate Sensitive Pro-Relief ve Topex (%0) gösterirken bu değeri %7'lik hücre ölüm oranı ile Clinpro White Varnish takip etmiştir (Grafik 3).



Grafik 3. % 10'luk konsantrasyondaki DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki hücre ölümüne sebebiyet verme değerlerinin kontrol grubuna göre yüzde olarak gösterilmesi

%1'lik Konsantrasyonda DHGA'nın Gingival Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

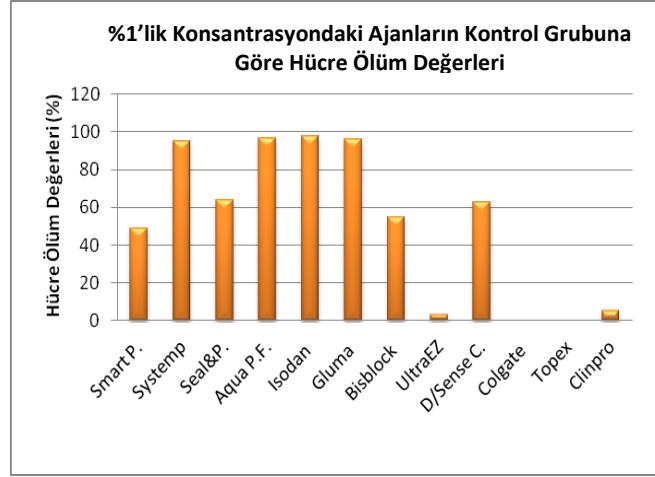
MTT testi sonucu elde edilen optik yoğunluk değerleri incelendiğinde ajanların %1'lik konsantrasyonlarında, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish dışındaki gruplar (grup 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9) kontrol grubuna göre daha fazla sitotoksik etki gösterdi ($p<0.001$). Ajanların %1'lik konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde (Tablo 9); UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.0125$). UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma, D/Sense Crystal gruplarından daha az sitotoksik etki gösterdi ($p<0.0125$). Smart Protect ve BisBlock grupları ile Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte ($p>0.0125$), Clinpro White Varnish grubu daha az sitotoksik bulundu ($p>0.0125$). Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma, BisBlock, D/Sense Crystal grupları arasında optik yoğunluk değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0.0125$). Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma, D/Sense Crystal grupları grup (8, 10, 11, 12)'ye göre optik yoğunluk değerleri bakımından daha fazla sitotoksik bulundu ($p<0.0125$).

Tablo 9. %1'lik konsantrasyonda DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksikite değerlendirmeleri arasındaki anlamlılık tablosu

DHGA	GRUPLAR										
	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
1. Smart Protect		*	*								
2. Systemp D.	*	*	*		*						
3. Seal & Protect	*	*	*		*						
4. Aqua-Prep F.	*	*	*		*						
5. Isodan	*	*	*		*						
6. Gluma	*	*	*		*						
7. BisBlock		*	*		*						
8. UltraEZ				*							
9. D/Sense Crystal	*	*	*								
10. Colgate Sens.P.R.											
11. Topex											
12. Clinpro White V.											

(* İstatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.)

%1'lik konsantrasyonda hazırlanan DHGA'nın optik yoğunluk değerlerine göre hücre ölüm oranları incelendiğinde; %98 ile Isodan en yüksek hücre ölüm oranını gösterdi. En düşük hücre ölüm oranını Colgate Sensitive Pro-Relief ve Topex %0'la gösterirken bu değeri %5'lik hücre ölüm oranı ile Clinpro White Varnish takip etmiştir (Grafik 4).



Grafik: 4. %1'lik konsantrasyondaki DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki hücre ölümüne sebebiyet verme değerlerinin kontrol grubuna göre yüzde olarak gösterilmesi

4.2. DHGA'nın Farklı Kalınlıklardaki Dentin Bariyeri Kullanıldığında Pulpal Fibroblastlar Üzerindeki Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

0.5 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanıldığında;

Ajanların 24 kuyucuklu kaplarda üretilen pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi için kullanılan MTT testi sonuçları Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. 0.5 mm kalınlığındaki dentin bariyeri kullanıldığında DHGA'nın optik yoğunluk değerleri ($Ort \pm Ss$) (n=5)

Gruplar	n	Ortalama	Std. Sapma
Grup 1	5	0.016	0.015
Grup 2	5	0.018	0.013
Grup 3	5	0.365	0.092
Grup 4	5	0.050	0.006
Grup 5	5	0.015	0.002
Grup 6	5	0.019	0.050
Grup 7	5	0.540	0.110
Grup 8	5	0.538	0.042
Grup 9	5	0.269	0.176
Grup 10	5	0.650	0.184
Grup 11	5	0.628	0.107
Grup 12	5	0.620	0.083
Kontrol	5	0.884	0.015

Ajanların optik yoğunluk değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları dışındaki diğer tüm gruplar (grup 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) kontrol grubuna göre pulpal fibroblast hücreleri üzerinde daha fazla sitotoksik etki gösterdi ($p < 0.01$).

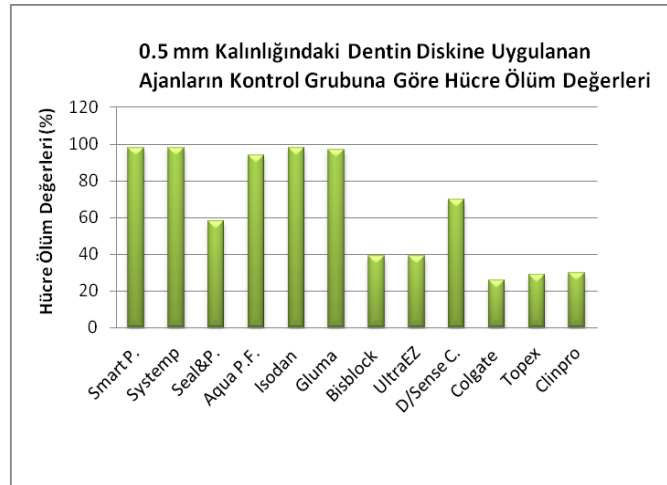
DHGA'nın optik yoğunluk değerleri kendi aralarında değerlendirildiğinde (Tablo 11); BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte ($p > 0.025$), bu gruplar diğer gruplardan (grup 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9) daha az sitotoksik etki gösterdi ($p < 0.025$).

Tablo 11. 0.5 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanıldığında DHGA'nın pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksosite değerlendirmeleri arasındaki anlamlılık tablosu

DHGA	GRUPLAR										
	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
1. Smart Protect	*	*	*	*	*	*				*	
2. Systemp D.	*	*	*	*	*	*				*	
3. Seal & Protect	*	*	*		*	*	*	*	*		
4. Aqua-Prep F.	*	*	*	*	*	*					
5. Isodan	*	*	*	*	*	*					
6. Gluma	*	*	*	*	*	*					
7. BisBlock				*							
8. UltraEZ				*							
9. D/Sense Crystal	*	*	*								
10. Colgate Sens. P.R.											
11. Topex											
12. Clinpro White V.											

(* İstatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.)

Ajanların pulpal fibroblastlar üzerindeki optik yoğunluk değerlerine göre hücre ölüm oranları incelendiğinde; Smart Protect, Systempt Desensitizer ve Isodan grupları %98'lik hücre ölüm oranı ile en yüksek hücre ölüm oranını gösterdi (Grafik 5). En düşük hücre ölüm oranını Colgate Sensitive Pro-Relief %26 ile gösterirken bu değeri %29'luk hücre ölüm oranı Topex, %30'luk hücre ölüm oranı ile Clinpro White Varnish takip etmiştir.



Grafik 5. 0.5 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanıldığında DHGA'nın pulpal fibroblastlar üzerindeki optik yoğunluk değerlerine göre hücre ölüm değerleri

1 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanıldığında;

Ajanların sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi için kullanılan MTT testi sonuçları Tablo 12’de gösterilmektedir.

Tablo 12. 1 mm kalınlığındaki dentin bariyeri kullanıldığında DHGA’nın optik yoğunluk değerleri ($Ort \pm Ss$) (n=5)

Gruplar	n	Ortalama	Std. Sapma
Grup 1	5	0.029	0.015
Grup 2	5	0.027	0.013
Grup 3	5	0.438	0.092
Grup 4	5	0.070	0.006
Grup 5	5	0.020	0.002
Grup 6	5	0.159	0.050
Grup 7	5	0.666	0.110
Grup 8	5	0.670	0.042
Grup 9	5	0.280	0.176
Grup 10	5	0.750	0.184
Grup 11	5	0.770	0.107
Grup 12	5	0.790	0.083
Kontrol	5	0.884	0.059

İstatistiksel değerlendirmelere göre; ajanlardan BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları dışındaki diğer tüm gruplar kontrol grubuna göre daha fazla sitotoksik etki gösterdi ($p<0.01$).

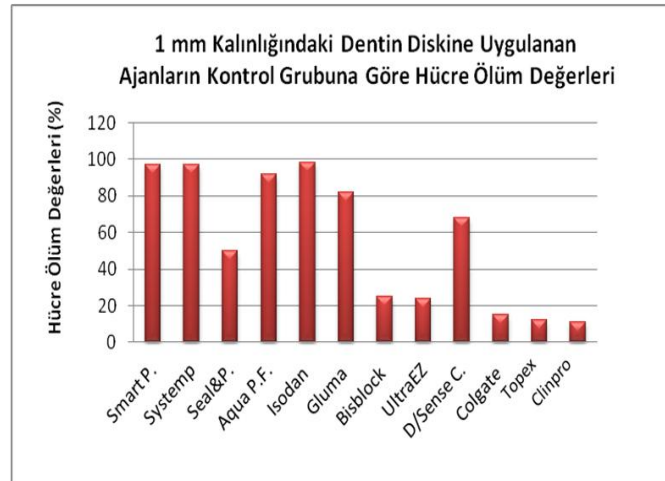
DHGA’nın optik yoğunluk değerleri kendi aralarında değerlendirildiğinde (Tablo 13); BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte ($p>0.025$), bu gruplar diğer gruplardan (grup 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9) daha az sitotoksik etki gösterdi ($p<0.025$). Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte ($p<0.025$), Isodan bu gruplar içinde daha fazla sitotoksik etki gösterdi ($p>0.025$). Seal Protect grubu bu gruplardan (grup 1, 2, 4, 5, 6) daha az sitotoksik etki göstermesine rağmen ($p<0.025$) D/Sense Crystal grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.025$).

Tablo 13. 1 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanıldığında DHGA'nın pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksikite değerlendirmeleri arasındaki anlamlılık tablosu

DHGA	GRUPLAR										
	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
1. Smart Protect	*	*	*	*	*	*				*	
2. Systemp D.	*	*	*	*	*	*				*	
3. Seal & Protect	*	*	*		*	*	*	*	*		
4. Aqua-Prep F.	*	*	*	*	*	*					
5. Isodan	*	*	*	*	*	*					
6. Gluma	*	*	*		*	*					
7. BisBlock				*							
8. UltraEZ				*							
9. D/Sense Crystal	*	*	*								
10. Colgate Sens. P.R.											
11. Topex											
12. Clinpro White V.											

(* İstatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.)

Ajanların pulpal fibroblastlar üzerindeki optik yoğunluk değerlerine göre hücre ölüm oranları incelendiğinde % 98 ile Isodan en yüksek hücre ölüm oranını gösterdi. %11 ile Clinpro White Varnish en düşük hücre ölüm oranını gösterirken, Topex grubu %12 ve Colgate Sensitive Pro-Relief %15 hücre ölüm oranı göstermiştir (Grafik 6).



Grafik 6. 1 mm kalınlığındaki dentin bariyeri kullanıldığında ajanların pulpal fibroblast hücre ölümüne sebebiyet verme değerleri

24 Kuyucuklu Kapta Yapılan Deneylerden Sonra Kalan Kuyucuk İçeriğinin Pulpal Fibroblastlar Üzerindeki Direkt Sitotoksik Etkisi

0.5 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanıldığında:

Kuyucuk içeriğinin kendisinin (%100) ve %50, %10 ve %1'lik konsantrasyonlarının 96 kuyucuklu kaplarda üretilen pulpal fibroblast hücreleri üzerinde direkt sitotoksikite değerlendirmelerinde, MTT testi sonucu elde edilen optik yoğunluklara ait ort. $\pm$ std. ss değerleri Tablo 14'de verilmiştir.

Tablo 14. 0.5 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanılan 24 kuyucuklu kaplarda kalan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki optik yoğunluk değerleri (Ort $\pm$ Ss)

Dentin Hassasiyet Giderici Ajanlar	Ortalama $\pm$ Standart Sapma			
	%100'lük konsantrasyon	%50'lik konsantrasyon	%10'lük konsantrasyon	%1'lik konsantrasyonn
1. Smart Protect	0,033 $\pm$ 0,006	0,025 $\pm$ 0,006	0,071 $\pm$ 0,104	0,585 $\pm$ 0,127
2. Systemp Desensitizer	0,033 $\pm$ 0,026	0,107 $\pm$ 0,190	0,221 $\pm$ 0,065	0,638 $\pm$ 0,106
3. Seal & Protect	0,804 $\pm$ 0,154	1,060 $\pm$ 0,006	1,080 $\pm$ 0,085	1,207 $\pm$ 0,072
4. Aqua-Prep F	0,018 $\pm$ 0,020	0,008 $\pm$ 0,000	0,760 $\pm$ 0,233	1,180 $\pm$ 0,026
5. Isodan	0,010 $\pm$ 0,002	0,013 $\pm$ 0,005	0,013 $\pm$ 0,002	0,401 $\pm$ 0,072
6. Gluma	0,033 $\pm$ 0,031	0,122 $\pm$ 0,186	0,409 $\pm$ 0,545	1,006 $\pm$ 0,044
7. BisBlock	0,921 $\pm$ 0,014	1,024 $\pm$ 0,155	1,063 $\pm$ 0,080	1,075 $\pm$ 0,105
8. UltraEZ	0,820 $\pm$ 0,117	1,010 $\pm$ 0,164	1,150 $\pm$ 0,080	1,186 $\pm$ 0,045
9. D/Sense Crystal	0,321 $\pm$ 0,677	0,974 $\pm$ 0,074	1,020 $\pm$ 0,067	1,157 $\pm$ 0,067
10. Colgate Sens.Pro Relief	0,799 $\pm$ 0,026	1,064 $\pm$ 0,022	1,084 $\pm$ 0,016	1,182 $\pm$ 0,086
11. Topex	0,711 $\pm$ 0,145	1,082 $\pm$ 0,049	1,077 $\pm$ 0,019	1,105 $\pm$ 0,066
12. Clinpro White Varnish	0,860 $\pm$ 0,040	1,090 $\pm$ 0,024	1,097 $\pm$ 0,044	1,087 $\pm$ 0,101
13. Kontrol	1,269 $\pm$ 0,040	1,241 $\pm$ 0,024	1,206 $\pm$ 0,044	1,251 $\pm$ 0,151

%100'lük konsantrasyonda: Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma, D/Sense Crystal grupları kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulunmuştur ($p < 0.00625$).

DHGA'nın %100'lük konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları, D/Sense Crystal grubu dışındaki diğer tüm gruplardan (grup 3, 7, 8, 10, 11, 12) daha sitotoksik bulunmakla birlikte ($p < 0.00625$) bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.00625$). Seal Protect, BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief Topex, Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte bu gruplar D/Sense Crystal grubu dışındaki gruplardan (grup 1, 2, 4, 5, 6) daha az sitotoksik bulundu ($p < 0.00625$).

%50'lik konsantrasyonda; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulundu. DHGA'nın %50'lik konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplardan (grup 3, 7, 8, 9, 10, 11, 12) daha sitotoksik bulunmakla birlikte ($p < 0.00625$) bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.00625$). Seal&Protect, BisBlock, UltraEZ, D/Sense Crystal, Colgate Sensitive Pro-Relief Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte bu gruplar diğer gruplardan gruplardan (Grup 1, 2, 4, 5, 6) daha az sitotoksik bulundu ($p < 0.00625$).

%10'luk konsantrasyonda; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Isodan, Gluma grupları kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulundu. DHGA'nın %10'luk konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplardan (grup 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12) daha sitotoksik bulunmakla birlikte ($p < 0.00625$) bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.00625$). Seal Protect, Aqua-Prep F, BisBlock, UltraEZ, D/Sense Crystal, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları diğer gruplardan daha az sitotoksik bulunmakla birlikte ($p < 0.00625$) aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı.

%1'lik konsantrasyonda; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Isodan grupları kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulundu ($p < 0.00625$). DHGA'nın %1'lik konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Isodan diğer gruplardan (grup 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) daha sitotoksik bulunmakla birlikte ($p < 0.00625$) bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.00625$). Seal&Protect, Aqua-Prep F, Gluma, BisBlock, UltraEZ, D/Sense Crystal, Colgate Sensitive Pro-Relief Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları diğer gruplardan (grup 1, 2, 5) daha az sitotoksik bulunmakla birlikte ($p < 0.00625$) aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p < 0.00625$).

1 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanıldığında;

Kalan kuyucuk içeriğinin kendisinin (%100), %50, %10 ve %1'lik konsantrasyonlarının 96 kuyucuklu kaplarda üretilen pulpa fibroblast hücreleri üzerinde direkt sitotoksikite değerlendirmelerinde, MTT testi sonucu elde edilen optik yoğunluklara ait Ort. $\pm$ Ss. değerleri Tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15. 1 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanılan 24 kuyucuklu kaplarda kalan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki optik yoğunluk değerleri (Ortalama $\pm$ Ss)

Dentin Hassasiyet Giderici Ajanlar	Ortalama $\pm$ Standart Sapma			
	%100'lik konsantrasyon	%50'lik konsantrasyon	%10'luk konsantrasyon	%1'lik konsantrasyon
1. Smart Protect	0.025 $\pm$ 0.005	0.023 $\pm$ 0.004	0.032 $\pm$ 0.020	0.311 $\pm$ 0.066
2. Systemp	0.085 $\pm$ 0.122	0.188 $\pm$ 0.229	0.602 $\pm$ 0.386	1.149 $\pm$ 0.033
3. Seal & Protect	1.077 $\pm$ 0.602	1.187 $\pm$ 0.658	1.087 $\pm$ 0.123	1.070 $\pm$ 0.042
4. Aqua-Prep F	0.144 $\pm$ 0.194	0.203 $\pm$ 0.284	0.878 $\pm$ 0.309	1.103 $\pm$ 0.037
5. Isodan	0.019 $\pm$ 0.001	0.020 $\pm$ 0.002	0.038 $\pm$ 0.020	0.996 $\pm$ 0.028
6. Gluma	0.023 $\pm$ 0.001	0.021 $\pm$ 0.001	0.049 $\pm$ 0.060	1.011 $\pm$ 0.038
7. BisBlock	0.953 $\pm$ 0.363	1.151 $\pm$ 0.185	1.254 $\pm$ 0.042	1.068 $\pm$ 0.026
8. UltraEZ	0.944 $\pm$ 0.476	1.274 $\pm$ 0.094	1.187 $\pm$ 0.071	1.018 $\pm$ 0.043
9. D/Sense Crystal	0.403 $\pm$ 0.460	0.688 $\pm$ 0.576	1.118 $\pm$ 0.055	1.078 $\pm$ 0.088
10. Colgate Sens. Pro	1.091 $\pm$ 0.071	1.202 $\pm$ 0.198	1.186 $\pm$ 0.126	1.254 $\pm$ 0.074
11. Topex	0.776 $\pm$ 0.433	0.785 $\pm$ 0.672	1.101 $\pm$ 0.050	1.123 $\pm$ 0.114
12. Clinpro White	0.879 $\pm$ 0.516	0.966 $\pm$ 0.220	1.067 $\pm$ 0.028	1.085 $\pm$ 0.011
13. Kontrol	1.118 $\pm$ 0.051	1.166 $\pm$ 0.045	1.188 $\pm$ 0.164	1.179 $\pm$ 0.101

%100 konsantrasyonda; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma, D/Sense Crystal grupları kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulundu ($p<0.00625$).

DHGA'nın %100'lük konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları, D/Sense Crystal grubu dışındaki diğer tüm gruplardan (grup 3, 7, 8, 10, 11, 12) daha sitotoksik bulunmakla birlikte ($p<0.00625$) bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.00625$). Seal&Protect, BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte bu gruplar D/Sense Crystal grubu dışındaki (grup 1, 2, 4, 5, 6) gruplardan daha az sitotoksik etki gösterdi ($p<0.00625$).

%50'lik konsantrasyonda; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulundu. DHGA'nın %50'lik konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde;

Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplardan (grup 3, 7, 8, 10, 11, 12) daha sitotoksik bulunmakla birlikte ($p<0.00625$) bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0.00625$). Seal&Protect, BisBlock, UltraEZ, D/Sense Crystal, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish

grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte bu gruplar diğer gruplardan (grup 1, 2, 4, 5, 6) daha az sitotoksik etki gösterdi ($p<0.00625$).

%10'luk konsantrasyonda; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Isodan, Gluma grupları kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulundu. DHGA'nın %10'luk konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde; Smart Protect, Systemp Desensitizer, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplardan (grup 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12) daha sitotoksik bulunmakla birlikte ($p<0.00625$) bu gruplar arasında Systemp Desensitizer diğer gruplardan daha az sitotoksik etki gösterdi ($p<0.00625$). Seal&Protect, Aqua-Prep F, BisBlock, UltraEZ, D/Sense Crystal, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları diğer gruplardan daha az sitotoksik bulunmakla birlikte ($p<0.00625$) bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0.00625$).

%1'lik konsantrasyonda; Smart Protect grubu kontrol grubuna göre daha sitotoksik bulunmuştur ($p<0.00625$). Diğer gruplarla kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.00625$). DHGA'nın %1'lik konsantrasyonları kendi aralarında değerlendirildiğinde; Smart Protect diğer gruplardan (grup 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12) daha sitotoksik bulundu ($p<0.00625$). Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma, BisBlock, UltraEZ, D/Sense Crystal, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları Smart Protect'e oranla daha az sitotoksik bulunmakla birlikte ($p<0.00625$) aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0.00625$).

4.3. DHGA'nın Rezin-Dentin Bağlanma Dayanımına Etkisinin Değerlendirilmesi

Kullanılan DHGA'nın rezin-dentin makaslama bağlanma dayanımı değerleri Tablo 16'da görülmektedir.

Tablo 16. Gruplara göre makaslama bağlanma dayanımı değerleri(MPa)
(Ort $\pm$ Ss)(n=15)

Gruplar	n	Ortalama	Std. Sapma
1. Smart Protect	15	4.45	3.27
2. Systemp Desensitizer	15	4.57	2.82
3. Seal & Protect	15	4.75	2.91
4. Aqua-Prep F	15	7.81	4.05
5. Isodan	15	6.53	2.02
6. Gluma	15	7.92	3.18
7. BisBlock	15	3.65	3.46
8. UltraEZ	15	5.25	2.06
9. D/Sense Crystal	15	2.89	3.37
10. Colgate Sens. Pro	15	5.53	2.62
11. Topex	15	2.94	4.53
12. Clinpro White Varnish	15	2.98	2.29
13. Kontrol	15	7.90	3.02

Tablo 17'de test gruplarının birbirleriyle karşılaştırılmalarının anlamlılık tablosu görülmektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda kontrol grubu ile D/Sense Crystal, Topex ve Clinpro White Varnish test grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmakla birlikte ($p < 0.05$), kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tek yönlü varyans analizi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğu için farka neden olan durumları belirlemek amacıyla gruplar arasında çoklu karşılaştırmalar yapıldı. Test grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde;

Gluma ile D/Sense Crystal, Topex ve Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). D/Sense Crystal, Topex ve Clinpro White Varnish gruplarının makaslama bağlantı değerleri Gluma grubundan anlamlı oranda düşük bulundu ($p < 0.05$).

Ayrıca Aqua-Prep F ile D/Sense Crystal, Topex ve Clinpro White Varnish grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0.05$). D/Sense Crystal, Topex ve Clinpro White Varnish gruplarının makaslama bağlantı değerleri Aqua-Prep F grubundan anlamlı oranda düşük bulundu ($p < 0.05$).

Tablo 17. DHGA'nın rezin-dentin bağlanma dayanımına etkisini gösteren anlamlılık tablosu

Gruplar	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
1- Smart P.											
2- Systemp D.											
3- Seal Protect											
4-Aqua-Prep F	*	*		*							
5- Isodan											
6- Gluma	*	*		*							
7- BisBlock											
8-UltraEz											
9- D/sense C.											
10- Colgate											
11- Topex											
12- Clinpro W. V											

(* İstatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.)

Rezin-Dentin Kopma Yüzeylerinin Değerlendirilmesi

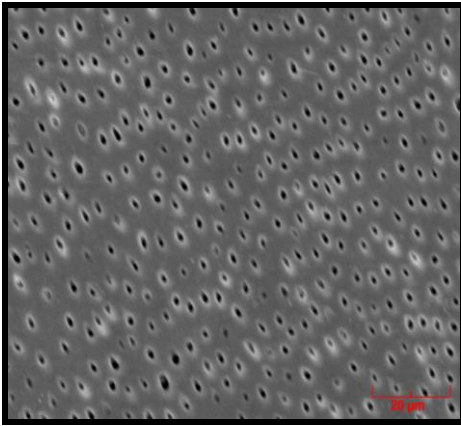
Tüm deney örneklerinin bağlantı yüzeylerinin optik mikroskopla incelenmesi sonucunda örneklerin tümünde adeziv tipte bağlantı başarısızlığı tespit edilmiştir.

4.4. DHGA'nın Tübül Tıkama Etkinliğinin SEM ile Değerlendirilmesi

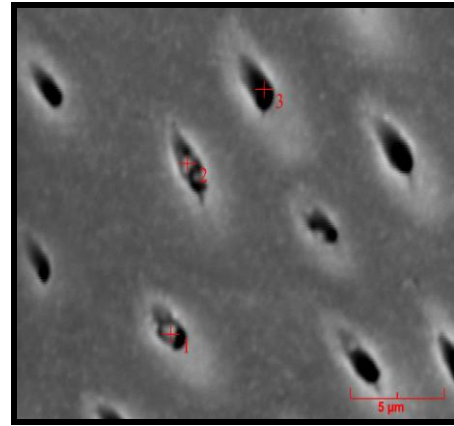
Ajanların tübül tıkama etkinliği SEM'de X1000-10.000 büyütmede değerlendirildi.

4.4.1. Smart Protect

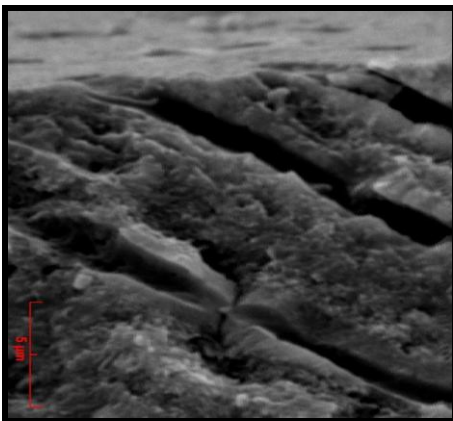
Smart Protect'in dentin yüzeylerindeki etkinliği SEM ile değerlendirildiğinde dentin tübül ağzlarının genel olarak açık olduğu gözlemlendi (Resim 26). Tübül ağzlarında kısmi tıkaçlar olsa da tamamen tıkalı olduğu görüntülere rastlanmadı (Resim 27). Smart Protect'in arayüz incelemelerinde de bukkal yüzeye benzer şekilde dentin tübülleri kısmen tıkanmıştır (Resim 28).



Resim 26. Smart Protect uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X1000)



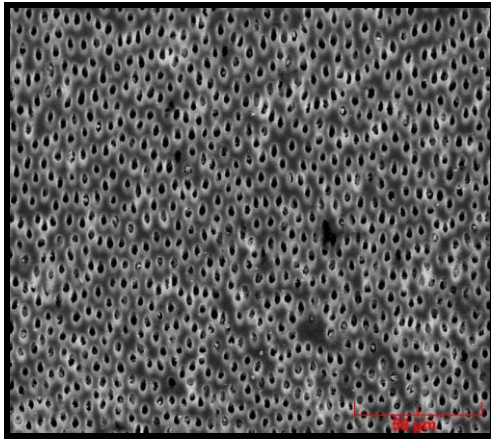
Resim 27. Smart Protect uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X5000)



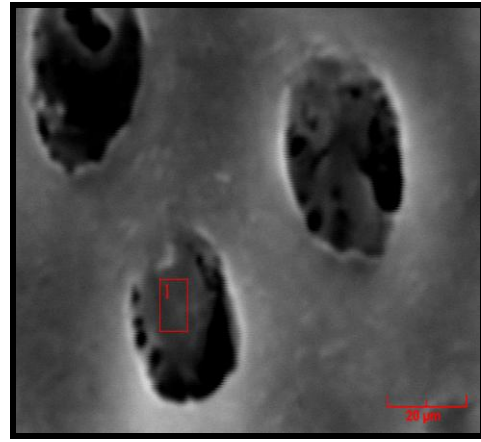
Resim 28. Smart Protect uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X7500)

4.4.2. Systemp Desensitizer

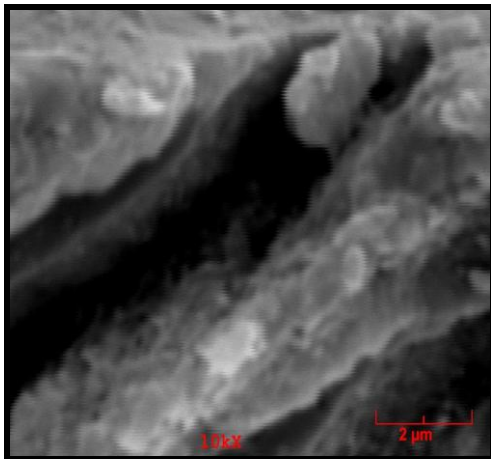
Systemp Desensitizer'in dentin yüzeylerindeki etkinliği SEM ile değerlendirildiğinde dentin tübül girişlerinde yer yer kısmi tübül tıkaçları görülsede de genel olarak tübüllerin açık olduğu gözlemlendi (Resim 29). Tübül girişlerinde kısmi tıkaçlar olsa da tübüllerin tamamen tıkalı olduğu görüntülere rastlanmadı (Resim 30). Systemp Desensitizer'in arayüz incelemelerinde de bukkal yüzeye benzer şekilde nadir olarak görülen tübül tıkaçları kısmen dentin tübüllerini tıkamıştır (Resim 31).



Resim 29. Systemp Desensitizer uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X1000)



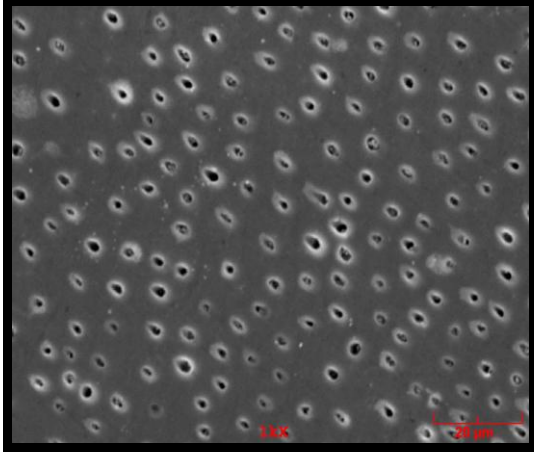
Resim 30. Systemp Desensitizer uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X10.000)



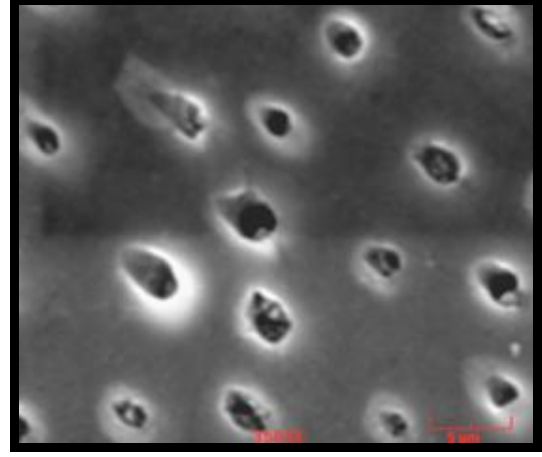
Resim 31. Systemp Desensitizer uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X10.000)

4.4.3. Seal&Protect

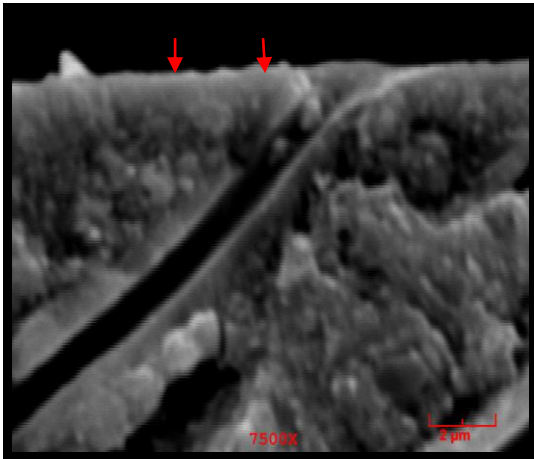
Seal&Protect'in dentin yüzeylerindeki etkinliği SEM ile değerlendirildiğinde bazı dentin tübüllerinde tıkaçlar gözlenmekle beraber pek çok tübülün açık olduğu gözlemlendi (Resim 32, 33). Seal&Protect'in arayüz incelemelerinde dentin yüzeyini örten bir rezin tabakası olmakla beraber tübüllerde rezin tabakasının kısmen devam ettiği gözlemlendi (Resim 34).



Resim 32. Seal&Protect uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X1000)



Resim 33. Seal&Protect uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X3500)



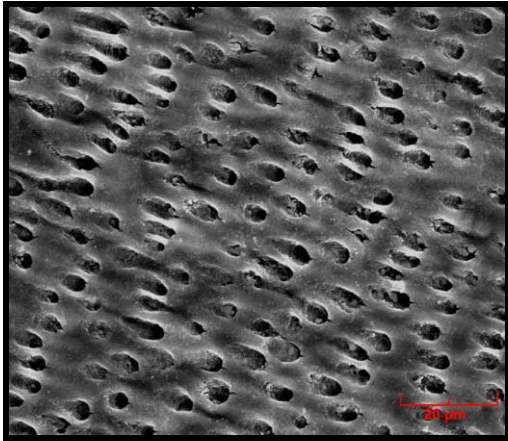
Resim 34. Seal&Protect uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X7500)

Kırmızı oklar: Seal Protect uygulanan dentinin arayüz incelemesinde yüzeydeki rezin tabakası

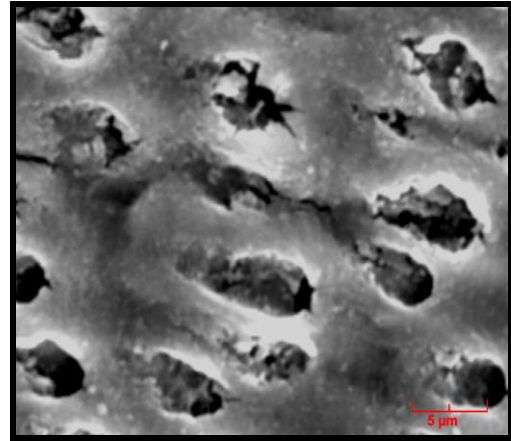
4.4.4. Aqua Prep F

Aqua Prep F uygulanan dentin yüzeylerinin SEM ile incelendiğinde yer yer dentin tübül girişlerinde tıkaçlara rastlanmıştır. Fakat tübüllerin tamamen tıkalı olduğu dentin görüntüsü mevcut değildir (Resim 35, 36).

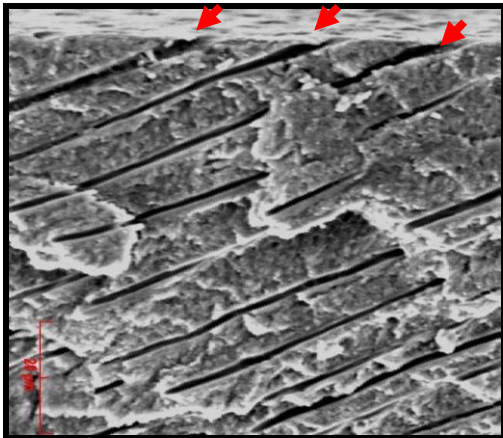
Aqua Prep F uygulanan dentin yüzeylerinin arayüz incelemelerinde bukkal görüntüde elde edilen tübül tıkaçının dentin tübülü içinde ilerlemediği sadece tübül yüzeyinde kısmen var olduğu tespit edilmiştir (Resim 37).



Resim 35. Aqua Prep F uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X2000)



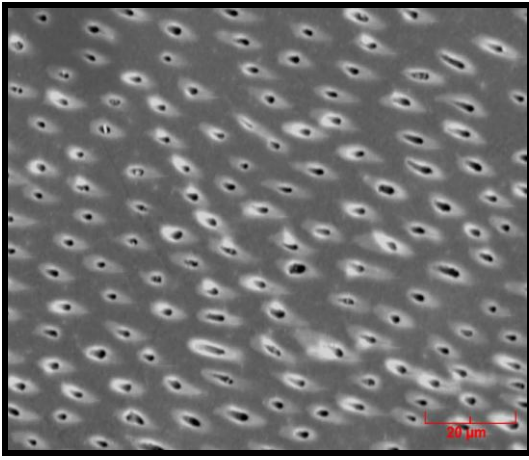
Resim 36. Aqua Prep F uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X5000)



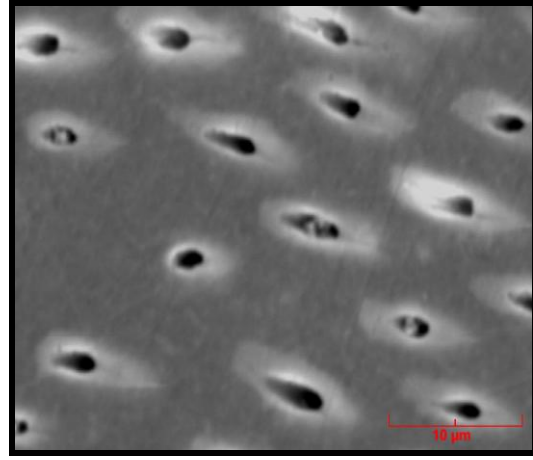
Resim 37. Aqua Prep F uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X1500)

4.4.5. Isodan

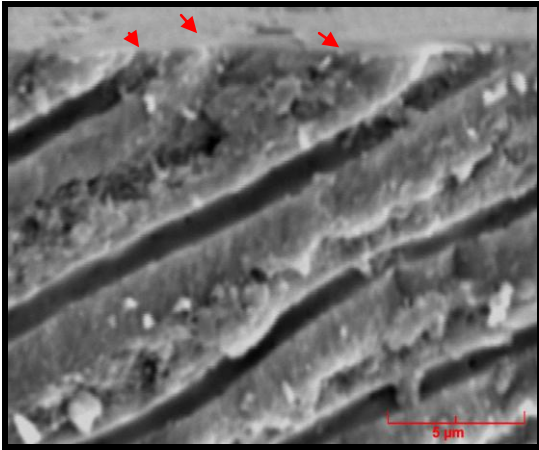
Isodan'ın dentin yüzeylerindeki etkinliğinin SEM ile incelenmesi sonucunda dentin tübüllerinin çok azında tübül tıkaçlarına rastlanmış olup tamamen tübüllerin tıkalı olduğu dentin görüntüsüne rastlanmamıştır (Resim 38, 39). Isodan uygulanan dentinin arayüz incelemelerinde dentin yüzeylerinde ince bir tabaka gözlenmiş olup tübül yüzeylerinde ve tübüllerin içinde bu tabakanın devamlılığına rastlanmamıştır (Resim 40).



Resim 38. Isodan uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X1000)



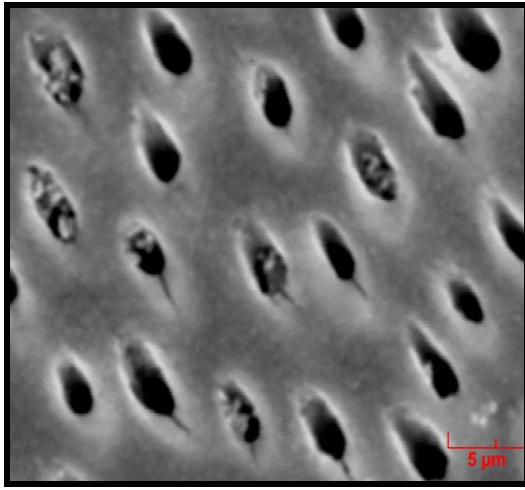
Resim 39. Isodan uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X3000)



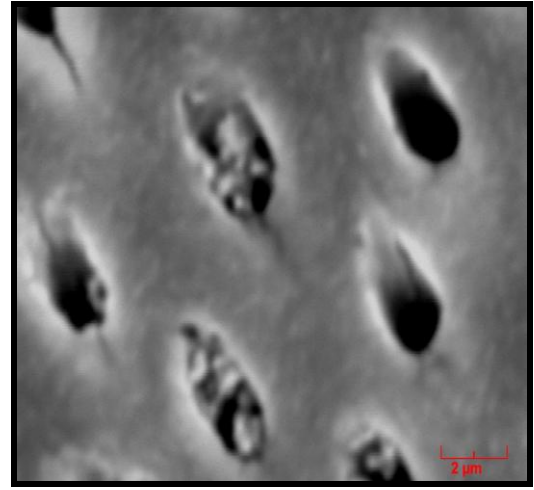
Resim 40. Isodan uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X6000)

4.4.6. Gluma

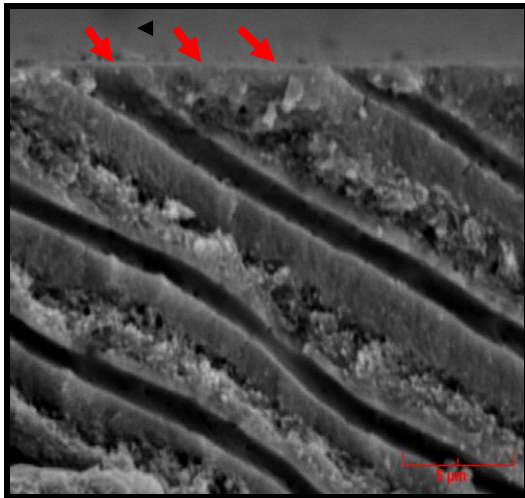
Gluma uygulanan dentin yüzeyleri SEM ile incelendiğinde tübül yüzeylerinde ince bir tabaka mevcut olup yer yer dentin tübül girişlerinde tübül tıkaçlarına rastlanmıştır. Fakat tamamen tübüllerin tıkalı olduğu dentin görüntüsü mevcut değildir (Resim 41,42). Gluma uygulanan dentin yüzeylerinin arayüz incelemelerinde dentin tübül yüzeylerinin ince bir tabaka ile kaplı olduğu fakat bukkal görüntüde yer yer elde edilen tübül tıkaçlarının dentin tübülü içinde ilerlemediği tespit edilmiştir (Resim 43).



Resim 41. Gluma uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X3500)



Resim 42. Gluma uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X7500)



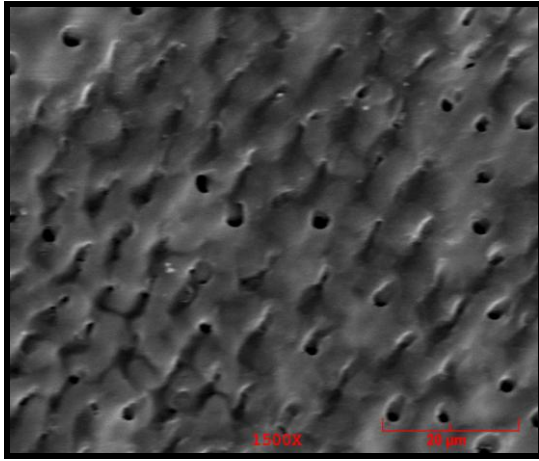
Resim 43. Gluma uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X2000)

Kırmızı oklar: Gluma uygulanan dentinin arayüz incelemesinde (X2000) dentin tübül yüzeyinde ince bir örtüleme gözlenmiştir.

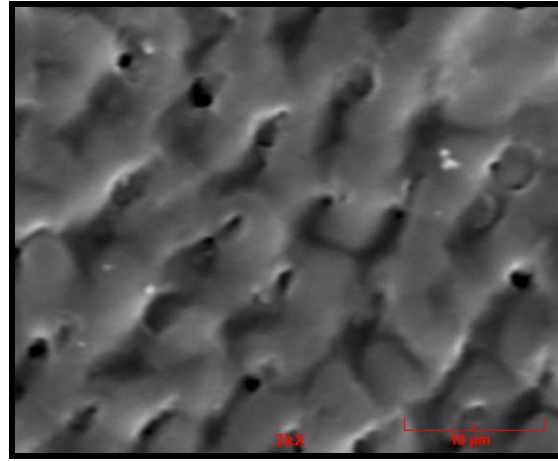
Fakat bu görüntüye tüm tübül yüzeylerinde ve tübül girişlerinde rastlanmamıştır.

4.4.7. BisBlock

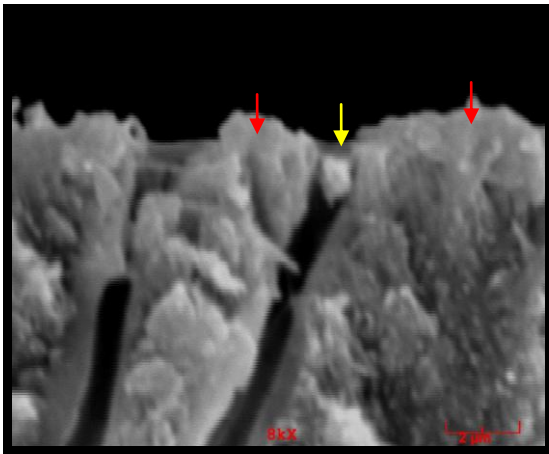
BisBlock uygulanan dentin yüzeyleri SEM ile incelendiğinde tübüleri kısmen örten bir tabaka tespit edilmiştir. Bu tabakanın bazı tübüleri tamamen tıkamakla birlikte bazı tübüleri kısmen tıkamakta olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte boş dentin tübülerine de rastlanmıştır (Resim 44, 45). BisBlock uygulanan yüzeylerin arayüz incelemelerinde dentin yüzeyini örten bir katman gözlenmiştir. Bu katmanın bazı dentin tübülerinde tıkaç oluşturduğu bazılarında ise tübül içlerine doğru ilerlediği belirlenmiştir (Resim 46).



Resim 44. BisBlock uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X1500)



Resim 45. BisBlock uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X3000)



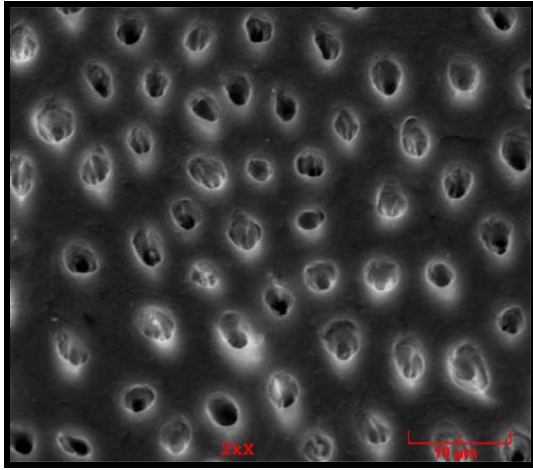
Resim 46. BisBlock uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X8000)

BisBlock uygulanan dentinin arayüz incelemesinde (X8000) dentin tübül yüzeyinde görülen tabakanın dentin tübül içlerine doğru ilerlediği gözlenmiştir.

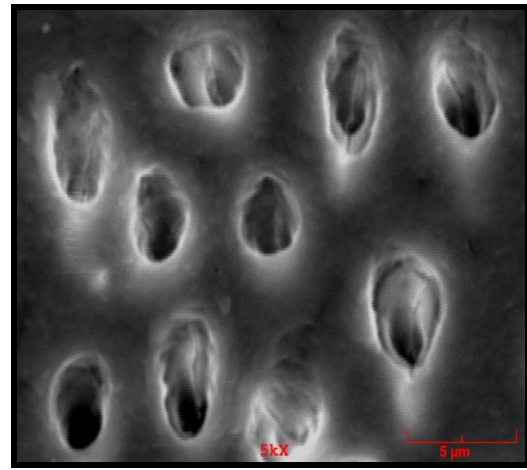
Kırmızı ok: Dentin yüzeyini örten katmanı, sarı ok kısmen tıkalı olan dentin tübülünü göstermektedir.

4.4.8. UltraEZ

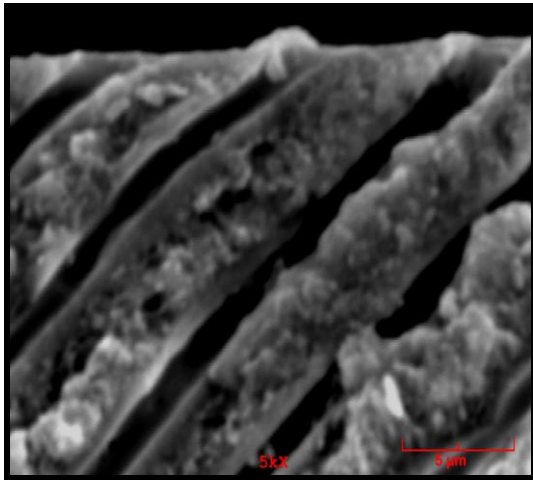
UltraEZ uygulanan dentin yüzeyleri SEM ile incelendiğinde genel olarak dentin tübüllerinde tübül tıkaçlarına rastlanmıştır. Tübüllerin tamamen kapalı olduğu dentin görüntüsü yanında boş dentin tübüllerine de rastlanmıştır (Resim 47, 48). UltraEZ uygulanan dentin yüzeylerinin arayüz incelemelerinde dentin tübül yüzeylerinde örtücü bir tabaka mevcut olup bu tabakanın bazı tübüllerde tübül içlerine doğru devam ettiği bazı tübüllerde ise devamlılığının olmadığı tespit edilmiştir (Resim 49).



Resim 47. UltraEZ uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X2000)



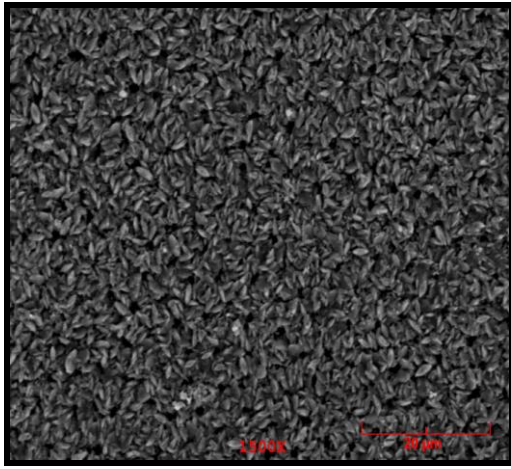
Resim 48. UltraEZ uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X5000)



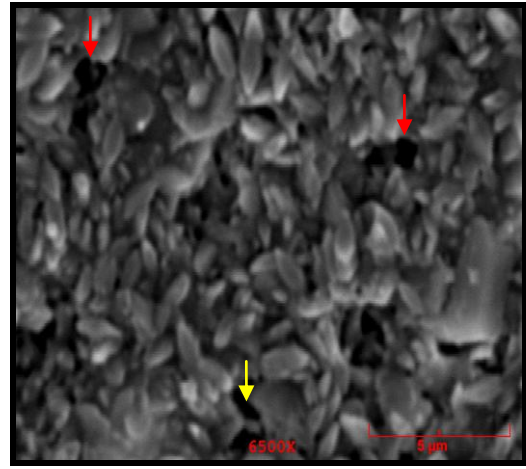
Resim 49. UltraEZ uygulanan dentin tübül yüzeylerinin arayüz SEM görüntüsü (X50000)

4.4.9. D/Sense Crystal

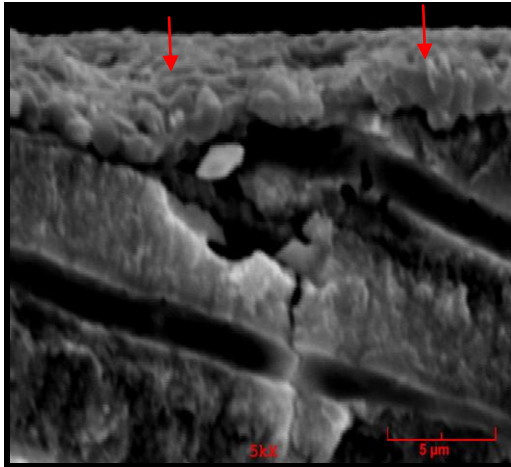
D/Sense Crystal uygulanan dentin yüzeyleri SEM ile incelendiğinde genel olarak tüm yüzeylerin kristalin bir tabakayla kaplı olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında boş dentin tübüllerine ve kısmen tıkalı tübüllere de rastlanmıştır (Resim 50, 51). D/Sense Crystal uygulanan dentin yüzeylerinin arayüz incelemelerinde dentin tübül yüzeylerinin ve tübül girişlerinin bukkal görüntülerde olduğu gibi kristal çökmesiyle kaplı olduğu tespit edilmiştir (Resim 52, 53).



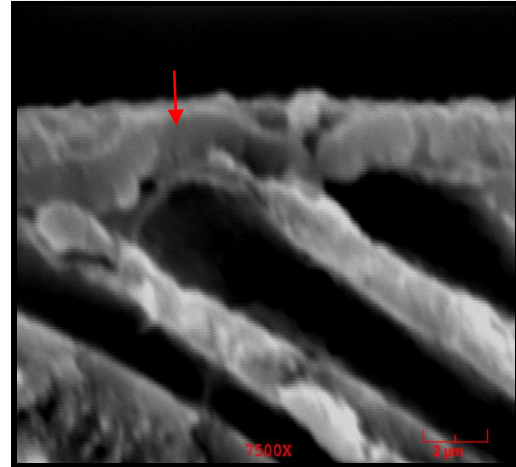
Resim 50. D/Sense Crystal uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X1500)



Resim 51. D/ Sense Crystal uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X6500) Kırmızı ok boş dentin tübüllerini, sarı ok kısmen tıkalı olan dentin tübülünü göstermektedir.



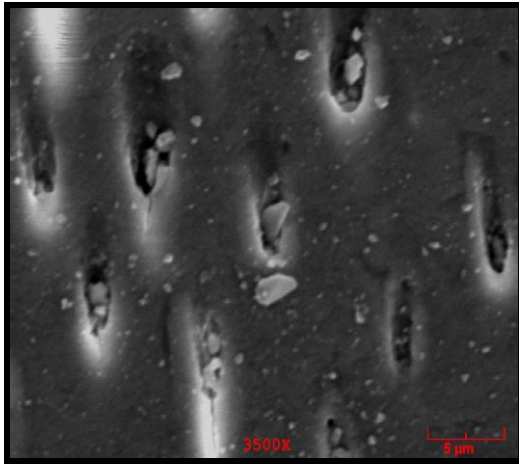
Resim 52. D/Sense Crystal uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X5000)



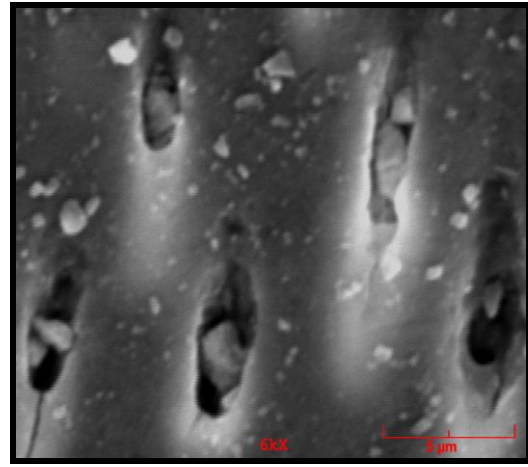
Resim 53. D/Sense Crystal uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X7500)

4.4.10. Colgate Sensitive Pro-Relief

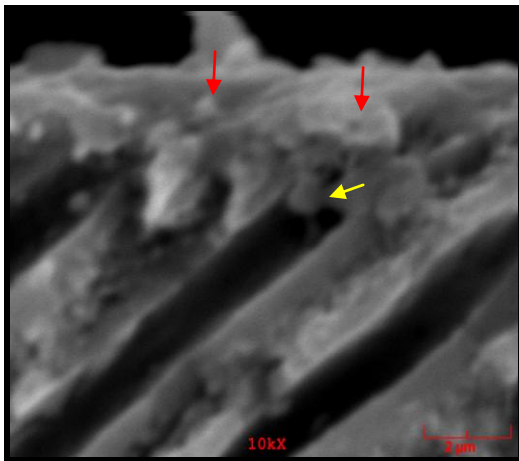
Colgate Sensitive Pro-Relief uygulanan dentin yüzeyleri SEM ile incelendiğinde tübüllerin tamamen veya kısmen tıkalı olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında tıkalı olmayan boş dentin tübüllerine de rastlanmıştır (Resim 54, 55). Colgate Sensitive Pro-Relief uygulanan dentin yüzeylerinin arayüz incelemelerinde tübül yüzeylerinin ve tübül girişlerinin bukkal görüntülerde olduğu gibi tıkalı olduğu ve bu tıkaçların bazı dentin tübüllerinin iç yüzeyine doğru ilerlediği tespit edilmiştir (Resim 56).



Resim 54. Colgate Sensitive Pro-Relief uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X3500)



Resim 55. Colgate Sensitive Pro-Relief uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X6000)

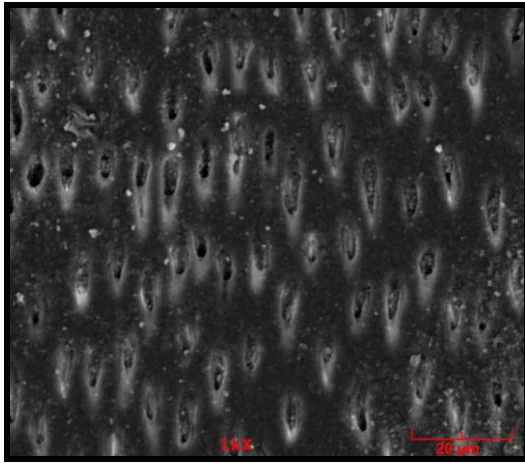


Resim 56. Colgate Sensitive Pro-Relief uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X10000)

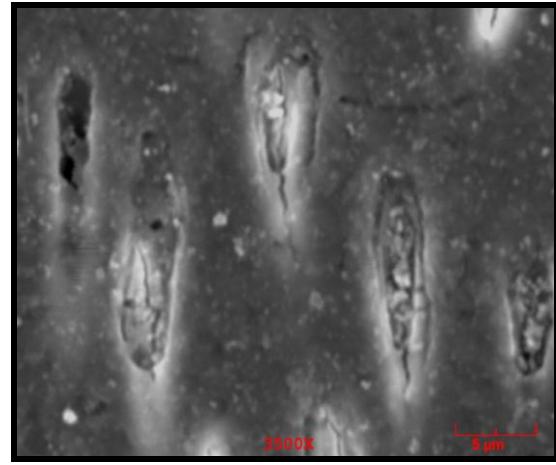
Kırmızı oklar: Dentin yüzeylerinin ve dentin tübül ağzlarının tıkalı olduğunu göstermektedir.
Sarı ok: Tübül tıkaçlarının dentin tübül içine doğru ilerlediğini göstermektedir.

4.4.11. Topex

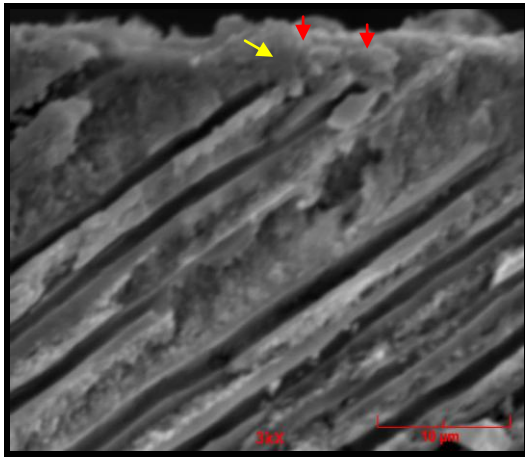
Topex uygulanan dentin yüzeyleri SEM ile incelendiğinde genel olarak tübüllerin tıkalı olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında tıkalı olmayan ya da kısmen tıkalı olan dentin tübüllerine de rastlanmıştır (Resim 57, 58). Topex uygulanan dentin yüzeylerinin arayüz incelemelerinde tübül yüzeylerinin ve tübül girişlerinin bukkal görüntülerdeki gibi bir tabakayla örtülü olduğu ve bu tabakanın tübül içlerine doğru ilerlediği tespit edilmiştir (Resim 59).



Resim 57. Topex uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X1000)



Resim 58. Topex uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X3500)



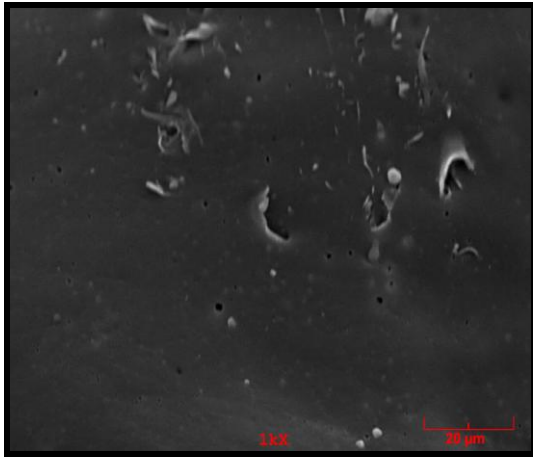
Resim 59. Topex uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X3000)

Kırmızı oklar: Dentin yüzeylerinin ve tübül girişlerinin tıkalı olduğunu göstermektedir.

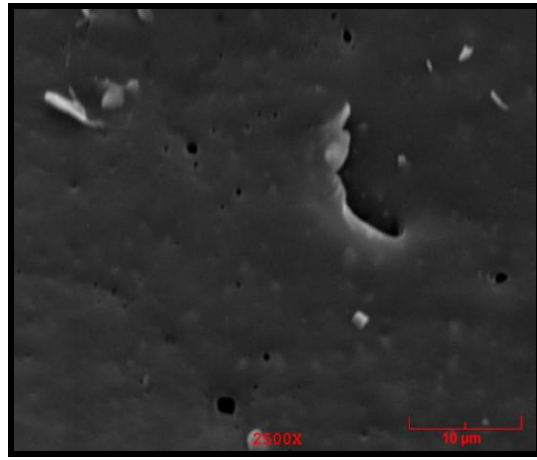
Sarı ok: Tübül tıkaçlarının dentin tübül içine doğru ilerlediğini göstermektedir.

4.4.12. Clinpro White Varnish

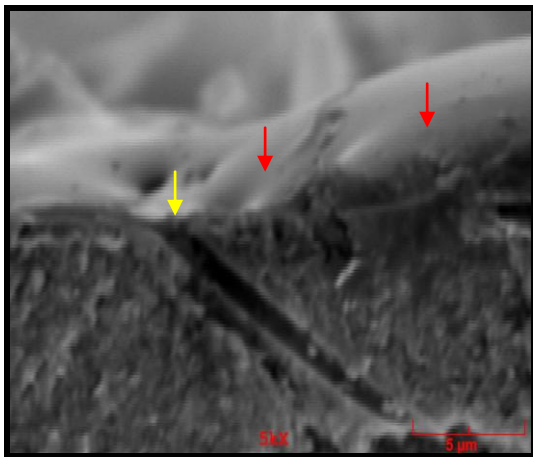
Clinpro White Varnish uygulanan dentin yüzeyleri SEM ile incelendiğinde dentin yüzeyinin genel olarak tıkalı olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında tıkalı olmayan veya kısmen tıkalı olan tübüllere de rastlanmıştır (Resim 60, 61). Arayüz incelemelerinde dentin tübül yüzeylerinin ve tübül girişlerinin bukkal görüntülerde olduğu gibi kalın bir tabakayla kaplı olduğu ve bu tabakanın bazı dentin tübüllerinde tübül içlerine doğru ilerlediği tespit edilmiştir (Resim 62).



Resim 60. Clinpro White Varnish uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X1000)



Resim 61. Clinpro White Varnish uygulanan dentin tübül yüzeylerinin SEM görüntüsü (X2500)



Resim 62. Clinpro White Varnish uygulanan dentin tübüllerinin arayüz SEM görüntüsü (X5000)

*Kırmızı oklar: Dentin yüzeylerini ve tübül girişlerini örten tabaka
Sarı ok: Tübül tıkaçlarının dentin tübül içine doğru ilerlediğini göstermektedir.*

5. TARTIşMA

Toplumda oldukça yaygın olarak görülen ve çok geniş bir yaş aralığını etkileyen DH tedavisi amacıyla farklı bileşenlere ve farklı etki mekanizmasına sahip pek çok ürün piyasada mevcuttur. DH tedavisinin uzun süreli bir tedavi olması ve DHGA'nın dişlerin servikal bölgelerine uygulanması nedeniyle bu ajanların dişetiyle teması muhtemeldir. Ayrıca dentin yüzeyine uygulanan ajanlar veya bileşenleri tübül boyunca ilerleyerek pulpaya kadar ulaşabilir. Bazı DHGA glutraldehit, HEMA, aseton, triklosan, metakrilat rezinler, sodyum fluorür gibi toksik bileşenler içermektedir (231). Bu nedenle bu materyallerin gingival ve pulpal dokulara olası sitotoksik etkilerinin bilinmesi diş ve dişeti sağlığı açısından oldukça önemlidir. DHGA'nın etki mekanizması ve klinik etkinliği ile ilgili oldukça fazla çalışma olmasına rağmen biyouyumlulukları ile ilgili çalışma sayısı oldukça sınırlıdır (263). Bu alışmada DH tedavisinde kullanılan farklı içeriklere sahip DHGA'nın insan dişeti bağ dokusu hücreleri (gingival fibroblastlar) ve pulpa hücreleri (pulpal fibroblastlar) zerindeki sitotoksik etkisi araştırıldı.

Dental materyallerin biyouyumluluklarının değerlendirilmesi in vitro testler ve hücre kültürleri kullanılarak yapılmaktadır (176, 230, 239, 268, 277). Bu amaçla literatürde rezinlerin sitotoksitesinin incelendiği in vitro çalışmalarda primer hücreler olan insan periodontal ligament hücreleri, pulpal fibroblastlar, gingival fibroblastlar ve odontoblast benzeri hücreler ve 3T3 ve L-929 gibi daimi hücre serileri kullanılmıştır (243, 246-248). Ayrıca primer ve immortalize edilmiş sığır dental papillasından türetilmiş hücreler de in vitro sitotoksiste çalışmalarında kullanılmıştır (233, 246-248).

Daimi hücre serileri elde edilmesi kolay ve testlerin tekrarlanabilirliği açısından daha uygun bulunmakla birlikte (278) primer hücre serilerinin spesifik metabolik faaliyetleri ile in vivo koşullara daha uyumlu olduğu gösterilmiştir (244, 245). Ayrıca toksik bir ajan olduğu bilinen formaldehitin farklı hücre kültür serileri üzerindeki toksitesinin değerlendirildiği bir çalışmada primer insan pulpal fibroblastlarının ve insan epitelyal hücrelerinin formaldehite karşı duyarlılığının daimi bir hücre serisi olan HeLa kanser hücrelerinden daha fazla olduğu

belirlenmiştir (279). Dental materyallerin in vitro sitotoksitesinin değerlendirildiği uluslararası standartlara göre (ISO 2009, 10993-5) daimi hücre serilerinin ve spesifik duyarlılığın belirlenmesi gereken durumlarda canlı dokulardan elde edilen primer hücre kültürlerinin kullanılabileceği belirtilmiştir (280). Ayrıca son yıllarda DHGA'nın in vitro sitotoksitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda çekilmiş dişlerden kültüre edilen pulpal fibroblast hücreleri (230, 264, 281) ve yine çekilmiş dişlerin yüzeyine tutunan dişeti dokularından kültüre edilen gingival hücreler kullanılmaktadır (268).

DH tedavisinde kullanılan ajanlar dişlerin servikal bölgelerine uygulanırken direkt olarak dişeti dokusu ile temas halindedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında klinik koşulları taklit edebilmek amacıyla gingival fibroblastlar üzerine direkt temas metoduyla uygulanan DHGA'nın farklı konsantrasyonlarının gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkileri belirlenmeye çalışıldı. Yine klinik koşulları taklit edebilmek amacıyla basit bir düzenekle DHGA ile pulpal fibroblastlar arasına iki farklı kalınlıkta dentin bariyerleri yerleştirilerek DHGA'nın pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkileri belirlenmeye çalışıldı. Bu nedenle pulpal hücreler ve gingival hücreler gibi primer hücrelerin elde edilmesi ve üretilmesi daha zor olsa da in vivo koşulları daha iyi taklit edebilmelerinden ötürü çalışmada bu hücre serileri kullanıldı.

Biyouyumluluk değerlendirmelerinde in vitro sitotoksikite testleri diğer test metodları olan hayvan deneyleri ve klinik çalışmalara göre daha düşük maliyetli, daha hızlı sonuç alınan ve etik onay gerektirmeyen testlerdir (239, 240). In vivo hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar vakanın sonucunu göstermekle birlikte buna sebep olan mekanizmayı göstermez. In vitro deneylerde ise kompleks in vivo sistemlerin farklı yönleri birbirinden bağımsız olarak incelendiğinden mekanizma açıklığa kavuşur. Dental materyallerin biyolojik etki mekanizmasının açığa çıkarılması daha biyouyumlu materyallerin üretilmesine ışık tutar. In vitro sitotoksikite testleri hayvan deneylerinin tamamen yerini almasa da hayvan deneylerinin azalmasına neden olur (240). Bu nedenle bu çalışma da in vitro olarak düzenlendi.

Dental materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesinde test materyali ile hedef hücreler arasında kontakt sağlanmalıdır (238, 240). Bu temas direkt kontakt şeklinde olabileceği gibi indirekt kontakt şeklinde de olabilir. Direkt temas testlerinde hücrelerle kültür ortamı temas halindedir. Test materyaliyle gingival dokuların direkt kontakt halinde olduğu durumlarda (örneğin DHGA'nın dişlerin kole bölgesine uygulanırken gingival dokularla teması kaçınılmazdır) direkt kontakt testlerinin kullanılması ile in vivo koşullar taklit edilmeye çalışılır. Bu çalışmada ilk olarak DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki in vitro

sitotoksitesini değerlendirmek amacıyla DHGA'nın farklı konsantrasyonları ile gingival hücreler arasında direkt kontakt sağlanması amaçlandı.

İndirekt kontakt testlerinde ise hücrelerle test materyalleri arasında geçirgen bir bariyer mevcuttur. Bu bariyer agar difüzyon testinde olduğu üzere bir agar tabakası olabileceği gibi (248), milipore filtre metodunda kullanılan milipore filtre de olabilir (252). Dentin bariyer testi de indirekt test metodlarından biridir. Dentin dokusu, dental materyallerle pulpal dokular arasında direkt temasın olmadığı durumlarda bariyer görevi görür. Örneğin pulpal ekspozürün olmadığı durumlarda dentin bonding ajanların ve dolgu materyallerinin dentin yüzeyine uygulandığı durumlarda dentin, test materyalleri ile kültür ortamı arasında bariyer görevi görür (240). DHGA'nın dişlerin kole bölgesinde açıkta kalan dentin dokusuna uygulandığı durumlarda da dentin, DHGA ile pulpal hücreler arasında bir bariyer görevi görür. Bu nedenle bu çalışmada pulpal fibroblastlarla DHGA arasında farklı kalınlıklarda dentin dokusu kullanılarak klinik koşullardaki dentin bariyeri taklit edilmeye çalışıldı. DHGA ile pulpal fibroblastlar arasına yerleştirilen dentin bariyerin kalınlığı arttıkça toksik materyallerin konsantrasyonunda azalma görülür. Stanley, sitotoksite konsantrasyonlarının ölçümü için en uygun dentin kalınlığının 0.5 mm olduğunu bildirmiştir (239, 257). 0.5 mm'nin üzerindeki dentin kalınlıklarının dentin geçirgenliğini anlamlı oranda azalttığı bildirilmiştir (256). Bu nedenle bu tez çalışmasında 0.5 mm kalınlığında dentin diskleri kullanılarak elde edilen toksisite sonuçlarıyla 1 mm kalınlığındaki dentin diskleri kullanılmasıyla elde edilen toksisite sonuçları karşılaştırıldı. Dentin disklerinin yüzeyindeki olası smear tabakasının uzaklaştırılması için %17'lik EDTA dentin yüzeylerine 2 dakika boyunca uygulandı.

Test materyallerinin canlı hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla en sık kullanılan metodlardan biri MTT testidir. MTT testi uygulama kolaylığı ve yüksek hassasiyeti nedeniyle sıklıkla kullanılır (232, 263, 264, 277, 281). Bu yöntemde tetrazolyum tuzu olan MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromid] boyasının canlı hücreler tarafından indirgenmesi özelliğinden yararlanılır. Canlı hücreler, mitokondriyal enzimlerle MTT boyasının tetrazolyum halkasını parçalayarak sarı renkli MTT boyasını mor renkli formazan ürününe dönüştürür. Canlı kalan hücreler içinde tutulan formazan kristalleri dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözüldüğünde oluşan renk yoğunluğu (optik yoğunluk değeri) 570 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk yoğunluğu ortamdaki canlı hücre sayısı ile orantılıdır (273, 283). Bu çalışmada da MTT testi kullanılarak DHGA'nın sitotoksik etkisi değerlendirildi. Elde edilen optik yoğunluk değerlerinin kontrol grubu ve birbirleriyle

karşılaştırılması yapılarak DHGA'nın gingival fibroblastlar ve pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkisi belirlenmeye çalışıldı.

Bu çalışmada ilk olarak farklı konsantrasyonlarda hazırlanan DHGA gingival fibroblastlar üzerine direkt olarak uygulandı. DHGA gingival fibroblastlar üzerine direkt olarak uygulandığında Smart Protect, Seal&Protect, BisBlock, D/Sense Crystal, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish gruplarının sitotoksik etkilerinde konsantrasyona bağlı olarak azalma görüldü. Bu gruplar arasında incelenen tüm konsantrasyonlarda en az sitotoksik etkiyi Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish grupları gösterdi. Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma gruplarının sitotoksitesinde konsantrasyona bağlı olarak azalma görülmeydi. İkinci olarak pulpal fibroblastlarla DHGA arasına yerleştirilen farklı kalınlıklardaki dentin bariyerinin üzerine ajan uygulandı ve dentin bariyerinin sitotoksitesine etkisi belirlenmeye çalışıldı. DHGA'nın her iki kalınlıktaki dentin diskine uygulanması sonucu pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde en düşük sitotoksik etki Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish gruplarında görüldü. Hem 0.5 mm hem de 1 mm'lik dentin bariyerine uygulanan DHGA'dan Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplara göre daha sitotoksik bulundu. Seal&Protect ve D/Sense Crystal grupları orta dereceli sitotoksik etki gösterdi.

Bu çalışmanın 3. aşamasında 0.5 mm ve 1 mm kalınlığında dentin diski kullanılan 24 kuyucuklu kaplarda yapılan testlerden sonra kalan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki pulpa fibroblastlar üzerindeki direkt sitotoksik etkisi incelendi. 0.5 mm kalınlığındaki dentin diski kullanıldığında DHGA'nın konsantrasyonları azaldıkça sitotoksik etkilerinde de azalma görüldü.

Tüm konsantrasyonlarda; Seal&Protect, BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları diğer gruplardan daha az sitotoksik bulunmuştur. %1'lik konsantrasyon dışındaki tüm konsantrasyonlarda Smart Protect, Systemp Desensitizer, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplardan daha sitotoksik olarak kaydedildi. %1'lik konsantrasyonda ise Smart Protect, Systemp Desensitizer ve Isodan grupları diğer tüm gruplardan daha sitotoksik bulundu.

1 mm kalınlığındaki dentin bariyeri kullanıldığında 24 kuyucuklu kaplardan alınan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki pulpa fibroblastları üzerinde direkt sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi sonucunda da DHGA'nın konsantrasyonları azaldıkça sitotoksik etkilerinde azalma görülmüştür. Seal&Protect, BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex,

Clinpro White Varnish grupları diğer gruplardan daha az sitotoksik bulundu. %1'lik konsantrasyon dışındaki tüm konsantrasyonlarda Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplardan daha sitotoksiktir. %1'lik konsantrasyonda ise Smart Protect grubu diğer tüm gruplardan daha sitotoksik bulundu.

Rezin esaslı hassasiyet gidericilerin monomer içerikleri oluşan sitotoksik etkiden sorumlu olabilir. Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma'nın sitotoksik etkisi HEMA'yı yüksek oranda içermeleri ile ilişkili olabilir. HEMA düşük molekül ağırlıklı, hidrofilik bir monomerdir. Bu nedenle HEMA, kalan dentin dokusundan kolayca penetre olup odontoblast vitalitesini ve fizyolojik aktivitesini etkileyebilir (283, 284). HEMA'nın oksidatif stres üretimi, hücre siklus perturbasyonu ve apoptozu indükleyerek insan pulpal fibroblastlarının gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir (231). Bunun yanında HEMA'nın insan gingival fibroblastları üzerinde apoptozdan çok nekroz gelişimine neden olarak hücre ölümüne neden olduğu belirtilmiştir (285). HEMA'nın düşük dozda, uzun dönem sitotoksik etkisinin değerlendirildiği çalışmalarda pulpal dokuların normal inflamatuvar cevap oluşturmalarını engellediği ve uzun dönemde pulpal fibroblastların odontoblastlara dönüşümünde perturbasyona neden olduğu belirtilmiştir. Böylece pulpal hemostazı tehlikeye düşürdüğü bildirilmiştir Bunun yanında HEMA'nın sitotoksitesinin zaman ve konsantrasyona bağlı olduğu bildirilmiştir (286, 287). Sonuç olarak HEMA, TEGDMA ve Bis-GMA gibi monomerlerden daha düşük sitotoksik etkiye sahip olmasına rağmen oldukça aktif bir biyomoleküldür. HEMA, mobilitesi ve düşük moleküler ağırlığı nedeniyle biyoyumumluluk açısından oldukça kritik bir moleküldür (288).

Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma gruplarının HEMA içermesi sitotoksik etkilerinden sorumlu olabilir. Gluma'nın yapısında HEMA'nın yanında glutraldehit de bulunur. Glutraldehitin periferel tübüler sıvıdaki proteinleri koagule ederek tübüler sıvı akışı önlediği böylece DH'nin giderilmesinde etkin rol oynadığı bildirilmiştir (164). Doku fiks edici özelliği olan glutraldehit hücreler için toksiktir (232, 263). Glutraldehitin bu özelliği Gluma'nın dentin yüzeyine uygulandığı durumlarda monomer difüzyonunun azalmasına neden olabilir (263). Aqua-Prep F'in yapısında HEMA'nın yanında %1-2 sodyum fluorür bulunur. Isodan'ın yapısında ise HEMA'nın yanında % 0-0.5 kadar sodyum fluorür bulunmaktadır. Sodyum fluorürün düşük pH'da sitotoksik etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (236, 289). Aqua-Prep F ve Isodan'ın sitotoksitesinden HEMA ve sodyum fluorürün sorumlu olabileceği gibi bu iki maddenin kombine etkisinin sitotoksitesiteyi etkileyebilir. Ayrıca Isodan'ın düşük pH'sının da (pH: 2.2) sitotoksik potansiyeli olabilir. Sodyum fluorür içeren Topex ve Clinpro White Varnish gingival hücrelere direkt olarak uygulandığında %50'lik

konsantrasyonda sitotoksik olmasına rağmen konsantrasyon oranı azaldıkça bu grupların sitotoksitesileri önemli oranda azalmıştır. Benzer şekilde 0.5 mm ve 1 mm'lik dentin diski kullanıldığında bu iki ajanın sitotoksitesisi diğer gruplara göre anlamlı oranda azalmaktadır. Bunun yanında 24 kuyucuklu kaplardan alınan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki pulpa fibroblastları üzerinde direkt sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi sonucunda sodyum fluorür içeren Topex ve Clinpro White Varnish'in diğer gruplardan tüm konsantrasyonlarda düşük sitotoksik etki gösterdiği belirlendi. Yapılan çalışmalarda yüksek konsantrasyonlardaki sodyum fluorürün insan epitel dokusu hücrelerinin (HaCaT hücreleri) proliferasyonunu engellediği bunun yanında sodyum fluorüre karşı oluşan hücre cevabının hücre tipine bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir (290, 291). Bu çalışmada kullanılan sodyum fluorür içeren ajanların sitotoksik etkisi konsantrasyonun düşmesiyle önemli oranda azalmıştır. Bunun yanında dentin bariyeri kullanımı da sodyum fluorürün sitotoksitesini azaltmış olabilir. Buradan yola çıkarak yapısında HEMA ve düşük konsantrasyonda sodyum fluorür içeren Aqua-Prep F ve Isodan'ın sitotoksitesinden HEMA'nın ve HEMA ile sodyum fluorürün kombine etkisinin veya bu ajanların yapısındaki yardımcı maddelerin sorumlu olabileceği söylenebilir.

Smart Protect, gingival fibroblastlar üzerine direkt olarak uygulandığında %1'lik konsantrasyonda sitotoksik etkisinde azalma olmakla beraber 0.5 mm ve 1 mm'lik dentin diski kullanıldığında sitotoksitesinde azalma görülmedi. Bunun yanında 24 kuyucuklu kaplardan alınan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki pulpal fibroblastlar üzerindeki direkt sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi sonucunda Smart Protect diğer gruplardan daha sitotoksik etki gösterdi. Smart Protect'in yapısında %2-10 oranında glutraldehit, % 20-30 oranında izopropil alkol ve %0.14 oranında fluorür bulunmaktadır. Smart Protect'in sitotoksik etkisi glutraldehit içeriğine ve/veya yüksek konsantrasyonda alkol içeriğine bağlı olabilir (232).

Systemp Desensitizer, %5 oranında glutraldehit, %0.1 oranında maleik asit, polietilen glikoldimetakrilat ve su içerir. Systemp Desensitizer'in gingival fibroblastlar üzerinde tüm konsantrasyonlarda oldukça yüksek sitotoksite gösterdi. Dentin bariyeri kullanıldığında da Systemp Desensitizer'in pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksitesisi oldukça yüksek bulundu. Bunun yanında 24 kuyucuklu kaplarda yapılan testlerden sonra kalan kuyucuk içeriğinin pulpal fibroblastlar üzerinde yüksek oranda sitotoksik etki gösterdiği belirlendi. Systemp Desensitizer'in sitotoksik etkisi glutraldehit içeriğine ve polietilen glikoldimetakrilat içeriğine bağlı olabilir (232, 263). Hidrofobik metakrilat monomerler canlı

dokuların hücre membranlarındaki lipid tabakasının yapısına katılıp membran lipidlerinin çözülmesine neden olabilir (263).

Seal&Protect'in, gingival fibroblastlar üzerindeki direkt sitotoksik etkisinde konsantrasyondaki azalmaya bağlı olarak azalma görülmekle beraber tüm konsantrasyonlarda sitotoksik etki oluşturdu. 0.5 mm ve 1 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanıldığında Seal&Protect pulpal fibroblastlar üzerinde sitotoksik etki oluşturmakla beraber indirekt uygulamada direkt uygulamaya oranla daha az sitotoksikiteye sahiptir. Bunun yanında kuyucuk içeriğinin pulpal fibroblastlar üzerinde direkt sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi sonucunda Seal&Protect'in toksisitesinde önemli oranda azalma görüldü. Seal&Protect'in yapısında di ve trimetakrilat rezinler bulunur. Bunun yanında, PENTA, fotoinitiatörler, bütillated hidroksitoluen, cetilamin hidrofluorür, triklosan, aseton ve silika gibi toksisitesi olan bileşenler mevcuttur. Seal&Protect'in gingival toksisitesi yapısındaki toksik potansiyeli olan rezinler yanında triklosan (234) ve aseton (235) gibi bileşenlere de bağlı olabilir. Seal&Protect'in sitotoksik etkisinin belirlenmesinde içerdiği toksik ajanların birbirleriyle olan etkileşiminin rolü bilinmemektedir. Seal&Protect klinik kullanımda DH olan dişlere uygulandıktan sonra mavi ışıkla polimerize edilir. Fakat mavi ışık uygulamasının hücre içinde serbest radikallerin oluşumuna neden olduğu ve hücre bölünmesini olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir (293). Bunun yanında görünür ışığın farklı hücre serilerinde oksidatif streslere neden olarak DNA modifikasyonlarına yol açtığı bildirilmiştir (294). Bu nedenle bu çalışmada Seal&Protect ışıkla polimerize edilmedi. Muhtemeldir ki ışıkla polimerizasyon Seal&Protect'in sitotoksitesini etkileyebilir.

BisBlock ve D/Sense Crystal gingival fibroblastlar üzerinde sitotoksik etki gösterdi. 0.5 mm ve 1 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanılması BisBlock'un sitotoksitesinde önemli ölçüde azalmaya neden oldu. D/Sense Crystal'in dentin bariyeri ile kullanılması pulpal fibroblastlar üzerinde sitotoksik etki gösterdi. Fakat pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etki gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkiden daha düşük bulundu. BisBlock'un yapısında %5'ten az oranda okzalik asit bulunur. D/Sense Crystal'in yapısında ise %2.5 potasyum diokzalat, %2.5 nitrik asit mevcuttur. Okzalatın hücre membran hasarı ve organel yaralanmasına neden olduğu bildirilmiştir (129). Ayrıca renal hücre kültürlerinde kalsiyum okzalat monohidratın kültüre edilmiş insan proksimal tübül hücrelerine sitotoksik etkisi olduğu bildirilmiştir (295). Bu ajanların gingival fibroblastlar üzerindeki direkt sitotoksik etkisi okzalatın sitotoksik etkisine bağlı olabilir. Dentin bariyeri kullanıldığında ajanların sitotoksitesinin azalma nedeni kalsiyum okzalat ve potasyum okzalat kristallerinin dentin

tübüllerini tıkaması olabilir. Bu da pulpal fibroblastlara ulaşan ajan miktarının azalmasına neden olabilir.

UltraEZ'in gingival fibroblastlar üzerindeki direkt sitotoksik etkisinde konsantrasyona bağlı olarak önemli ölçüde azalma görüldü. Bunun yanında dentin bariyeri kullanımı pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkinin azalmasına neden oldu. Ayrıca 24 kuyucuklu kaplardan alınan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki pulpal fibroblastlar üzerinde direkt sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi sonucunda UltraEZ'in tüm konsantrasyonlarda düşük sitotoksik etki gösterdiği belirlendi. UltraEZ ile benzer içeriğe sahip (%7 potasyum nitrat ve %0.025 sodyum fluorür) deneysel bir gargaranın 1 dakikalık uygulamadan sonra insan özafagus hücreleri için toksik olmadığı bildirilmiştir (296).

Colgate Sensitive Pro-Relief yapılan tüm deneylerde en düşük sitotoksik etkiyi gösteren ajandır. Colgate Sensitive Pro-Relief, gingival fibroblastlar üzerinde %50'lik konsantrasyonda kontrol grubuna göre gösterdiği yüksek sitotoksik etki dışındaki diğer tüm konsantrasyonlarda düşük sitotoksik etki göstermiştir. Colgate Sensitive Pro-Relief L-arjinin, kalsiyum karbonat, gliserin, su, bikarbonat, hidrate silika ve sodyum sakkarin gibi toksik olmayan bileşenler içerir. Colgate Sensitive Pro-Relief'in açık dentin tübüllerini yüksek oranda tıkayıcı etkisi vardır. Bunun yanında arjinin tübül tıkaçlarının yapısına katılmakta ve oluşan tübül tıkaçları asit ataklarına karşı direnç oluşturmaktadır (160). Bu çalışmanın sonuçlarına göre düşük sitotoksik etki gösteren bu ajanın klinik kullanıma uygunluğu için farklı parametreleri de kapsayan in vitro ve in vivo çalışmalarla bu sonuçlar desteklenmelidir.

Bu çalışmada kullanılan DHGA'nın gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkisi klinik uygulamalardaki gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkiden daha yüksek olabilir. Çünkü klinik uygulamalarda tükürüğün varlığı DHGA'yı seyrelterek sitotoksik etkisini azaltabilir veya ortadan kaldırabilir. Benzer şekilde çalışmadaki DHGA'nın pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkisinin klinik kullanımda DHGA'nın pulpada oluşturacağı sitotoksik etkiden düşük olması beklenebilir. Çünkü intrapulpal basınç bu çalışmada taklit edilmemiştir. Bu nedenle bu çalışmada elde edilen sitotoksikite konsantrasyonları klinik bulguları tamamen yansıtmayabilir.

DH, diş hekimliği pratiğinde çok sık karşılaşılan ve genelde dişlerin servikal bölgesinde görülen ağrılı bir durumdur (66). DH tedavisinde, dentin tübül geçirgenliğini azaltmak amacıyla dentin tübüllerinin tıkanması (297) veya kimyasal etkileşimlerle nöral stimülusların oluşmasının bloke edilmesi gibi tedavi seçenekleri mevcuttur (298). Bu amaçla DH tedavisinde kullanılmak amacıyla piyasada çok çeşitli tedavi seçenekleri mevcuttur. Bazı

durumlarda DH ile birlikte servikal sert doku kayıpları da görülmektedir. Bunun yanında DHGA uygulamasına rağmen tedaviye cevap vermeyen inatçı vakaların olduğu durumlarda açığa çıkan dentin yüzeyinin bir restoratif materyalle örtülmesi de gerekebilir. Bu amaçla sıklıkla cam iyonomer simanlar ve rezin kompozit materyaller kullanılmaktadır (299). Diğer taraftan, bu tür invaziv girişimlerden önce servikal doku kayıplarının olduğu durumlarda bir self-etch adeziv kullanımı düşünülebilir. Çünkü ayrı bir asitleme aşaması içeren etch-and-rinse adezivler yüksek asiditelerinden ötürü smear tabakasını tamamen uzaklaştırır. Dentin tübül girişlerinin tamamen açıldığı bu sistemlerde teknik hassasiyet yüksektir. Özellikle, dentinin aşırı demineralizasyonu, tübüllerde kalan suyun uzaklaştırılamaması böylece yetersiz monomer infiltrasyonu yeterli polimerizasyona engeldir. Bu durumlar rezin-dentin arayüzünün kısa sürede bozulmasına, bağlantı başarısızlığına ve postoperatif hassasiyetlere neden olabilmektedir (196, 300). Self-etch adezivler ise smear tabakasını ve smear tıkaçlarını tamamen kaldırmaz ve ayrı bir yıkama adımı içermezler. Teknik hassasiyeti düşük olan bu sistemlerin postoperatif hassasiyetin azalmasında önemli rol oynadığı bildirilmektedir (300). DHGA'nın rezin-dentin bağlanma dayanımına etkisi ile ilgili sonuçlar klinik uygulamalar açısından önemli olabilir. DHGA'nın adeziv rezinlerin bağlanma dayanımına etkisiyle ilgili literatürde çelişkili sonuçlar vardır (299). Bu nedenle bu çalışmada sitotoksisite deneylerinde kullanılan DHGA'nın bir self-etch adeziv olan Clearfil Tri-S Bond'un dentine bağlanma dayanımına etkisi araştırıldı. Bu çalışmanın bulgularına göre servikal dentin yüzeylerine uygulanan DHGA'dan en yüksek bağlanma dayanımı Gluma uygulanan grupta görüldü (Grup 6: 7.92 MPa). Gluma'nın bağlanma dayanım değeri kontrol grubuna göre çok az da olsa yüksek bulundu (Kontrol grubu: 7.90 MPa). Gluma'yı Aqua-Prep F takip etti (Grup 6: 7.81 MPa).

Self-etch adezivlerin bağlanma mekanizması dentinin yüzey tabakasının kısmen çözülmesiyle oluşan poröz tabakaya rezin infiltrasyonu ile açıklanır. Gluma ve Aqua-Prep F gruplarının her ikisi de HEMA içermektedir. HEMA'nın suyun yüzey gerilimini azaltarak dentine monomer difüzyonunu arttırdığı bildirilmiştir (301). Ayrıca Perdigao ve ark. yaptıkları bir çalışmada asitlenmiş ve kurulanmış dentin yüzeyine HEMA solüsyonu uygulanarak dentin tübüllerindeki interfibriler boşlukların açılması sağlanmış ve dentin nemini yeniden kazanmıştır. Bu durumun etanol bazlı, etanol-su bazlı ve aseton bazlı self-etch adeziv materyallerinin dentin tübüllerine penetrasyonunu kolaylaştırdığı buna bağlı olarak da bağlanma dayanımını arttırdığı bildirilmiştir (302). Benzer şekilde HEMA ve sodyum florür içeren Hurriseal uygulamasının dentine yüksek bağlanma dayanımı göstermesi HEMA'nın

hidrofilik etkisiyle interfibriler boşlukları açması ve monomer difuzyonunu arttırması ile açıklanmıştır (303). Bonding uygulamasından önce HEMA uygulaması dentin yüzeyindeki asidik etkiyi arttırmış olabilir. Bu nedenle HEMA içeren gruplarda bağlanma dayanımında artış görülebilir. Bu da HEMA'nın dentin tübüllerine penetrasyonunu ve sonrasında tübül içlerine rezinin infiltrasyonunu kolaylaştırabilir. Perdiago ve ark. kurulanmış dentin yüzeyine Aqua-Prep F uygulamasının aseton bazlı su içermeyen dentin adezivlerinin bağlanma dayanımını arttırdığını bildirmiştir (304).

HEMA içeren Gluma ve Aqua-Prep F uygulanan dentin yüzeylerinin SEM ile incelenmesinde dentin tübül girişlerinde yer yer tıkaçlara rastlanmıştır (Resim 35, 36, 41, 42). Arayüz incelemelerinde ise oklüzal görüntüde elde edilen tübül tıkaçlarının tübül ağzına doğru ilerlemediği tespit edilmiştir (Resim 37,43). Gluma'nın yapısında bulunan gluteraldehit öncelikle dentin tübül sıvısındaki serum albüminiyle reaksiyona girerek albüminin çökmesine neden olur. Sonra gluteraldehit albüminle ikinci bir reaksiyona daha girerek HEMA'nın polimerizasyonunu sağlar (183). Böylece tübül sıvı akışı önlenerek DH giderici etki oluşur. Bu reaksiyonun mekanizması, dentin yüzeylerinde kristal çökmesi olmamasının SEM görüntülerine yansması ile açıklanabilir (264). Kolker ve ark. yaptıkları bir çalışmada Gluma uygulanan dentin yüzeylerinde ince bir tabaka tespit etmiş olup dentin tübüllerinin pek çoğunun açık olduğu bildirmiştir (305). Bunun yanında Gluma'nın asit erozyonuna direncinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir in vitro çalışmada servikal dentin yüzeyine Gluma uygulandıktan sonra asidik solüsyon uygulamasının (Coca Cola, pH: 3.15) Gluma'nın tamamen çözülmesine neden olduğu bildirilmiştir (306). Bu çalışmada dentin yüzeyine Gluma uygulandıktan sonra pH'sı 2.7 olan Clearfil Tri-S Bond kullanılmıştır. Coca Cola'dan daha asidik bir solüsyon olan Clearfil Tri-S Bond uygulaması dentin yüzeyinde Gluma'nın oluşturduğu tübül tıkaçlarının tamamen çözülmesini sağlayarak dentin tübüllerine rezin infiltrasyonunu kolaylaştırmış olabilir.

Ayrıca HEMA içeren Isodan grubunun da makaslama bağlanma değeri kontrol, Gluma ve Aqua-Prep F gruplarından daha düşük olmakla birlikte diğer gruplardan daha yüksek bulundu. Isodan'ın HEMA içeriği, dentin tübüllerine penetrasyonu ve tübül içlerine rezin infiltrasyonunu arttırmış olabilir (303, 304). Isodan uygulanan dentin yüzeylerinin SEM ile incelenmesinde, dentin tübül girişlerinin çok azında tübül tıkaçlarına rastlanmış olup tamamen tübüllerin tıkalı olduğu dentin görüntüsüne rastlanmamıştır. Isodan'ın arayüz incelemesinde ise dentin tübül yüzeylerinde ve tübüllerin iç yüzeylerinde bu tabakanın devamlılığına rastlanılmadı (Resim 38-40). Isodan dentin yüzeyindeki kalsiyum iyonlarını kalsiyum fluorür

kristalleri şeklinde yüzeyden uzaklaştırabilir. SEM görüntülerinde dentin yüzeyinde kristal çökelmelerine rastlanmamasının nedeni oluşan kristallerin yüksek çözünürlüğü ve başka iyonlarla etkileşimi olabilir (264).

D/Sense Crystal, Topex ve Clinpro White Varnish gruplarının makaslama bağlantı değerleri Gluma ve Aqua-Prep F gruplarından anlamlı oranda düşük bulundu. Fluorür içeren DHGA'nın kalsiyum fluorür globülleri oluşturarak açık dentin tübüllerini bloke ettiği ve dentin sıvı akışını engellediği bildirilmiştir (43). Fluorür içeren DHGA dentin tübüllerinde mineral birikimine neden olduğundan tübüllerin içine rezin infiltrasyonunu engelleyebilir. Bu durum bağlanma dayanımının azalmasına neden olur (299). Bu çalışmada da fluorür içeren Topex ve Clinpro White Varnish'in SEM incelemelerinde genel olarak dentin tübüllerinin tıkalı olduğu tespit edilmiştir. Bu ajanların arayüz incelemelerinde tübül yüzeylerindeki tabakanın tübül ağzına doğru ilerlediği tespit edildi (Resim 57-62). Bu tıkaçlar tübül içlerine rezin infiltrasyonunu engellemiş olabilir. Nystrom ve ark. yaptıkları bir çalışmada sağlam dentine SnF_2 uygulamasının kompozitin dentin yüzeyine makaslama bağlanma dayanımını azalttığını bildirmiştir (307). Ancak fluorür uygulaması sonucu oluşan tübül tıkaçları tükürük içinde yavaşça çözülür ve etkinliği azalabilir (117). Bu çalışmada DHGA uygulanan örnekler 14 gün boyunca yapay tükürükte bekletildikten ve bir diş fırçası yardımıyla dentin yüzeyi fırçalandıktan sonra adeziv uygulamalar yapıldı. Bu nedenle fluorür içeren ajanların tübül tıkaç etkinliği 14 günün sonunda azalmış olabilir. Fakat yapay tükürükte bekletme tübül tıkaç etkinliğinde bir azalmaya neden olsa da bu çalışmada bağlanma dayanımında bir artışa neden olmamıştır.

D/Sense Crystal'ın makaslama bağlanma dayanım değerleri hem kontrol grubuna hem de Gluma ve Aqua-Prep F gruplarına göre anlamlı oranda düşüktür. D/Sense Crystal solüsyonu potasyum okzalit ve nitrik asidin pH'sı 1'den düşük olan sudaki karışımıdır. Dentin yüzeyine asidik okzalit solüsyonu uygulanması dentin yüzeyinden kalsiyum iyonlarının salınımına neden olur. Dentinden salınan kalsiyum iyonları kalsiyum okzalit kristalleri oluşturarak dentin tübüllerinin tıkanmasına yol açar (308). Bir in vitro çalışmada dentin yüzeyine D/Sense Crystal solüsyonu uygulamasının dentin geçirgenliğini azalttığı ve tübüllerde tıkanma sağladığı bildirilmiştir. Bunun yanında D/Sense Crystal uygulamasından sonra 10 dakika boyunca yapay tükürük solüsyonu uygulaması ve sonrasında 3 dakika boyunca sitrik asit solüsyonu uygulamasının tübüllerin tıkanmasında ve geçirgenliğinde azalmaya neden olmadığı bildirilmiştir (158). Bu çalışmada D/Sense Crystal uygulanan dentin yüzeyleri SEM ile incelendiğinde genel olarak tüm dentin yüzeylerinin ve dentin tübüllerinin kristal benzeri

bir tabakayla kaplı olduğu tespit edildi. Bunun yanında nadir olarak boş dentin tübüllerine ve kısmen tıkalı dentin tübüllerine de rastlandı. D/Sense Crystal'ın arayüz incelemelerinde dentin tübül yüzeylerinin ve tübül girişlerinin oklüzal görüntülerde olduğu gibi kristal çökeltileriyle kaplı olduğu tespit edildi (Resim 50-53).

Bu çalışmada da D/Sense Crystal uygulamasından sonra 14 gün boyunca yapay tükürükte bekleyen dentin örneklerinin yüzeyi fırçalandıktan sonra adeziv prosedürler uygulanmıştır. D/Sense Crystal'ın makaslama bağlanma dayanım değerindeki azalmanın nedeni resin monomerlerin dentin tübüllerine infiltrasyonunun engellenmesi olabilir. Bu durum dentin tübül girişlerindeki kalsiyum okzalit kristallerinin yapay tükürükte bekletme ve fırçalama ile uzaklaştırılamaması ile açıklanabilir. Pashley ve ark. yaptıkları bir çalışmada potasyum okzalit uygulanan dentin yüzeylerine adeziv resinlerin bağlanma dayanımının düşük olduğunu bildirmiştir. Okzalit uygulaması sonrası bağlanma dayanımındaki azalma dentin yüzeylerini ve tübül girişlerini örten kalsiyum okzalit kristallerinin varlığına atfedilmiştir. Potasyum okzalit uygulamasından sonra dentin yüzeyinin pomza ile temizlenmesi sonrası bağlanma dayanımında artış tespit edilmiştir (309). Pashley ve ark. dentin yüzeyine %32'lik fosforik asit uygulamasından sonra potasyum okzalit jel uygulamasının mikrogerilim bağlanma dayanımını azaltmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmadaki SEM incelemelerinde asitleme işlemi sonrasında potasyum okzalit jel uygulamasının dentin tübül içlerinde dentin yüzeyinden daha fazla kalsiyum okzalit kristallerinin birikimine neden olduğu ve tübül içlerindeki bu kristal birikiminin dentin yüzeyinde hibrit tabaka oluşumuna zarar vermediği bildirilmiştir. Resin monomerlerin tübül içlerindeki kristallerin etrafına penetre olarak resin taglar oluşturduğu bildirilmiştir (310).

Bu çalışmada D/Sense Crystal üretici talimatlarına göre uygulandığından uygulama öncesinde asitleme işlemi yapılmamıştır. D/Sense Crystal uygulandıktan sonra self-etch adeziv uygulaması yapıldı. Dentin yüzeyinde kalsiyum okzalit kristallerinin birikimi zayıf asiditesi olan Clearfil Tri-S Bond'un etkisini nötralize ederek hibrit tabaka oluşumunu inhibe etmiş olabilir. Bu durum D/Sense Crystal'ın makaslama bağlantı değerinin düşük olmasının nedenini açıklayabilir. Benzer şekilde Al Qahtani ve ark. monohidrojen-monopotasyum okzalit içeren Protect'in bonding ajanların dentin yüzeyine makaslama bağlanma dayanımını önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir. Bağlanma dayanımındaki bu azalma Protect'in yapısındaki monohidrojen-monopotasyum okzalitin dentin tübüllerinde tıkaç oluşturması ile açıklanmıştır (303).

BisBlock uygulanan dentin yüzeylerinin SEM ile incelenmesi sonucunda dentin tübüllerini kısmen örten bir tabaka tespit edildi. Bu katman, bazı dentin tübüllerini tamamen tıkamakla birlikte bir kısım dentin tübüllerinde kısmi tıkaç oluşturmaktadır. Bunun yanında boş dentin tübüllerine de rastlandı (Resim 44-46). BisBlock'un makaslama bağlanma dayanımı Gluma, Aqua-Prep F ve kontrol gruplarından düşük olmakla birlikte bu gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. BisBlock %5'ten az okzalik asit içerir. Üretici firmaya göre etki mekanizması asitlenmiş dentin yüzeyine uygulandığında okzalik asidin dentin tübüllerindeki kalsiyum iyonlarıyla reaksiyona girerek kalsiyum okzalat kristalleri oluşturması ve tübül sıvı akışını bloke etmesi şeklindedir. Ayrıca firmaya göre BisBlock'un dentin tübüllerine derin penetrasyonu fırça abrazyonu ile uzaklaştırılmasını engeller (311). BisBlock'un makaslama bağlanma dayanımındaki azalmanın nedeni fırça abrazyonuna gösterdiği direnç ve dentin tübüllerindeki tıkaçların rezin infiltrasyonunu engellemesi olabilir. Fakat BisBlock'un bağlanma dayanımında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmemesinin nedeni BisBlock uygulamasından önce asitleme işleminin yapılması olabilir. Çünkü yukarıda vurgulandığı gibi potasyum okzalat jel uygulamasından önce fosforik asit uygulamasının bağlanma dayanımını azaltmadığı bildirilmiştir. Asitleme işlemi sonrasında okzalat jel uygulamasının dentin tübül içlerinde dentin yüzeyinden daha fazla kalsiyum okzalat kristallerinin birikimine neden olduğu ve tübül içlerindeki bu kristal birikiminin dentin yüzeyinde hibrit tabaka oluşumuna zarar vermediği rapor edilmiştir. Resin monomerlerin tübül içlerindeki kristallerin etrafına penetre olarak rezin tagların olduğu bildirilmiştir (310).

Seal&Protect grubunun dentin yüzeyine makaslama bağlanma dayanımı kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte kontrol grubu ile arasında anlamlı fark görülmemiştir. Seal&Protect ışıqla sertleşen rezin içerir. Resinin suda çözülmemesi, rezini fırçalamaya karşı dirençli hale getirir. Bu nedenle Seal&Protect uygulanan dentin yüzeyindeki tübül tıkaçları yapay tükürükte bekledikten ve yüzeyi fırçalandıktan sonra da ortamdan uzaklaşmaz. Seal&Protect uygulanan dentin yüzeylerinin SEM incelemelerinde yüzeylerin bir bölümünün rezinle kaplı olduğu bir bölümünün ise rezin içermediği belirlenmiştir. Dentin tübüllerinin az bir bölümünde dentin tıkaçları tespit edilmiştir (264). Bu çalışmada da benzer SEM görüntüleri elde edilmiştir. Seal&Protect uygulanan dentin yüzeylerinin incelenmesinde örten bir rezin tabakası gözlenmekle birlikte dentin tübüllerinde rezin tabakasının kısmen devam ettiği ve pek çok dentin tübülünün açık olduğu gözlemlendi (Resim 32-34). Dentin tübüllerindeki rezin içerikli kısmi tıkaçlar ve bu tıkaçların suyla ve diş fırçası darbeleriyle uzaklaşmaması dentin

tübüllerine rezin infiltrasyonunu engelleyebilir. Bu da dentine bağlanma dayanımında azalmaya neden olabilir. Bu çalışmanın bulgularına göre Seal&Protect'in makaslama bağlanma dayanımı kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte kontrol grubu ile arasında anlamlı fark görülmedi.

Systemp Desensitizer'in makaslama bağlanma dayanımı Seal&Protect gibi kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte kontrol grubu ile arasında anlamlı fark yoktur. Systemp Desensitizer de Seal&Protect gibi rezin içerikli fakat ışıkla polimerizasyon gerektirmeyen bir ajandır. Systemp Desensitizer'in dentin yüzeylerindeki etkinliğinin SEM ile incelenmesinde dentin tübül girişlerinde yer yer kısmi tübül tıkaçları görülmekle birlikte genel olarak tübüllerin açık olduğu gözlemlendi. Systemp Desensitizer'in arayüz incelemelerinde de nadir olarak görülen tübül tıkaçları kısmen dentin tübüllerini tıkadı (Resim 29-31). Systemp Desensitizer'in bağlanma dayanımındaki azalma rezin içeriğinin oluşturduğu tıkaçların bonding ajanın dentin tübüllerine penetrasyonunu engellemesi ile açıklanabilir.

Colgate Sensitive Pro-Relief patının dentin dokusuna makaslama bağlanma dayanım değeri kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte kontrol grubu ile arasında anlamlı fark yoktur (Grup10: 5.53 MPa). Colgate Sensitive Pro-Relief'in yapısında bulunan arjinin, kalsiyum karbonat ve fosfat ile oluşan dentin tübül tıkaçlarının tübül sıvı akışını azalttığı ve asit ataklara karşı direnç sağladığı bildirilmiştir (161). Bu nedenle pulpal basınca ve asit etkisine karşı dirençli olan bu tıkaçlar dentinin makaslama bağlanma dayanımında azalmaya neden olmuş olabilir. Colgate Sensitive Pro-Relief uygulanan dentin yüzeylerinin SEM görüntüleri de dentin tübül yüzeylerinin tübül tıkaçlarıyla tıkalı olduğunu göstermektedir (Resim 54-56). Yapılan bir çalışmada Colgate Sensitive Pro-Relief patın mine dokusuna bağlanma dayanımına olumsuz etkisi olmadığı gösterilmiştir (312). Bu patın dentin dokusuna bağlanma dayanımının belirlenmesi amacıyla daha fazla in vitro ve klinik çalışmaların yapılması gereklidir.

Smart Protect'in makaslama bağlanma dayanımı kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte kontrol grubu ile arasında anlamlı fark yoktur. Smart Protect'in makaslama bağlanma dayanımındaki azalma florür içeriğine bağlı olabilir (299, 307). Smart Protect'in dentin yüzeylerindeki etkinliğinin SEM ile değerlendirilmesinde dentin tübül girişlerinin genel olarak açık olduğu gözlemlendi. Nadiren tübül girişlerinde kısmi tıkaçlar olsa da tübüllerin tamamen tıkalı olduğu görüntülere rastlanmadı (Resim 26-28).

UltraEZ'in de makaslama bağlanma dayanımı kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte kontrol grubu ile arasında anlamlı fark görülmemiştir. UltraEZ'in bileşiminde bulunan florür

dentin tübüllerinde mineral birikimine neden olur. Bu da tübül içlerine rezin infiltrasyonunu engelleyerek bağlanma dayanımının azalmasını sağlayabilir (43, 299). UltraEZ'in dentin yüzeylerindeki etkinliğinin SEM ile değerlendirilmesinde tübüllerin tamamen kapalı olduğu dentin görüntüsü yanında boş dentin tübüllerine de rastlanmıştır (Resim 47, 48). Arayüz incelemelerinde dentin tübül yüzeylerinde örtücü bir tabakanın bazı tübüllerde tübül içlerine doğru devam ettiği bazı tübüllerde ise devamlılığın olmadığı tespit edilmiştir (Resim 49).

Bu çalışmanın bulgularına göre bazı DHGA (D/Sense Crystal, Topex ve Clinpro White Varnish) kullanılan adeziv rezinin dentine bağlanma dayanımını olumsuz yönde etkiledi. Bunun yanında self-etch adezivlerin asiditesi total-etch adeziv sistemlere göre daha zayıftır. Bu çalışmada da kullanılan Clearfil-Tri-S Bond düşük asidik etkiye sahiptir (pH: 2.7). Bu durumda zayıf self-etch adezivlerin DHGA'nın dentin yüzeyinde ve dentin tübüllerinde oluşturdukları tıkaçları uzaklaştırması ve rezinin dentin tübüllerine penetrasyonu zor olabilir. Bu da DHGA uygulaması sonrası rezin-dentin bağlanma dayanımının azalmasına neden olabilir. Ayrıca self-etch adeziv sistemlerde asitleme aşaması elimine edilmiştir (196). Bu sistemler hidrofilik yapıları nedeniyle polimerize olurken su absorbe ederler. Bu nedenle hidrolitik olarak stabil olmayan membranlar gibi davranırlar. Bu da bağlanma dayanımını olumsuz etkiler (313, 314). Bu çalışmada DHGA'nın hem SEM incelemeleri hem de makaslama bağlanma dayanımına erken dönemdeki etkisi belirlenmiş olup uzun dönem etkisi incelenmedi. DHGA uygulanan dentin yüzeylerinin SEM ile değerlendirilmesinde tıkalı olan tübüllerin hidrolik iletim değerlerinin ölçülmesi sonucunda yeterli tübül tıkama etkinliği sağlamadığı bildirilmiştir (305, 315). Bu nedenle SEM incelemeleri ile birlikte hidrolik iletim ölçümlerinin yapılması DHGA'nın dentin tübüllerindeki tıkama etkinliğinin belirlenmesinde daha etkili olabilir.

Ayrıca bu in vitro çalışmanın bulguları direkt olarak klinik koşulları yansıtamaz. Çünkü bu çalışmada pulpal basınç taklit edilmedi. Dentin tübül sıvısının ve intrapulpal basıncın olmayışı çalışma sonuçları etkileyebilir. Yapılan çalışmalarda intrapulpal basınç ve dentin tübül sıvısı varlığının rezinlerin bağlanma dayanımını olumsuz etkilediği bildirilmiştir (316). Bunun yanında derin dentinde tübül sayısı ve tübül sıvı akışına bağlı olarak nemliliğin artması nedeniyle pulpal basınç bağlanma dayanımını daha fazla etkilerken yüzeyel dentinde bu etkinin giderek azaldığı bildirilmiştir (317). Bu nedenle servikal dentin dokusunun pulpal basınçtan daha az etkilenmesi beklenmektedir. Bunun yanında dentin yüzeyine uygulanan DHGA'nın tübüler tıkaç oluşturması hassasiyet giderici etkinin yanında tübül sıvı akışını engeller. Bu nedenle servikal dentin yüzeyine uygulanan DHGA hibridizasyon açısından

negatif etki sağlarken tübül sıvı akışının bloke edilmesi açısından olumlu sonuçlar verebilir (318). Bunun yanında dişlerin servikal bölgesindeki rezin-dentin arayüzünün okluzal yüzeyine göre mikrosızıntıdan daha fazla etkilenebileceği bildirilmiştir (319).

Tükrük restorasyonların bağlanma dayanımını etkileyen önemli bir faktördür. Bu in vitro çalışmada klinik koşulların taklit edilebilmesi amacıyla DHGA uygulanan dentin örnekleri 14 gün boyunca yapay tükrükte bekletildikten ve bir diş fırçası yardımıyla 8-10 kere fırçalandıktan sonra adeziv restorasyonlar yapıldı. Bir çalışmada D/Sense Crystal uygulamasından sonra 10 dakika boyunca yapay tükrük solüsyonu uygulaması ve sonrasında 3 dakika boyunca sitrik asit solüsyonu uygulamasının tübüllerin tıkanmasında ve geçirgenliğinde azalmaya neden olmadığı bildirilmiştir (158). Yapay tükrüğün ve fırçalamanın dentin yüzeylerindeki tıkaçların uzaklaştırılmasındaki etkinliğinin değerlendirilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bunun yanında servikal bölgede elimine edilemeyen dişeti oluk sıvısı dentin yüzeyinin ıslanmasına neden olarak adezivlerin penetrasyonunu engelleyebilir. Bunun yanında dental plak ve çürük varlığı, servikal bölgedeki anatomik varyasyonlar ve abrazyon ve erozyona bağlı çevresel faktörler de klinik sonuçları etkileyebilir (319, 320).

Bu çalışmada bir adet self-etch adeziv rezin kullanıldı. Klinik kullanım için piyasada farklı içeriğe sahip çok sayıda dentin adeziv bulunmaktadır. Bu nedenle bu çalışma kullanılan adeziv materyalle sınırlıdır. DHGA'nın dentin yüzeylerine bağlanma dayanımına etkisinin incelenmesi amacıyla farklı etki mekanizmasına sahip adeziv sistemlerin kullanıldığı laboratuvar ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının ilk aşamasında DH tedavisinde kullanılan farklı içeriklere sahip ajanların insan gingival ve pulpal fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkisi incelenmiş ve şu sonuçlar bulunmuştur.

DHGA gingival fibroblastlar üzerine direkt olarak uygulandıklarında;

1- Smart Protect, Seal&Protect, BisBlock, D/Sense Crystal, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish gruplarının sitotoksik etkilerinde konsantrasyona bağlı olarak azalma görüldü.

2- Bu gruplar arasında incelenen tüm konsantrasyonlarda Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish grupları daha az sitotoksik etki gösterdi.

3- Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma gruplarının sitotoksitesinde konsantrasyona bağlı olarak azalma görülmemiştir. Bu ajanlar diğerlerine göre daha sitotoksik bulundu.

DHGA'nın pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla iki farklı kalınlıkta (0.5 ve 1 mm) dentin bariyeri kullanıldığında;

4- En düşük sitotoksik etki BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish gruplarında görüldü.

5- Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplara göre daha sitotoksiktir.

0.5 mm kalınlığında dentin bariyeri kullanılan 24 kuyucuklu kaplardan alınan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki pulpa fibroblastları üzerinde direkt sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi sonucunda;

6- DHGA'nın konsantrasyonu azaldıkça sitotoksik etkilerinde de azalma görüldü.

7- Tüm konsantrasyonlarda Seal&Protect, BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish grupları diğer gruplardan daha az sitotoksik bulundu.

1 mm kalınlığında dentin diski kullanılan 24 kuyucuklu kaplardan alınan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki pulpal fibroblastlar üzerinde direkt sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi sonucunda;

8- DHGA'nın konsantrasyonları azaldıkça sitotoksik etkilerinde azalma görüldü.

9- Seal&Protect, BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex, Clinpro White Varnish gruplarının sitotoksik etkisi diğer gruplardan daha düşük bulundu.

10- Çalışmada kullanılan DHGA içinde yapılan tüm deneylerde Colgate Sensitive Pro-Relief en düşük sitotoksik etkiyi gösteren ajandır.

DHGA'nın bileşiminde sıklıkla sitotoksik olduğu bilinen bileşenler mevcuttur. Dişlerin servikal bölgelerine uygulanırken bu ajanların dişeti dokuları ile teması muhtemeldir. Bu nedenle hassasiyet tedavisi planlamasında ajanın tedavi etkinliği kadar biyouyumluluğu da göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu tez çalışmasının ikinci aşamasında DHGA uygulanmış dentine bir self-etch adeziv rezinin (Clearfil Tri-S Bond) makaslama bağlanma dayanımı değerleri araştırıldı ve şu sonuçlar elde edildi.

1- En yüksek bağlanma dayanımı değeri Gluma uygulanan grupta görülmekle beraber Gluma ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı.

2- D/Sense Crystal (2.89 MPa), Topex (2.94 MPa) ve Clinpro White Varnish (2.98 MPa) uygulanan grupların makaslama bağlanma dayanım değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük bulundu.

3- Test grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde D/Sense Crystal (2.89 MPa), Topex (2.94 MPa) ve Clinpro White Varnish (2.98 MPa) gruplarının makaslama bağlantı değerleri Gluma (7.92 MPa) ve Aqua-Prep F (7.81 MPa) gruplarına göre anlamlı oranda düşük bulundu.

4- Deneylerde kullanılan tüm dentin örneklerinin kopma yüzeylerinin değerlendirilmesi sonucunda adeziv tipte bağlantı başarısızlığı tespit edildi.

Bu çalışmanın bulgularına göre DHGA'nın dentin tübüllerini tıkaması dentin geçirgenliğinin azalmasına neden olur. Bu durum rezinin dentin tübüllerine infiltrasyonunu ve dolayısıyla rezin-dentin bağlanma dayanımını azaltır.

Bu çalışmada DHGA'nın rezin-dentin bağlanma dayanımına etkisinin erken dönem sonuçları araştırıldı. Uzun dönemde ve klinik şartlarda farklı adeziv ajanların DHGA uygulanmış dentine bağlantısının araştırılması gerekir.

7. ÖZET

DENTİN HASSASİYETİ TEDAVİSİNDE KULLANILAN AJANLARIN SİTOTOKSİSİTESİ VE REZİN-DENTİN BAĞLANMA DAYANIMINA ETKİSİ

Bu tez çalışmasında DH tedavisinde kullanılan çeşitli ajanların kültüre edilmiş insan gingival ve pulpal fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Bu amaçla içerikleri farklı 12 adet ajanın (Smart Protect, Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma, BisBlock, D/Sense Crystal, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish) farklı konsantrasyonları (%50, %20, %10, %1) insan gingival fibroblastları üzerine direkt olarak uygulandı. Canlı kalan hücreler MTT boyası ile boyanarak optik yoğunluk değerleri ölçüldü. Böylece her grup için farklı konsantrasyonların gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkileri belirlendi.

Ajanların pulpal fibroblastlar üzerindeki indirekt sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla sürmemiş bir 3. büyük azı dişinden pulpal hücreler kültüre edildi. Pulpal hücrelerle ajanlar arasına farklı kalınlıklardaki (0.5 ve 1 mm) dentin bariyeri yerleştirildikten sonra ajanların pulpal hücreler üzerindeki indirekt sitotoksitesisi belirlendi. Daha sonra dentin bariyeri kullanılan kaplardan alınan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki pulpal fibroblastlar üzerinde direkt sitotoksik etkisi değerlendirildi.

Gingival fibroblastlar üzerindeki sitotoksitesite değerlendirmelerine göre tüm konsantrasyonlarda Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish grupları diğer gruplardan daha az sitotoksik etki gösterdi ($p<0.0125$).

Pulpal fibroblastlar üzerindeki sitotoksitesite değerlendirmelerine göre BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish grupları diğer gruplara göre daha az sitotoksik bulundu ($p<0.025$). Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplara göre daha sitotoksik bulundu ($p<0.025$).

Dentin bariyeri kullanılan kuyucuklardan alınan kuyucuk içeriğinin 96 kuyucuklu kaplardaki pulpa fibroblastları üzerinde direkt sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi sonucunda tüm konsantrasyonlarda Seal&Protect, BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex ve Clinpro White Varnish grupları diğer gruplardan daha az sitotoksik bulundu ($p<0.00625$).

Smart Protect, Systemp Desensitizer, Aqua-Prep F, Isodan ve Gluma grupları diğer gruplara göre daha sitotoksik bulundu ($p<0.00625$).

Bu tez çalışmasının ikinci bölümünde DHGA uygulanan dentine bir self-etch adeziv rezinin (Clearfil Tri-S Bond) makaslama bağlanma dayanımı araştırıldı. Tüm gruplar arasında en yüksek bağlanma dayanımı değeri Gluma uygulanan grupta görüldü ($p<0.05$). D/Sense Crystal, Topex ve Clinpro White Varnish uygulanan grupların makaslama bağlanma dayanımı değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük bulundu ($p<0.05$). DHGA'nın rezin-dentin bağlanma dayanımına etkisiyle ilgili daha geniş kapsamlı in vitro ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Dentin hassasiyeti, dentin hassasiyet giderici ajanlar, sitotoksitesite, gingival fibroblastlar, pulpal fibroblastlar, hücre kültürü, MTT testi, makaslama bağlanma dayanımı

8. ABSTRACT

THE EVALUATION OF CYTOTOXICITY OF DENTIN DESENSITIZING AGENTS AND THE EFFECT OF THESE DESENSITIZING AGENTS ON THE SHEAR BOND STRENGTH OF ADHESIVE RESIN TO DENTIN

The first objective of this thesis is to evaluate the cytotoxic effects of the desensitizing agents used in the treatment of dentin hypersensitivity on human gingival and pulpal fibroblast cell cultures. To that end, different concentrations (50%, 20%, 10%, 1%) of 12 different agents (Smart Protect, Systemp Desensitizer, Seal&Protect, Aqua-Prep F, Isodan, Gluma, BisBlock, D/Sense Crystal, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex and Clinpro White Varnish) were directly applied on human gingival fibroblast cells. The cells that were still alive were dyed with MTT dyes and the level of optical density was measured. So that cytotoxic effects of different concentrations on gingival fibroblasts were assessed for each group.

Pulpal cells were cultured from an immatured mandibular 3rd molar tooth in order to determine the indirect cytotoxic effects of desensitizing agents on pulpal fibroblast cells. Dentin discs with different thicknesses (0.5 and 1 mm) were placed between the pulpal cells and the agents. Indirect cytotoxic effects of the agents on the pulpal cells was determined by applying the agents on the dentin discs with different thicknesses. Then, direct cytotoxic effect of the wells taken from the plates in which dentin discs with different thicknesses were used on pulpal fibroblasts in 96-well plates was evaluated.

According to the cytotoxicity evaluations on gingival fibroblast cells; Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex and Clinpro White Varnish groups showed less cytotoxic effects by in all concentrations ($p < 0.0125$). According to the cytotoxicity evaluations on pulpal fibroblasts, less cytotoxic effects were seen in BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex and Clinpro White Varnish groups ($p < 0.025$).

As a result of evaluating the direct effect of cytotoxic effects of wells taken from the plates in which dentin discs with different thicknesses were used on pulpal fibroblasts in 96 well-plates, the groups of Seal&Protect, BisBlock, UltraEZ, Colgate Sensitive Pro-Relief, Topex and Clinpro White Varnish were found less cytotoxic than other groups in all concentrations ($p < 0.00625$).

The second objective of this thesis is to analyze the shear bond strength of a self-etch adhesive resin (Clearfil Tri-S Bond) on the dentin samples from taken cervical regions of the teeth which were treated with the agents. The highest level of shear bond strength of all groups was seen in the group on which Gluma was used ($p < 0.05$). Statistically, the levels of shear bond strength of the groups on which D/Sense Crystal, Topex and Clinpro White Varnish were applied were remarkably lower than the control group ($p < 0.05$). More comprehensive in vitro and clinical studies are needed to analyse the effect of the dentin desensitizing agents on resin-dentin bond strength.

Key words: Dentin hypersensitivity, dentin desensitizing agents, cytotoxicity, gingival fibroblasts, pulpal fibroblasts, cell culture, MTT test, shear bond strength

9. KAYNAKLAR

1. Mjor, I.A., Sveen, O.B., Heyeraas, K.J.: Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 1: Normal structure and physiology. *Quintessence Int.*, 32(6): 427-446, 2001.
2. Linde, A. and Goldberg, M.: Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med.*, 4(5): 679-728, 1993.
3. Mondelli, J., Steagall, L., Ishikiriyama, A., de Lima Navarro, M.F., Soares, FB.: Fracture strength of human teeth with cavity preparations. *J Prosthet Dent.*, 43(4): 419-422, 1980.
4. Blaser, P.K., Lund, M.R., Cochran, MA., Potter, R.H.: Effect of designs of Class 2 preparations on resistance of teeth to fracture. *Oper Dent.*, 8(1): 6-10, 1983.
5. Torneck, CD.: Dentin-pulp complex. In *Oral Histology Development, Structure, and Function*. 5th Edit. Ten Cate, AR. (Ed.), Mosby Co., St. Louis, MO, USA, 1998, pp. 150-196.
6. Johansen, E.: Microstructure of Enamel and Dentin. *J Dent Res.*, 43: 1007-1020, 1964.
7. Marshall, G.W.Jr., Marshall, S.J., Kinney, J.H., Balooch, M.: The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent.*, 25(6): 441-458, 1997.
8. Driessens, FCM. and Verbeeck, RMH.: Dentin, its minerals and caries. In *Biomaterials*. Driessens, FCM., Verbeeck, RMH (Eds.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990, pp: 163-178.
9. Ozawa, M., Ikeda, H., Suda, H.: The effect of pulpward pressure on the response to 50% lidocaine (lignocaine) applied to exposed dentine in cats. *Arch Oral Biol.*, 47(4): 333-336, 2002.
10. Perdigao, J.: Dentin bonding as a function of dentin structure. *Dent Clin North Am.*, 46(2): 277-301, 2002.
11. Larsson, P.A., Howell, D.S., Pita, J.C., Blanco, L.N.: Aspiration and characterization of predentin fluid in developing rat teeth by means of a micropuncture and micro-analytical technique. *J Dent Res.*, 67(5): 870-875, 1988.
12. Garberoglio, R. and Brannstrom, M.: Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Bio.*, 21(6): 355-362, 1976.

13. Nylen, MU. and Scott, DB.: An Electron Microscopic Study of the Early Stages of Dentinogenesis. DC: US Public Health Service, Pub. 613, Washington, 1958.
14. Fosse, G., Saele, P.K., Eide, R.: Numerical density and distributional pattern of dentin tubules. *Acta Odontol Scand.*, 50(4): 201-210, 1992.
15. Cuenin, M.F., Scheidt, M.J., Oneal, R.B., Strong, S.L.: An in vivo study of dentin sensitivity: the relation of dentin sensitivity and the patency of dentin tubules. *J Periodontol.*, 62(11): 668-673, 1991.
16. Provenza, D.V.: *Fundamentals of Oral Histology and Embryology*. 2th Edit. Lea&Febiger, Philadelphia, 1988.
17. Ten Cate, A.R.: *Oral Histology: Development, Structure and Function*. 4th Edit. Mosby, St Louis, 1994.
18. Morse, D.R.: Age-related changes of the dental pulp complex and their relationship to systemic aging. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*, 72(6): 721-745, 1991.
19. Cox, C.F., White, K.C., Ramus, D.L., Farmer, J.B., Snuggs, H.M.: Reparative dentin: factors affecting its deposition. *Quintessence Int.*, 23(4): 257-270, 1992.
20. Shimizu, C., Yamashita, Y., Ichijo, T., Fusayama, T.: Carious change of dentin observed on longspan ultrathin sections. *J Dent Res.*, 60(11): 1826-1831, 1981.
21. Ogawa, K., Yamashita, Y., Ichijo, T., Fusayama, T.: The ultrastructure and hardness of the transparent layer of human carious dentin. *J Dent Res.*, 62(1): 7-10, 1983.
22. Bayer, M. and Sugaya, A.: Odontoblast process in dentin revealed by fluorescent Di-I. *J Histochem Cytochem.*, 43: 159-168, 1995.
23. Byers, M.R.: Segregation of NGF receptor in sensory receptors, nerves and local cells of teeth and periodontium demonstrated by EM immunocytochemistry. *J Neurocytol.*, 19(5): 765-775, 1990.
24. Trowbridge, H.O.: Intradental sensory units: physiological and clinical aspects. *J Endod.*, 11(11): 489-498, 1985.
25. Narhi, M., Virtanen, A., Huopaniemi, T., Hirvonen, T.: Conduction velocities of single pulp nerve fibre units in the cat. *Acta Physiol Scand.*, 116(3): 209-213, 1982.
26. Johnsen, D.C., Harshbarger, J., Rymer, H.D.: Quantitative assessment of neural development in human premolars. *Anat Rec.*, 205(4): 421-429, 1983.
27. Edwall, L. and Scott, D.Jr.: Influence of changes in microcirculation on the excitability of the sensory unit in the tooth of the cat. *Acta Physiol Scand.*, 82(4): 555-566, 1971.
28. Bergenholtz, G., Cox, C.F., Loesche, W.J., Syed, S.A.: Bacterial leakage around dental restorations: its effect on the dental pulp. *J Oral Pathol.*, 11(6): 439-450, 1982.

29. Cox, C.F.: Biocompatibility of dental materials in the absence of bacterial infection. *Oper Dent.*, 12(4): 146-152, 1987.
30. Kidd, E.A., Toffenetti, F., Mjor, I.A.: Secondary caries. *Int Dent J.*, 42(3): 127-138, 1992.
31. Pashley, D.H. and Pashley, E.L.: Dentin permeability and restorative dentistry: a status report for the American Journal of Dentistry. *Am J Dent.*, 4(1): 5-9, 1991.
32. Nakabayashi N. and Pashley, D.H.: Hybridization of dental hard tissues. Quintessence Publishing Co., Tokyo, 1998.
33. Pashley, D.H., Livingston, M.J., Greenhill, J.D.: Regional resistances to fluid flow in human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.*, 23(9): 807-810, 1978.
34. Pashley, D.H.: The effects of acid etching on the pulpodentin complex. *Oper Dent.*, 17(6): 229-242, 1992.
35. Markowitz, K. and Pashley, D.H.: Discovering new treatments for sensitive teeth: the long path from biology to therapy. *J Oral Rehabil.*, 35(4): 300-315, 2008.
36. Addy, M.: Etiology and clinical implications of dentine hypersensitivity. *Dent Clin North Am.*, 34(3): 503-514, 1990.
37. Dowell P. and Addy, M.: Dentine Hypersensitivity – a review. Aetiology, symptoms and theories of pain production. *J Clin Periodontol.*, 10(4): 341-350, 1983.
38. Holland, G.R., Narhi, M.N., Addy, M., Gangarosa, L., Orchardson, R.: Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol.*, 24(11): 808-813, 1997.
39. Curro, F.A.: Tooth hypersensitivity in the spectrum of pain. *Dent Clin North Am.*, 34(3): 429-437, 1990.
40. Rees, J.S., Jin, L.J., Lam, S., Kudanowska, I., Vowles, R.: The prevalence of dentine hypersensitivity in a hospital clinic population in Hong Kong. *J Dent.*, 31(7): 453-461, 2003.
41. Gillam, D.G., Seo, H.S., Newman, H.N., Bulman, J.S.: Comparison of dentine hypersensitivity in selected occidental and oriental populations. *J Oral Rehabil.*, 28(1): 20-25, 2001.
42. Clayton, D.R., McCarthy, D., Gillam, D.G.: A study of the prevalence and distribution of dentine sensitivity in a population of 17-58-year-old serving personnel on an RAF base in the Midlands. *J Oral Rehabil.*, 29(1): 14-23, 2002.
43. Ritter, A.V., de, L. Dias W., Miguez, P., Caplan, D.J., Swift, E.J.Jr.: Treating cervical dentin hypersensitivity with fluoride varnish: a randomized clinical study. *J Am Dent Assoc.*, 137(7): 1013-1020, 2006.

44. Addy, M.: Dentine hypersensitivity: Definition, Prevalence Distribution and Aetiology. In Tooth wear and sensitivity: Clinical Advances in Restorative Dentistry. Addy, M., Embery, G., Edgar, WM., Orchardson, R. (Eds.), Martin Dunitz Pub., London, 2000, pp. 239-248.
45. Rees, J.S. and Addy, M.: A cross-sectional study of dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol.*, 29(11): 997-1003, 2002.
46. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc.*, 69(4): 221-226, 2003.
47. Addy, M., Mostafa, P., Newcombe, R.G.: Dentine hypersensitivity: the distribution of recession, sensitivity and plaque. *J Dent.*, 15(6): 242-248, 1987.
48. Flynn, J., Galloway, R., Orchardson, R.: The incidence of 'hypersensitive' teeth in the West of Scotland. *J Dent.*, 13(3): 230-236, 1985.
49. Orchardson, R. and Collins, W.J.: Clinical features of hypersensitive teeth. *Br Dent J.*, 162(7): 253-256, 1987.
50. Gillam, D.G., Seo, H.S., Bulman, J.S., Newman, H.N.: Perceptions of dentine hypersensitivity in a general practice population. *J Oral Rehabil.*, 26(9): 710-714, 1999.
51. Irwin, C.R. and McCusker, P.: Prevalence of dentine hypersensitivity in a general dental population. *J Ir Dent Assoc.*, 43(1): 7-9, 1997.
52. Chabanski, M.B., Gillam, D.G., Bulman, J.S., Newman, H.N.: Prevalence of cervical dentine sensitivity in a population of patients referred to a specialist Periodontology Department. *J Clin Periodontol.*, 23(11): 989-992, 1996.
53. Porto, I.C., Andrade, A.K., Montes, M.A.: Diagnosis and treatment of dentinal hypersensitivity. *J Oral Sci.*, 51(3): 323-332, 2009.
54. Addy, M. and Hunter, M.L.: Can tooth brushing damage your health? Effects on oral and dental tissues. *Int Dent J.*, 53(3): 177-186, 2003.
55. Bartold, P.M.: Dentinal hypersensitivity: a review. *Aust Dent J.*, 51(3): 212-218, 2006.
56. Scott, J.H. and Symons, N.B.B.: Introduction to Dental Anatomy. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1974.
57. Chabanski, M.B. and Gillam, D.G.: Aetiology, prevalence and clinical features of cervical dentine sensitivity. *J Oral Rehabil.*, 24(1): 15-19, 1997.
58. Osborne-Smith, K.L., Burke, F.J., Wilson, N.H.: The aetiology of the non-carious cervical lesion. *Int Dent J.*, 49(3): 139-143, 1999.

59. Zero, D.T. and Lussi, A.: Erosion-chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J.*, 55(4): 285-290, 2005.
60. Litonjua, L.A., Andreana, S., Bush, P.J., Cohen, R.E.: Tooth wear: attrition, erosion, and abrasion. *Quintessence Int.*, 34(6): 435-446, 2003.
61. Tilliss, T.S. and Keating, J.G.: Understanding and managing dentin hypersensitivity. *J Dent Hyg.*, 76(4): 296-310, 2002.
62. Addy, M.: Clinical aspects of dentine hypersensitivity. *Proc Finn Dent Soc.*, 88(1): 23-30, 1992.
63. von Troil, B., Needleman, I., Sanz, M.: A systematic review of the prevalence of root sensitivity following periodontal therapy. *J Clin Periodontol.*, 29(3): 173-177, 2002.
64. Al-Sabbagh, M., Andreana, S., Ciancio, S.G.: Dentinal hypersensitivity: review of aetiology, differential diagnosis, prevalence, and mechanism. *J Int Acad Periodontol.*, 6(1): 8-12, 2004.
65. Narhi, M.V.: Dentin sensitivity: a review. *J Biol Buccale.*, 13(2): 75-96, 1985.
66. Cox, C.F.: Etiology and treatment of root hypersensitivity. *Am J Dent.*, 7(5): 266-270, 1994.
67. Holland, G.R.: Morphological features of dentine and pulp related to dentine sensitivity. *Arch Oral Biol.*, 39: 3-11, 1994.
68. Frank, R.M.: Attachment sites between the odontoblast process and the intradentinal nerve fibre. *Arch Oral Biol.*, 13(7): 833-834, 1968.
69. Thomas, H.F.: The extent of the odontoblast process in human dentin. *J Dent Res.*, 58: 2207-2218, 1979.
70. Lilja, J.: Innervation of the dentin. Thesis, University of Göteborg, Sweden, 1980
71. Lilja, J., Nordenvall, K.J., Brannstrom, M.: Dentin sensitivity, odontoblasts and nerves under desiccated or infected experimental cavities. A clinical, light microscopic and ultrastructural investigation. *Swed Dent J.*, 6(3): 93-103, 1982.
72. Brannstrom, M.: The elicitation of pain in human dentine and pulp by chemical stimuli. *Arch Oral Biol.*, 7: 59-62, 1962.
73. Frank, R.M. and Steuer, P.: Transmission electron microscopy of the human odontoblast process in peripheral root dentine. *Arch Oral Biol.*, 33(2): 91-98, 1988.
74. Vieira, A.H. and Santiago, S.L.: Management of dentinal hypersensitivity. *Gen Dent.*, 57(2): 120-126, 2009.
75. Pashley, D.H.: Dynamics of the pulpo-dentin complex. *Crit Rev Oral Biol Med.*, 7(2): 104-133, 1996.

76. Gysi, A.: An attempt to explain the sensitiveness of dentine. *Br J Dent Sci.*, 43: 865-868, 1900.
77. Brannstrom, M.: The hydrodynamic theory of dentinal pain: sensation in preparations, caries, and the dentinal crack syndrome. *J Endod.*, 12(10): 453-457, 1986.
78. Brannstrom, M.: Dentin sensitivity and aspiration of odontoblasts. *J Am Dent Assoc.*, 66: 366-370, 1963.
79. Brannstrom, M.: Sensitivity of dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*, 21(4): 517-526, 1966.
80. Brannstrom, M.: Etiology of dentin hypersensitivity. *Proc Finn Dent Soc.*, 88(1): 7-13, 1992.
81. Brannstrom, M., Linden, L.A., Astrom, A.: The hydrodynamics of the dental tubule and of pulp fluid. A discussion of its significance in relation to dentinal sensitivity. *Caries Res.*, 1(4): 310-317, 1967.
82. Brannstrom, M. and Garberoglio, R.: The dentinal tubules and the odontoblast processes. A scanning electron microscopic study. *Acta Odontol Scand.*, 30(3): 291-311, 1972.
83. Absi, E.G., Addy, M., Adams, D.: Dentine hypersensitivity. A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. *J Clin Periodontol.*, 14(5): 280-284, 1987.
84. Yoshiyama, M., Noiri, Y., Ozaki, K., Uchida, A., Ishikawa, Y., Ishida, H.: Transmission electron microscopic characterization of hypersensitive human radicular dentin. *J Dent Res.*, 69(6): 1293-1297, 1990.
85. Al-Sabbagh, M., Harrison, E., Thomas, M.V.: Patient-applied treatment of dentinal hypersensitivity. *Dent Clin North Am.*, 53(1): 61-70, 2009.
86. Brannstrom, M., Johnson, G., Nordenvall, K.J.: Transmission and control of dentinal pain: resin impregnation for the desensitization of dentin. *J Am Dent Assoc.*, 99(4): 612-618, 1979.
87. Pashley, D.H.: Mechanisms of dentin sensitivity. *Dent Clin North Am.*, 34(3): 449-473, 1990.
88. Jacobsen, P.L. and Bruce, G.: Clinical dentin hypersensitivity: understanding the causes and prescribing a treatment. *J Contemp Dent Pract.*, 2(1): 1-12, 2001.
89. Markowitz, K. and Kim, S.: Hypersensitive teeth. Experimental studies of dentinal desensitizing agents. *Dent Clin North Am.*, 34(3): 491-501, 1990.
90. Markowitz, K., Bilotto, G., Kim, S.: Decreasing intradental nerve activity in the cat with potassium and divalent cations. *Arch Oral Biol.*, 36(1): 1-7, 1991.

91. Peacock, J.M. and Orchardson, R.: Effects of potassium ions on action potential conduction in A- and C-fibers of rat spinal nerves. *J Dent Res.*, 74(2): 634-641, 1995
92. Prati, C., Venturi, L., Valdre, G., Mongiorgi, R.: Dentin morphology and permeability after brushing with different toothpastes in the presence and absence of smear layer. *J Periodontol.*, 73(2): 183-190, 2002.
93. Panagakos, F., Schiff, T., Guignon, A.: Dentin hypersensitivity: effective treatment with an in-office desensitizing paste containing 8% arginine and calcium carbonate. *Am J Dent.*, 22 Spec No A: 3-7, 2009.
94. Al-Sabbagh, M., Brown, A., Thomas, M.V.: In-office treatment of dentinal hypersensitivity. *Dent Clin North Am.*, 53(1): 47-60, 2009.
95. Lawson, B.F. and Huff, T.W.: Desensitization of teeth with a topically applied glucocorticoid drug. A preliminary study. *J Oral Ther Pharmacol.*, 2(4): 295-299, 1966.
96. Furseth, R. and Mjor, I.A.: The fine structure of corticosteroid-covered, human dentine. *Arch Oral Biol.*, 17(4): 719-728, 1972.
97. Hodosh, M.: A superior desensitizer-potassium nitrate. *J Am Dent Assoc.*, 88(4): 831-832, 1974.
98. Recommendations for evaluating agents for the reduction of dentinal hypersensitivity. Ad Hoc Advisory Committee on Dentinal Hypersensitivity Council on Dental Therapeutics. *J Am Dent Assoc.*, 112(5): 709-710, 1986.
99. Wichgers, T.G. and Emert, R.L.: Dentin hypersensitivity. *Oral Health.*, 87(3): 51-53, 1997.
100. Pashley, D.H.: Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. *J Endod.*, 12(10): 465-474, 1986.
101. Pashley, D.H., O'Meara, J.A., Kepler, E.E., Galloway, S.E., Thompson, S.M., Stewart, F.P.: Dentin permeability. Effects of desensitizing dentifrices in vitro. *J Periodontol.*, 55(9): 522-525, 1984.
102. Kim, S.: Hypersensitive teeth: desensitization of pulpal sensory nerves. *J Endod.*, 12(10): 482-485, 1986.
103. Tarbet, W.J., Silverman, G., Fratarcangelo, P.A., Kanapka, J.A.: Home treatment for dentinal hypersensitivity: a comparative study. *J Am Dent Assoc.*, 105(2): 227-230, 1982.
104. Nagata, T., Ishida, H., Shinohara, H., Nishikawa, S., Kasahara, S., Wakano, Y., Daigen, S., Troullos, E.S.: Clinical evaluation of a potassium nitrate dentifrice for the treatment of dentinal hypersensitivity. *J Clin Periodontol.*, 21(3): 217-221, 1994.

105. Schiff, T., Dotson, M., Cohen, S., De Vizio, W., McCool, J., Volpe, A.: Efficacy of a dentifrice containing potassium nitrate, soluble pyrophosphate, PVM/MA copolymer, and sodium fluoride on dentinal hypersensitivity: a twelve-week clinical study. *J Clin Dent.*, 5: 87-92, 1994.
106. Green, B.L., M.L. Green, W.T. McFall, Jr.: Calcium hydroxide and potassium nitrate as desensitizing agents for hypersensitive root surfaces. *J Periodontol.*, 48(10): 667-672, 1977.
107. Manochehr-Pour, M., Bhat, M., Bissada, N.: Clinical evaluation of two potassium nitrate toothpastes for the treatment of dental hypersensitivity. *Periodontal Case Rep.*, 6(1): 25-30, 1984.
108. Silverman, G., Berman, E., Hanna, C.B., Salvato, A., Fratarcangelo, P., Bartizek, R., Bollmer, B.W., Campbell, S.L., Lanzalaco, A.C., Mackay, B.J., McClanahan, S.F., Perlich, M.A., Shaffer, J.B.: Assessing the efficacy of three dentifrices in the treatment of dentinal hypersensitivity. *J Am Dent Assoc.*, 127(2): 191-201, 1996.
109. Sowinski, J.A., Battista, G.W., Petrone, M.E., Chaknis, P., Zhang, Y.P., DeVizio, W., Volpe, A.R., Proskin, H.M.: A new desensitizing dentifrice--an 8-week clinical investigation. *Compend Contin Educ Dent Suppl.*, (27): 11-16, 2000.
110. Hu, D., Zhang, Y.P., Chaknis, P., Petrone, M.E., Volpe, A.R., DeVizio, W.: Comparative investigation of the desensitizing efficacy of a new dentifrice containing 5.5% potassium citrate: an eight-week clinical study. *J Clin Dent.*, 15(1): 6-10, 2004.
111. Chesters, R., Kaufman, H.W., Wolff, M.S., Huntington, E., Kleinberg, I.: Use of multiple sensitivity measurements and logit statistical analysis to assess the effectiveness of a potassium-citrate-containing dentifrice in reducing dentinal hypersensitivity. *J Clin Periodontol.*, 19(4): 256-261, 1992.
112. Hoyt, W.H. and Bibby, B.F.: Use of sodium fluoride for desensitizing dentin. *J Dent Res.*, 22: 208, 1943.
113. Autio-Gold, J.T. and Barrett, A.A.: Effect of fluoride varnishes on color stability of esthetic restorative materials. *Oper Dent.*, 29(6): 636-641, 2004.
114. Debner, T., Warren, D.P., Powers, J.M.: Effects of fluoride varnish on color of esthetic restorative material. *J Esthet Dent.*, 12(3): 160-163, 2000.
115. Gangarosa, L.P.Sr.: Current strategies for dentist-applied treatment in the management of hypersensitive dentine. *Arch Oral Biol.*, 39: 101-106, 1994.
116. Gaffar, A.: Treating hypersensitivity with fluoride varnishes. *Compend Contin Educ Dent.*, 19(11): 1088-1090, 1998.
117. Orchardson, R. and Gillam, D.G.: Managing dentin hypersensitivity. *J Am Dent Assoc.*, 137(7): 990-998, 2006.

118. Castillo, J.L. and Milgrom, P.: Fluoride release from varnishes in two in vitro protocols. *J Am Dent Assoc.*, 135(12): 1696-1699, 2004.
119. Tal, M., Oron, M., Gedalia, I., Ehrlich, J.: X-ray diffraction and scanning electron microscope investigations of fluoride-treated dentine in man. *Arch Oral Biol.*, 21(5): 285-290, 1976.
120. Brannstrom, M., Isacsson, G., Johnson, G.: The effect of calcium hydroxide and fluorides on human dentine. *Acta Odontol Scand.*, 34(2): 59-67, 1976.
121. Kanouse, M.C. and Ash, M.M.Jr.: The effectiveness of a sodium monofluorophosphate dentifrice on dental hypersensitivity. *J Periodontol.*, 40(1): 38-40, 1969.
122. Krauser, J.T.: Hypersensitive teeth. Part II: Treatment. *J Prosthet Dent.*, 56(3): 307-311, 1986.
123. Shapiro, W.B., Kaslick, R.S., Chasens, A.I., Weinstein, D.: Controlled clinical comparison between a strontium chloride and a sodium monofluorophosphate toothpaste in diminishing root hypersensitivity. *J Periodontol.*, 41(9): 523-525, 1970.
124. Blong, M.A., Volding, B., Thrash, W.J., Jones, D.L.: Effects of a gel containing 0.4 percent stannous fluoride on dentinal hypersensitivity. *Dent Hyg (Chic.)*, 59(11): 489-492, 1985.
125. Schiff, T., He, T., Sagel, L., Baker, R.: Efficacy and safety of a novel stabilized stannous fluoride and sodium hexametaphosphate dentifrice for dentinal hypersensitivity. *J Contemp Dent Pract.*, 7(2): 1-8, 2006.
126. Ellingsen, J.E. and Rolla, G.: Treatment of dentin with stannous fluoride--SEM an electron microprobe study. *Scand J Dent Res.*, 95(4): 281-286, 1987.
127. Collaert, B. and Fischer, C.: Dentine hypersensitivity: a review. *Endod Dent Traumatol.*, 7(4): 145-152, 1991.
128. Pereira, J.C., Segala, A.D., Gillam, D.G.: Effect of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin subjected to different surface pre-treatments--an in vitro study. *Dent Mater.*, 21(2): 129-138, 2005.
129. Guo, C. and McMartin, K.E.: The cytotoxicity of oxalate, metabolite of ethylene glycol, is due to calcium oxalate monohydrate formation. *Toxicology*, 208(3): 347-355, 2005.
130. Trowbridge, H.O. and Silver, D.R.: A review of current approaches to in-office management of tooth hypersensitivity. *Dent Clin North Am.*, 34(3): 561-581, 1990.
131. Greenhill, J.D. and Pashley, D.H.: The effects of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin in vitro. *J Dent Res.*, 60(3): 686-698, 1981.

132. Muzzin, K.B. and Johnson, R.: Effects of potassium oxalate on dentin hypersensitivity in vivo. *J Periodontol.*, 60(3): 151-158, 1989.
133. Pillon, F.L., Romani, I.G., Schmidt, E.R.: Effect of a 3% potassium oxalate topical application on dentinal hypersensitivity after subgingival scaling and root planing. *J Periodontol.*, 75(11): 1461-1464, 2004.
134. Pashley, D.H., Andringa, H.J., Eichmiller, F.: Effects of ferric and aluminum oxalates on dentin permeability. *Am J Dent.*, 4(3): 123-126, 1991.
135. Sena, F.J.: Dentinal permeability in assessing therapeutic agents. *Dent Clin North Am.*, 34(3): 475-490, 1990.
136. Wang, H.L., Yeh, C.T., Smith, F., Burgett, F.G., Richards, P., Shyr, Y., O'Neal, R.: Evaluation of ferric oxalate as an agent for use during surgery to prevent post-operative root hypersensitivity. *J Periodontol.*, 64(11): 1040-1044, 1993.
137. Gillam, D.G., Newman, H.N., Davies, E.H., Bulman, J.S., Troullos, E.S., Curro, F.A.: Clinical evaluation of ferric oxalate in relieving dentine hypersensitivity. *J Oral Rehabil.*, 31(3): 245-250, 2004.
138. Frank, R.M.: Dentinal sclerosis and ultrastructural basis of dentinal sensitivity. *Annu Meet Am Inst Oral Biol.*, 25: 21-24, 1968.
139. Tung, M.S., Bowen, H.J., Derkson, G.D., Pashley, D.H.: Effects of calcium phosphate solutions on dentin permeability. *J Endod.*, 19(8): 383-387, 1993.
140. Suge, T., Kawasaki, A., Ishikawa, K., Matsuo, T., Ebisu, S.: Comparison of the occluding ability of dentinal tubules with different morphology between calcium phosphate precipitation method and potassium oxalate treatment. *Dent Mater J.*, 24(4): 522-529, 2005.
141. Geiger, S., Matalon, S., Blasbalg, J., Tung, M., Eichmiller, F.C.: The clinical effect of amorphous calcium phosphate (ACP) on root surface hypersensitivity. *Oper Dent.*, 28(5): 496-500, 2003.
142. Winston, A.E., Charig, A.J., Thong, S.: Mechanism of action of a desensitizing fluoride toothpaste delivering calcium and phosphate ingredients in the treatment of dental hypersensitivity. Part III: Prevention of dye penetration through dentin vs a calcium-and phosphate-free control. *Compend Contin Educ Dent.*, 31(1): 46-48, 50-52 2010.
143. Levin, M.P., Yearwood, L.L., Carpenter, W.N.: The desensitizing effect of calcium hydroxide and magnesium hydroxide on hypersensitive dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*, 35(5): 741-746, 1973.
144. Trowbridge, H., Edwall, L., Panopoulos, P.: Effect of zinc oxide-eugenol and calcium hydroxide on intradental nerve activity. *J Endod.*, 8(9): 403-406, 1982.

145. Kishore, A., Mehrotra, K.K., Saimbi, C.S.: Effectiveness of desensitizing agents. *J Endod.*, 28(1): 34-35, 2002.
146. Minkoff, S. and Axelrod, S.: Efficacy of strontium chloride in dental hypersensitivity. *J Periodontol.*, 58(7): 470-474, 1987.
147. Tarbet, W.J. and Grossman, E.: Observations of denture-supporting tissue during six months of denture adhesive wearing. *J Am Dent Assoc.*, 101(5): 789-791, 1980.
148. Sowinski, J.A., Bonta, Y., Battista, G. W., Petrone, D., DeVizio, W., Petrone, M., Proskin, H.M.: Desensitizing efficacy of Colgate Sensitive Maximum Strength and Fresh Mint Sensodyne dentifrices. *Am J Dent.*, 13(3): 116-120, 2000.
149. Sowinski, J., Ayad, F., Petrone, M., DeVizio, W., Volpe, A., Ellwood, R., Davies, R.: Comparative investigations of the desensitising efficacy of a new dentifrice. *J Clin Periodontol.*, 28(11): 1032-1036, 2001.
150. Aimutis, W.R.: Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr.*, 134(4): 989-995, 2004.
151. Reynolds, E.C., Cain, C.J., Webber, F.L., Black, C.L., Riley, P.F., Johnson, I.H., Perich, J.W.: Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res.*, 74(6): 1272-1279, 1995.
152. Meisel, H. and FitzGerald, R.J.: Biofunctional peptides from milk proteins: mineral binding and cytomodulatory effects. *Curr Pharm Des.*, 9(16): 1289-1295, 2003.
153. Reynolds, E.C.: Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist.*, 18(1): 8-16, 1998.
154. Reynolds, E.C.: Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res.*, 76(9): 1587-1595, 1997.
155. Rose, R.K.: Binding characteristics of *Streptococcus mutans* for calcium and casein phosphopeptide. *Caries Res.*, 34(5): 427-431, 2000.
156. Suge, T., Ishikawa, K., Kawasaki, A., Suzuki, K., Matsuo, T., Noiri, Y., Imazato, S., Ebisu, S.: Calcium phosphate precipitation method for the treatment of dentin hypersensitivity. *Am J Dent.*, 15(4): 220-226, 2002.
157. Azarpazhooh, A. and Limeback, H.: Clinical efficacy of casein derivatives: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc.*, 139(7): 915-924, 2008.
158. Gandolfi, M.G., Silvia, F, H.P.D., Gasparotto, G., Carlo, P.: Calcium silicate coating derived from Portland cement as treatment for hypersensitive dentine. *J Dent.*, 36(8): 565-578, 2008.
159. Kleinberg, I.: SensiStat. A new saliva-based composition for simple and effective treatment of dentinal sensitivity pain. *Dent Today.*, 21(12): 42-47, 2002.

160. Petrou, I., Heu, R., Stranick, M., Lavender, S., Zaidel, L., Cummins, D., Sullivan, R. J., Hsueh, C., Gimzewski, J.K.: A breakthrough therapy for dentin hypersensitivity: how dental products containing 8% arginine and calcium carbonate work to deliver effective relief of sensitive teeth. *J Clin Dent.*, 20(1): 23-31, 2009.
161. Cummins, D.: Dentin hypersensitivity: from diagnosis to a breakthrough therapy for everyday sensitivity relief. *J Clin Dent.*, 20(1): 1-9, 2009.
162. Hamlin, D., Williams, K.P., Delgado, E., Zhang, Y.P., DeVizio, W., Mateo, L.R.: Clinical evaluation of the efficacy of a desensitizing paste containing 8% arginine and calcium carbonate for the in-office relief of dentin hypersensitivity associated with dental prophylaxis. *Am J Dent.*, 22 Spec No A: 16A-20A, 2009.
163. Schiff, T., Delgado, E., Zhang, Y.P., DeVizio, W., Cummins, D., Mateo, L.R.: Clinical evaluation of the efficacy of an in-office desensitizing paste containing 8% arginine and calcium carbonate in providing instant and lasting relief of dentin hypersensitivity. *Am J Dent.*, 22 Spec No A: 8A-15A, 2009.
164. Dondi dall'Orologio, G., Lone, A., Finger, W.J.: Clinical evaluation of the role of glutardialdehyde in a one-bottle adhesive. *Am J Dent.*, 15(5): 330-334, 2002.
165. Dondi dall'Orologio, G. and Malferrari, S.: Desensitizing effects of Gluma and Gluma 2000 on hypersensitive dentin. *Am J Dent.*, 6(6): 283-286, 1993.
166. Addy, M. and Mostafa, P.: Dentine hypersensitivity. I. Effects produced by the uptake in vitro of metal ions, fluoride and formaldehyde onto dentine. *J Oral Rehabil.*, 15(6): 575-585, 1988.
167. Wycoff, S.J.: Current treatment for dentinal hypersensitivity. In-office treatment. *Compend Contin Educ Dent.*, (Suppl 3): 113-115, 1982.
168. Suge, T., Kawasaki, A., Ishikawa, K., Matsuo, T., Ebisu, S.: Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion. *Dent Mater.*, 24(2): 192-198, 2008.
169. Suge, T., Kawasaki, A., Ishikawa, K., Matsuo, T., Ebisu, S.: Effect of ammonium hexafluorosilicate on dentin tubule occlusion for the treatment of dentin hypersensitivity. *Am J Dent.*, 19(4): 248-252, 2006.
170. Li, P., Nakanishi, K., Kokubo, T., de Groot, K.: Induction and morphology of hydroxyapatite, precipitated from metastable simulated body fluids on sol-gel prepared silica. *Biomaterials*, 14(13): 963-968, 1993.
171. Sauro, S., Gandolfi, M. G., Prati, C., Mongiorgi, R.: Oxalate-containing phytocomplexes as dentine desensitisers: an in vitro study. *Arch Oral Biol.*, 51(8): 655-664, 2006.
172. Sauro, S., Mannocci, F., Watson, T.F., Piemontese, M., Sherriff, M., Mongiorgi, R.: The influence of soft acidic drinks in exposing dentinal tubules after non-surgical

- periodontal treatment: a SEM investigation on the protective effects of oxalate-containing phytocomplex. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.*, 12(7): 542-548, 2007.
173. Gangarosa, L.P. and Park, N.H.: Practical considerations in iontophoresis of fluoride for desensitizing dentin. *J Prosthet Dent.*, 39(2): 173-178, 1978.
 174. McBride, M.A., Gilpatrick, R.O., Fowler, W.L.: The effectiveness of sodium fluoride iontophoresis in patients with sensitive teeth. *Quintessence Int.*, 22(8): 637-640, 1991.
 175. Singal, P., Gupta, R., Pandit, N.: 2% sodium fluoride-iontophoresis compared to a commercially available desensitizing agent. *J Periodontol.*, 76(3): 351-357, 2005.
 176. Aparna, S., Setty, S., Thakur, S.: Comparative efficacy of two treatment modalities for dentinal hypersensitivity: a clinical trial. *Indian J Dent Res.*, 21(4): 544-548, 2010.
 177. Prati, C., Cervellati, F., Sanasi, V., Montebugnoli, L.: Treatment of cervical dentin hypersensitivity with resin adhesives: 4-week evaluation. *Am J Dent.*, 14(6): 378-382, 2001.
 178. Ferrari, M., Cagidiaco, M. C., Kugel, G., Davidson, C.L.: Clinical evaluation of a one-bottle bonding system for desensitizing exposed roots. *Am J Dent.*, 12(5): 243-249, 1999.
 179. Powell, L.V., Gordon, G.E., Johnson, G.H.: Sensitivity restored of Class V abrasion/erosion lesions. *J Am Dent Assoc.*, 121(6): 694-696, 1990.
 180. Duran, I. and Sengun, A.: The long-term effectiveness of five current desensitizing products on cervical dentine sensitivity. *J Oral Rehabil.*, 31(4): 351-356, 2004.
 181. Ling, T.Y. and Gillam, D.G.: The effectiveness of desensitizing agents for the treatment of cervical dentine sensitivity (CDS)-a review. *J West Soc Periodontol Periodontol Abstr.*, 44(1): 5-12, 1996.
 182. Addy, M. and Dowell, P.: Dentine hypersensitivity-a review. Clinical and in vitro evaluation of treatment agents. *J Clin Periodontol.*, 10(4): 351-363, 1983.
 183. Qin, C., Xu, J., Zhang, Y.: Spectroscopic investigation of the function of aqueous 2-hydroxyethylmethacrylate/glutaraldehyde solution as a dentin desensitizer. *Eur J Oral Sci.*, 114(4): 354-359, 2006.
 184. Kakaboura, A., Rahiotis, C., Thomaidis, S., Doukoudakis, S.: Clinical effectiveness of two agents on the treatment of tooth cervical hypersensitivity. *Am J Dent.*, 18(4): 291-295, 2005.
 185. Yu, X., Liang, B., Jin, X., Fu, B., Hannig, M.: Comparative in vivo study on the desensitizing efficacy of dentin desensitizers and one-bottle self-etching adhesives. *Oper Dent.*, 35(3): 279-286, 2010.
 186. Linde, A.: The extracellular matrix of the dental pulp and dentin. *J Dent Res.*, 64: 523-529, 1985.

187. Mjör, IA. and Fejerskov, O.: Human Oral Embriology and Histology. 1th Ed., Munksgaard, Copenhagen, 1986.
188. Eliades, G., Palaghias, G., Vougiouklakis, G.: Surface reactions of adhesives on dentin. *Dent Mater.*, 6(3): 208-216, 1990.
189. Nakabayashi, N., Kojima, K., Masuhara, E.: The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.*, 16(3): 265-273, 1982.
190. Van Meerbeek, B., Inokoshi, S., Braem, M., Lambrechts, P., Vanherle, G.: Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res.*, 71(8):1530-1540, 1992.
191. Baier, R.E.: Principles of adhesion. *Oper Dent.*, Suppl 5: 1-9, 1992.
192. Inoue S., van Meerbeek, B., Vargas, M., Yoshida, Y.: Adhesion mechanism of self-etching adhesives. In *Advanced Adhesive Dentistry. First Edition. 3rd International Dentistry Kuraray Symposium, Italy, 2000* pp.130-148.
193. Van Meerbeek, B., DeMunck, J., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M.: Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.*, 28(3): 215-235, 2003.
194. De Munck, J., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M., Vijay, P., Van Landuyt, K., Lambrechts, P., Vanherle, G.: Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.*, 28(3): 215-235, 2003.
195. 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.*, 24(1): 90-101, 2008.
196. Silva e Souza, M.H.Jr., Carneiro, K.G., Lobato, M.F., Silva e Souza Pde, A., de Goes, M.F.: Adhesive systems: important aspects related to their composition and clinical use. *J Appl Oral Sci.*, 18(3): 207-214, 2010.
197. Breschi, L., Gobbi, P., Lopes, M., Prati, C., Falconi, M., Teti, G., Mazzotti, G.: Immunocytochemical identification of type I collagen in acid-etched dentin. *J Biomed Mater Res A.*, 66(4): 764-769, 2003.
198. Ogata, M., Okuda, M., Nakajima, M., Pereira, P.N., Sano, H., Tagami, J.: Influence of the direction of tubules on bond strength to dentin. *Oper Dent.*, 26(1): 27-35, 2001.
199. Erickson, R.L.: Surface interactions of dentin adhesive materials. *Oper Dent.*, Supp 15: 81-94, 1992.
200. Nakabayashi, N. and Takarada, K.: Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater.*, 8(2): 125-130, 1992.

201. Tay, F.R., Pashley, D.H., Suh, B.I., Carvalho, R.M.: Itthagarun, A.: Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent.*, 30(7-8): 371-382, 2002.
202. Van Landuyt, K.L., Snauwaert, J., De Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Poitevin, A., Coutinho, E., Suzuki, K., Lambrechts, P., Van Meerbeek, B.: Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28(26): 3757-3785, 2007.
203. Cadenaro, M., Antonioli, F., Sauro, S., Tay, F.R., Di Lenarda, R., Prati, C., Biasotto, M., Contardo, L., Breschi, L.: Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci.*, 113(6): 525-530, 2005.
204. Pashley, E.L., Zhang, Y., Lockwood, P.E., Rueggeberg, F.A., Pashley, D.H.: Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. *Dent Mater.*, 14(1): 6-10, 1998.
205. Summitt JB., Robbins J.W., Schwartz R.S.: *Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach*. Second ed. Quintessence Publishing Co., 2001, p.181.
206. Van Landuyt, K.L., Kanumilli, P., De Munck, J., Peumans, M., Lambrechts, P., Van Meerbeek, B.: Bond strength of a mild self-etch adhesive with and without prior acid-etching. *J Dent*, 34(1): 77-85, 2006.
207. Tay, F.R. and Pashley, D.H.: Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater.*, 17(4): 296-308, 2001.
208. Sano, H., Yoshikawa, T., Pereira, P.N., Kanemura, N., Morigami, M., Tagami, J., Pashley, D.H.: Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res.*, 78(4): 906-911, 1999.
209. Yoshida, Y., Nagakane, K., Fukuda, R., Nakayama, Y., Okazaki, M., Shintani, H., Inoue, S., Tagawa, Y., Suzuki, K., De Munck, J., Van Meerbeek, B.: Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*, 83(6): 454-458, 2004.
210. de Andrade e Silva, S.M., Carrilho, M.R., Marquezini Junior, L., Garcia, F.C., Manso, A.P., Alves, M.C., de Carvalho, R.M.: Effect of an additional hydrophilic versus hydrophobic coat on the quality of dentinal sealing provided by two-step etch-and-rinse adhesives. *J Appl Oral Sci.*, 17(3): 184-189, 2009.
211. Yoshida, Y., Van Meerbeek, B., Nakayama, Y., Snauwaert, J., Hellemans, L., Lambrechts, P., Vanherle, G., Wakasa, K.: Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. *J Dent Res.*, 79(2): 709-714, 2000.
212. Inoue, S., Van Meerbeek, B., Abe, Y., Yoshida, Y., Lambrechts, P., Vanherle, G., Sano, H.: Effect of remaining dentin thickness and the use of conditioner on micro-tensile bond strength of a glass-ionomer adhesive. *Dent Mater.*, 17(5): 445-455, 2001.
213. Pashley, D.H.: Potential treatment modalities for dentin hypersensitivity: in office products. In *Tooth Wear and Sensitivity: Clinical Advances in Restorative Dentistry*.

- Addy M., Embery G., Edgar W.M., Orchardson R. (Eds.), Martin Dunitz, London, 2000, pp. 351-365.
214. Kimura, Y., Wilder-Smith, P., Yonaga, K., Matsumoto, K.: Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol.*, 27(10): 715-721, 2000.
 215. Moritz, A., Schoop, U., Goharkhay, K., Aoid, M., Reichenbach, P., Lothaller, M.A., Wernisch, J., Sperr, W.: Long-term effects of CO₂ laser irradiation on treatment of hypersensitive dental necks: results of an in Vivo study. *J Clin Laser Med Surg.*, 16(4): 211-215, 1998.
 216. Zhang, C., Matsumoto, K., Kimura, Y., Harashima, T., Takeda, F.H., Zhou, H.: Effects of CO₂ laser in treatment of cervical dentinal hypersensitivity. *J Endod.*, 24(9): 595-597, 1998.
 217. Lan, W.H. and Liu, H.C.: Treatment of dentin hypersensitivity by Nd:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg.*, 14(2): 89-92, 1996.
 218. Kara, C. and Orbak, R.: Comparative evaluation of Nd:YAG laser and fluoride varnish for the treatment of dentinal hypersensitivity. *J Endod.*, 35(7): 971-974, 2009.
 219. Liu, H.C., Lin, C.P., Lan, W.H.: Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. *J Endod.*, 23(11): 691-693, 1997.
 220. Schwarz, F., Arweiler, N., Georg, T., Reich, E.: Desensitizing effects of an Er:YAG laser on hypersensitive dentine. *J Clin Periodontol.*, 29(3): 211-215, 2002.
 221. Birang, R., Poursamimi, J., Gutknecht, N., Lampert, F., Mir, M.: Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG and Er:YAG laser in dentin hypersensitivity treatment. *Lasers Med Sci.*, 22(1): 21-24, 2007.
 222. Almas, K., Mahmoud, A., Dahlan, A.: A comparative study of propolis and saline application on human dentin. A SEM study. *Indian J Dent Res.*, 12(1): 21-27, 2001.
 223. Mahmoud, A.S., Almas, K., Dahlan, A.A.: The effect of propolis on dentinal hypersensitivity and level of satisfaction among patients from a university hospital Riyadh, Saudi Arabia. *Indian J Dent Res.*, 10(4): 130-137, 1999.
 224. Lee, B.S., Tsai, H.Y., Tsai, Y.L., Lan, W.H., Lin, C.P.: In vitro study of DP-bioglass paste for treatment of dentin hypersensitivity. *Dent Mater J.*, 24(4): 562-569, 2005.
 225. Lee, B.S., Chang, C.W., Chen, W.P., Lan, W.H., Lin, C.P.: In vitro study of dentin hypersensitivity treated by Nd:YAP laser and bioglass. *Dent Mater.*, 21(6): 511-519, 2005.
 226. Chiang, Y.C., Chen, H.J., Liu, H.C., Kang, S.H., Lee, B.S., Lin, F.H., Lin, H.P., Lin, C.P.: A novel mesoporous biomaterial for treating dentin hypersensitivity. *J Dent Res.*, 89(3): 236-240, 2010.

227. Curtis, A.R., West, N.X., Su, B.: Synthesis of nanobioglass and formation of apatite rods to occlude exposed dentine tubules and eliminate hypersensitivity. *Acta Biomater.*, 6(9): 3740-3746, 2010.
228. Limmatvapirat, S., Limmatvapirat, C., Luangtana-Anan, M., Nunthanid, J., Oguchi, T., Tozuka, Y., Yamamoto, K., Puttipipatkachorn, S.: Modification of physicochemical and mechanical properties of shellac by partial hydrolysis. *Int J Pharm.*, 278(1): 41-49, 2004.
229. Hoang-Tu, H., Huynh, AL., Phan, AH.: Production and testing of a shellac based varnish for the prevention of dental caries. Final report of Research grant of the Vietnam, Ministry of Health, 1997.
230. Hoang-Dao, B.T., Hoang-Tu, H., Tran-Hung, L., Camps, J., Koubi, G., About, I.: Evaluation of a natural resin-based new material (Shellac F) as a potential desensitizing agent. *Dent Mater.*, 24(7): 1001-1007, 2008.
231. Chang, H.H., Guo, M.K., Kasten, F.H., Chang, M.C., Huang, G.F., Wang, Y.L., Wang, R.S., Jeng, J.H.: Stimulation of glutathione depletion, ROS production and cell cycle arrest of dental pulp cells and gingival epithelial cells by HEMA. *Biomaterials*, 26(7): 745-753, 2005.
232. Vajrabhaya, L.O., Korsuwannawong, S., Bosl, C., Schmalz, G.: The cytotoxicity of self-etching primer bonding agents in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 107(3): e86-90, 2009.
233. Geurtsen, W., Lehmann, F., Spahl, W., Leyhausen, G.: Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *J Biomed Mater Res.*, 41(3): 474-480, 1998.
234. Zuckerbraun, H.L., Babich, H., May, R., Sinensky, M.C.: Triclosan: cytotoxicity, mode of action, and induction of apoptosis in human gingival cells in vitro. *Eur J Oral Sci.*, 106 (2 Pt 1): 628-636, 1998.
235. Jaeger Greer, M.R., Cates, R.G., Johnson, F.B., Lamnaouer, D., Ohai, L.: Activity of acetone and methanol extracts from thirty-one medicinal plant species against herpes simplex virus types 1 and 2. *Pharm Biol.*, 48(9): 1031-1037, 2010.
236. Slamenova, D., Gabelova, A., Ruppova, K.: Cytotoxicity and genotoxicity testing of sodium fluoride on Chinese hamster V79 cells and human EUE cells. *Mutat Res.*, 279(2): 109-115, 1992.
237. Wataha, J.C., Hanks, C.T., Strawn, S.E., Fat, J.C.: Cytotoxicity of components of resins and other dental restorative materials. *J Oral Rehabil.*, 21(4):453-462,1994.
238. Polyzois, G.L.: In vitro evaluation of dental materials. *Clin Mater.*, 16(1): 21-60, 1994.
239. Hanks, C.T., Wataha, J.C., Sun, Z.: In vitro models of biocompatibility: a review. *Dent Mater.*, 12(3): 186-193, 1996.

240. Schmalz, G.: Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials--advantages and limitations. *J Dent.*, 22 Suppl 2: 6-11, 1994.
- 241 . Hanks, C.T. and Wataha J.C.: Biocompatibility. In *Restorative Dental Materials*. 9th Edit., Craig, R.G. (Ed.), C.V. Mosby Co., St. Louis, 1993, pp.141-177.
242. Mjor, I.A., Hensten-Pettersen, A., Skogedal, O.: Biologic evaluation of filling materials. A comparison of results using cell culture techniques, implantation tests and pulp studies. *Int Dent J.*, 27(2):124-129, 1977.
243. Yasuda, Y., Inuyama, H., Maeda, H., Akamine, A., Nor, J.E., Saito, T.: Cytotoxicity of one-step dentin-bonding agents toward dental pulp and odontoblast-like cells. *J Oral Rehabil.*, 35(12): 940-946, 2008.
244. Arenholt-Bindslev, D. and Bleeg, H.: Characterization of two types of human oral fibroblast with a potential application to cellular toxicity studies: tooth pulp fibroblasts and buccal mucosa fibroblasts. *Int Endod J.*, 23(2): 84-91, 1990.
245. Arenholt-Bindslev, D., and Horsted-Bindslev, P.: A simple model for evaluating relative toxicity of root filling materials in cultures of human oral fibroblasts. *Endod Dent Traumatol.*, 5(5): 219-226, 1989.
246. Thonemann, B., Schmalz, G., Hiller, K.A., Schweikl, H.: Responses of L929 mouse fibroblasts, primary and immortalized bovine dental papilla-derived cell lines to dental resin components. *Dent Mater.*, 18(4): 318-323, 2002.
247. Guess, W.L., Rosenbluth, S.A., Schmidt, B., Autian, J.: Agar diffusion method for toxicity screening of plastics on cultured cell monolayers. *J Pharm Sci.*, 54(10): 1545-1547, 1965.
248. Schmalz, G.: Agar overlay method. *Int Endod J.*, 21(2): 59-66, 1988.
249. Kawahara, H., Yamagami, A., Nakamura, M.Jr.: Biological testing of dental materials by means of tissue culture. *Int Dent J.*, 18(2): 443-467, 1968.
250. Spangberg, L.: Kinetic and quantitative evaluation of material cytotoxicity in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*, 35(3): 389-401, 1973.
251. Rosenbluth, S.A., Weddington, G.R., Guess, W.L., Autian, J.: Tissue Culture Method for Screening Toxicity of Plastic Materials to Be Used in Medical Practice. *J Pharm Sci.*, 54: 156-159, 1965.
252. Wennberg, A., Hasselgren, G., Tronstad, L.: A method for toxicity screening of biomaterials using cells cultured on millipore filters. *J Biomed Mater Res.*, 13(1): 109-120, 1979.
253. Tyas, M.J.: A method for the in vitro toxicity testing of dental restorative materials. *J Dent Res.*, 56(10): 1285-1290, 1977.

254. Meryon, S.D.: The effect of zinc on the biocompatibility of dental amalgams in vitro. *Biomaterials*, 5(5): 293-297, 1984.
255. Hume, W.R.: Methods of assessment in vitro of restorative material cytotoxicity using an intact human dentine diffusion step. *Int Endod J.*, 21(2): 85-88, 1988.
256. Hanks, C.T., Diehl, M.L., Craig, R.G., Makinen, P.K., Pashley, D.H.: Characterization of the "in vitro pulp chamber" using the cytotoxicity of phenol. *J Oral Pathol Med.*, 18(2): 97-107, 1989.
257. Stanley, H.: Pulpal Responses. In *Pathways of the Pulp*. Cohens, S., Burns RC. (Eds.), C.V. Mosby Co, 1980, pp. 377-397.
258. Pashley, D.H. and Matthews, W.G.: The effects of outward forced convective flow on inward diffusion in human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.*, 38(7): 577-582, 1993.
259. Pashley, D.H.: Dentin permability: Theory and practise. In *Experimental endodontics*, Spangberg, LSW. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, 1989, pp. 19-49.
260. Hanks, C.T., Craig, R.G., Diehl, M.L., Pashley, D.H.: Cytotoxicity of dental composites and other materials in a new in vitro device. *J Oral Pathol.*, 17(8): 396-403, 1988.
261. Schmalz, G. and Schweikl, H.: Characterization of an in vitro dentin barrier test using a standard toxicant. *J Endod.*, 20(12): 592-594, 1994.
262. Spangberg, L. and Pascon, E.A.: The importance of material preparation for the expression of cytotoxicity during in vitro evaluation of biomaterials. *J Endod.*, 14(5): 247-250, 1988.
263. Wiegand, A., Buchholz, K., Werner, C., Attin, T.: In vitro cytotoxicity of different desensitizers under simulated pulpal flow conditions. *J Adhes Dent.*, 10(3): 227-232, 2008.
264. Camps, J., About, I., Van Meerbeek, B., Franquin, J.C.: Efficiency and cytotoxicity of resin-based desensitizing agents. *Am J Dent.*, 15(5): 300-304, 2002.
265. Manabe, A., Katsuno, K., Kurihara, A., Itoh, K., Hisamitsu, H., Wakumoto, S., Iijima, M., Yoshida, T.: Adverse effect of dentine bonding agent on the oral mucosa of guinea pigs. *J Oral Rehabil.*, 28(1): 88-94, 2001.
266. Huang, F.M. and Chang, Y.C.: Cytotoxicity of dentine-bonding agents on human pulp cells in vitro. *Int Endod J.*, 35(11): 905-909, 2002.
267. Duran, I. and Sengun, A.: Evaluation of Antibacterial Effectiveness of Desensitizers against Oral Bacteria. *Eur J Dent.*, 2(1): 43-47, 2008.
268. Sengun, A., Buyukbas, S., Hakki, S.S.: Cytotoxic effects of dental desensitizers on human gingival fibroblasts. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 78(1): 131-137, 2006.

269. Oguro, A., Cervenka, J., Horii, K.: Effect of sodium fluoride on growth of human diploid cells in culture. *Pharmacol Toxicol.*, 67(5): 411-414, 1990.
270. Khalil, A.M.: Chromosome aberrations in cultured rat bone marrow cells treated with inorganic fluorides. *Mutat Res.*, 343(1): 67-74, 1995.
271. Chang, Y.C. and Chou, M.Y.: Cytotoxicity of fluoride on human pulp cell cultures in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 91(2): 230-234, 2001.
272. Hackett, R.L., Shevock, P.N., Khan, S.R.: Alterations in MDCK and LLC-PK1 cells exposed to oxalate and calcium oxalate monohydrate crystals. *Scanning Microsc.*, 1995. 9(2): 587-596, S.R.
273. Monks, A., Scudiero, D., Skehan, P., Shoemaker, R., Paull, K., Vistica, D., Hose, C., Langley, J., Cronise, P., Vaigro-Wolff, A.: Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J Natl Cancer Inst.*, 83(11): 757-766, 1991.
274. Kwong, S.M., Cheung, G.S., Kei, L.H., Itthagarun, A., Smales, R.J., Tay, F.R., Pashley, D.H.: Micro-tensile bond strengths to sclerotic dentin using a self-etching and a total-etching technique. *Dent Mater.*, 18(5): 359-369, 2002.
275. Dogan, A.L., Dogan, A., Canpinar, H., Duzguncinar, O., Demirpence, E.: Effect of fludarabine on leukocyte functions. *Chemotherapy*, 50(6): 283-288, 2004.
276. Lanza, C.R., de Souza Costa, C. A., Furlan, M., Alecio, A., Hebling, J.: Transdentinal diffusion and cytotoxicity of self-etching adhesive systems. *Cell Biol Toxicol.*, 25(6): 533-543, 2009.
277. Schmalz, G., Schuster, U., Koch, A., Schweikl, H.: Cytotoxicity of low pH dentin-bonding agents in a dentin barrier test in vitro. *J Endod.*, 28(3): 188-192, 2002.
278. Johnson, H.J., Northup, S.J., Seagraves, P.A., Atallah, M., Garvin, P.J., Lin, L., Darby, T.D.: Biocompatibility test procedures for materials evaluation in vitro. II. Objective methods of toxicity assessment. *J Biomed Mater Res.*, 19(5): 489-508, 1985.
279. Lovschall, H., Eiskjaer, M., Arenholt-Bindslev, D.: Formaldehyde cytotoxicity in three human cell types assessed in three different assays. *Toxicol In Vitro.*, 16(1): 63-69, 2002.
280. ISO, Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for cytotoxicity: In vitro methods, International Organization for Standardization, Geneva, 2009.
281. Kuo, T.C., Lee, B.S., Kang, S.H., Lin, F.H., Lin, C.P.: Cytotoxicity of DP-bioglass paste used for treatment of dentin hypersensitivity. *J Endod.*, 33(4): 451-454, 2007.
282. Mosmann, T.: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.*, 65(1-2): 55-63, 1983.

283. Gerzina, T.M. and Hume, W.R.: Diffusion of monomers from bonding resin-resin composite combinations through dentine in vitro. *J Dent.*, 24(1-2): 125-128, 1996.
284. Teti, G., Mazzotti, G., Zago, M., Ortolani, M., Breschi, L., Pelotti, S., Ruggeri, A., Falconi, M.: HEMA down-regulates procollagen alpha1 type I in human gingival fibroblasts. *J Biomed Mater Res A.*, 90(1): 256-262, 2009.
285. Reichl, F.X., Esters, M., Simon, S., Seiss, M., Kehe, K., Kleinsasser, N., Folwaczny, M., Glas, J., Hickel, R.: Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. *Arch Toxicol.*, 80(6): 370-377, 2006.
286. Noda, M., Wataha, J.C., Lockwood, P.E., Volkmann, K.R., Kaga, M., Sano, H.: Sublethal, 2-week exposures of dental material components alter TNF-alpha secretion of THP-1 monocytes. *Dent Mater.*, 19(2): 101-105, 2003.
287. About, I., Camps, J., Mitsiadis, T.A., Bottero, M.J., Butler, W., Franquin, J.C.: Influence of resinous monomers on the differentiation in vitro of human pulp cells into odontoblasts. *J Biomed Mater Res.*, 63(4): 418-423, 2002.
288. Bakopoulou, A., Papadopoulos, T., Garefis, P.: Molecular toxicology of substances released from resin-based dental restorative materials. *Int J Mol Sci.*, 10(9): 3861-3899, 2009.
289. Slamenova, D., Ruppova, K., Gabelova, A., Wsolova, L.: Evaluation of mutagenic and cytotoxic effects of sodium fluoride on mammalian cells influenced by an acid environment. *Cell Biol Toxicol.*, 12(1): 11-17, 1996.
290. Prado, E., Wurtz, T., Ferbus, D., Shabana el, H., Forest, N., Berdal, A.: Sodium fluoride influences the expression of keratins in cultured keratinocytes. *Cell Biol Toxicol.*, 27(1): 69-81, 2011.
291. Dogan, S., Gunay, H., Leyhausen, G., Geurtsen, W.: Chemical-biological interactions of NaF with three different cell lines and the caries pathogen *Streptococcus sobrinus*. *Clin Oral Investig.*, 6(2): 92-97, 2002.
292. Yan, Q., Zhang, Y., Li, W., Denbesten, P.K.: Micromolar fluoride alters ameloblast lineage cells in vitro. *J Dent Res.*, 86(4): 336-340, 2007.
293. Gorgidze, L.A., Oshemkova, S.A., Vorobjev, I.A.: Blue light inhibits mitosis in tissue culture cells. *Biosci Rep.*, 18(4): 215-224, 1998.
294. Hoffmann-Dorr, S., Greinert, R., Volkmer, B., Epe, B.: Visible light (>395 nm) causes micronuclei formation in mammalian cells without generation of cyclobutane pyrimidine dimers. *Mutat Res.*, 572(1-2): 142-149, 2005.
295. McMartin, K.E. and Wallace, K.B.: Calcium oxalate monohydrate, a metabolite of ethylene glycol, is toxic for rat renal mitochondrial function. *Toxicol Sci.*, 84(1): 195-200, 2005.

296. Patel, M., Ndlovu, N.N., Owen, C.P., Veale, R.: Properties of a new mouthrinse for patients receiving radiation therapy. *SADJ.*, 65(9): 410, 412-414, 2010.
297. Pashley, D.H., Livingston, M. J., Reeder, O.W., Horner, J.: Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.*, 23(12): 1127-1133, 1978.
298. Bilotto, G., Markowitz, K., Kim, S.: Effects of ionic and non-ionic solutions on intradental nerve activity in the cat. *Pain*, 32(2): 231-238, 1988.
299. Akca, T., Yazici, A.R., Celik, C., Ozgunaltay, G., Dayangac, B.: The effect of desensitizing treatments on the bond strength of resin composite to dentin mediated by a self-etching primer. *Oper Dent.*, 32(5): 451-456, 2007.
300. Manso, A.P., Marquezini, L.Jr., Silva, S.M., Pashley, D.H., Tay, F.R., Carvalho, R.M.: Stability of wet versus dry bonding with different solvent-based adhesives. *Dent Mater.*, 24(4): 476-482, 2008.
301. Nakabayashi, N., Watanabe, A., Gendusa, N.J.: Dentin adhesion of "modified" 4-META/MMA-TBB resin: function of HEMA. *Dent Mater.*, 8(4): 259-264, 1992.
302. Perdigao, J., Van Meerbeek, B., Lopes, M.M., Ambrose, W.W.: The effect of a re-wetting agent on dentin bonding. *Dent Mater.*, 15(4): 282-295, 1999.
303. Al Qahtani, M.Q., Platt, J.A., Moore, B.K., Cochran, M.A.: The effect on shear bond strength of rewetting dry dentin with two desensitizers. *Oper Dent.*, 28(3): 287-296, 2003.
304. Perdigao, J., Swift, E. J.Jr., Heymann, H.O., Malek, M.A.: Effect of a re-wetting agent on the performance of acetone-based dentin adhesives. *Am J Dent.*, 11(5): 207-213, 1998.
305. Kolker, J.L., Vargas, M. A., Armstrong, S.R., Dawson, D.V.: Effect of desensitizing agents on dentin permeability and dentin tubule occlusion. *J Adhes Dent.*, 4(3): 211-221, 2002.
306. Brunton, P.A., Kalsi, K.S., Watts, D.C., Wilson, N.H.: Resistance of two dentin-bonding agents and a dentin desensitizer to acid erosion in vitro. *Dent Mater.*, 16(5): 351-355, 2000.
307. Nystrom, G.P., Holtan, J.R., Douglas, W.H.: Effects of fluoride pretreatment on bond strength of a resin bonding agent. *Quintessence Int.*, 21(6): 495-499, 1990.
308. Huh, J.B., Kim, J.H., Chung, M.K., Lee, H.Y., Choi, Y.G., Shim, J.S.: The effect of several dentin desensitizers on shear bond strength of adhesive resin luting cement using self-etching primer. *J Dent.*, 36(12): 1025-1032, 2008.
309. Pashley, E.L., Tao, L., Pashley, D.H.: Effects of oxalate on dentin bonding. *Am J Dent.*, 6(3): 116-118, 1993.

310. Pashley, D.H., Carvalho, R.M., Pereira, J.C., Villanueva, R., Tay, F.R.: The use of oxalate to reduce dentin permeability under adhesive restorations. *Am J Dent.*, 14(2): 89-94, 2001.
311. www.bisco.com....bisblock
312. Garcia-Godoy, A. and Garcia-Godoy, F.: Effect of an 8.0% arginine and calcium carbonate in-office desensitizing paste on the shear bond strength of composites to human dental enamel. *Am J Dent.*, 23(6): 324-326, 2010.
313. Tanaka, J., Ishikawa, K., Yatani, H., Yamashita, A., Suzuki, K.: Correlation of dentin bond durability with water absorption of bonding layer. *Dent Mater J.*, 18(1): 11-18, 1999.
314. Tay, F.R., Pashley, D.H., Yoshiyama, M.: Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res.*, 81(7): p. 472-476, 2002.
315. Zhang, Y., Agee, K., Pashley, D.H., Pashley, E.L.: The effects of Pain-Free Desensitizer on dentine permeability and tubule occlusion over time, in vitro. *J Clin Periodontol.*, 25(11 Pt 1): 884-891, 1998.
316. Sauro, S., Pashley, D. H., Montanari, M., Chersoni, S., Carvalho, R. M., Toledano, M., Osorio, R., Tay, F. R., Prati, C.: Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater.*, 23(6): 705-713, 2007.
317. Sengun, A., Unlu, N., Ozturk, B., Ozer, F.: Microtensile bond strength of two resin composite materials placed with direct and indirect techniques under simulated pulpal pressure. *J Adhes Dent.*, 7(3): 197-202, 2005.
318. Perdigao, J.: Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrat treatment. *Dent Mater.*, 26(2): 24-37, 2010.
319. Shimada, Y., Sattabanasuk, V., Sadr, A., Yuan, Y., He, Z., Tagami, J.: Shear bond strength of tooth-colored indirect restorations bonded to mid-coronal and cervical dentin. *Dent Mater J.*, 25(1): 7-12, 2006.
320. Sengun, A., Koyuturk, A.E., Sener, Y., Ozer, F.: Effect of desensitizers on the bond strength of a self-etching adhesive system to caries-affected dentin on the gingival wall. *Oper Dent.*, 30(4): 430-435, 2005.

ÖZGEÇMİŞ

04.12.1979 tarihinde Trabzon'da doğdum. İlköğretimi Doğanköy-Akçaabat Köprübaşı İlkokulunda ve Akçaabat Mevlüt Selami Yardım Ortaokulu'nda, ortaöğretimimi Trabzon Fatih Deneme Lisesi'nde tamamladım. Lisans ve lisansüstü eğitimlerimi Ankara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi'nde 1998-2003 yılları arasında tamamladım. 2003-2005 yılları arasında serbest muayenehanecilik yaptım. Aralık 2005 tarihinde Karadeniz Teknik Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Eylül 2007 tarihinde aynı anabilim dalında doktora eğitime başladım. Eylül 2009'da doktora yeterlilik sınavında başarılı oldum.

Yabancı dilim İngilizce'dir.