



**TRİKALSİYUM SİLİKAT ESASLI KAİDE MATERYALLERİNİN DENTİN
REMİNERALİZASYONU ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN *İN VİTRO*
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mohammad AMER

**DOKTORA TEZİ
DİŞ HASTALIKLARI VE TEDAVİSİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

NİSAN 2019

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dökümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
Bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabulleneceğimi beyan ederim.

Mohammad AMER

29.04.2019

TRİKALSİYUM SİLİKAT ESASLI KAİDE MATERYALLERİNİN DENTİN
REMİNERALİZASYONU ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN *İN VİTRO*
DEĞERLENDİRİLMESİ
(Doktora Tezi)

Mohammad AMER
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Nisan 2019

ÖZET

Bu çalışmanın amacı trikalsiyum silikat esaslı materyallerin dentin remineralizasyon etkinliklerinin değerlendirilmesidir. Çalışmada 100 adet çekilmiş sağlıklı üçüncü azı dişinden dentin diskleri elde edildi ve Kontrol, Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, Fransa), Theracal (Bisco Inc, Schaumburg, IL, ABD), Endocem MTA (Maruchi, Gangwon-do, Güney Kore) ve Retro MTA (BioMTA, Seul, Güney Kore) olmak üzere rastgele beş gruba ayrıldı (n=20). Dentin disklerinden 18'er tanesi Vickers mikrosertlik değerlendirmelerinde, geriye kalan 2'şer tanesi ise SEM-EDX değerlendirmelerinde kullanıldı. Dentin disklerinin ilk Vickers mikrosertlik değerleri kaydedildi. Daha sonra, dentin diskleri 2 saat boyunca 15 ml %17 EDTA solusyonunda bekletilerek demineralize edildi ve mikrosertlik değerleri yeniden kaydedildi. Kontrol grubundaki dentin diskleri, herhangi bir işlem uygulanmadan, 15 ml DPBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) içerisinde 37°C'de 1 hafta bekletildi. Diğer gruplarda Biodentine, Theracal, Endocem MTA ve Retro MTA diskleri, üretici firma talimatlarına göre hazırlanıp, dentin kesitleriyle direkt kontakta olacak şekilde yerleştirildi ve 15 ml DPBS içerisinde 37°C'de 1 hafta bekletildi. Bir hafta sonunda, dentin yüzeylerinin mikrosertlik değerleri tekrar kaydedildi, bekletme solusyonlarının kalsiyum iyon konsantrasyonları ve pH değerleri ölçüldü. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testleri ($p<0.05$) kullanılarak yapıldı. Remineralizasyon sürecinin nitel ve nicel olarak değerlendirilmesi için, her gruptan geriye kalan 2 örnek SEM-EDX analizi (SEM-JOEL 6060 LV EDS IXRF, ABD) kullanılarak değerlendirildi. Deney grupları arasında Theracal ($p=0.008$) dışındaki tüm materyaller, dentinin demineralizasyonla kaybedilmiş olan mikrosertlik değerlerini kazanmasına yardımcı oldu ($p>0.05$). Materyaller arasında en yüksek Ca^{+2} salım değeri Biodentine, en düşük Ca^{+2} salım değeri ise Theracal grubunda izlendi. Deney grupları arasında en yüksek alkalinite Retro MTA grubunda ($pH=10.90$) izlenirken, en düşük alkalinite Theracal grubunda ($pH=8.91$) elde edildi. SEM-EDX analizleri, Kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda yüksek kalsiyum ve fosfat içerikli çökeltiler oluştuğunu gösterdi. EDX analiz sonucunda en düşüğü Kontrol grubunda (1,18–1,52) ve en yüksek Biodentine grubunda (2,01 - 2,64) olmak üzere farklı Ca/P oranları görüldü. Bu *in vitro* çalışmanın sınırları dahilinde, bu çalışmada kullanılan trikalsiyum silikat materyallerin tamamının demineralize dentini remineralize etme potansiyeline sahip oldukları söylenebilir.

Bilim Kodu : 1015
Anahtar Kelimeler : Demineralizasyon, mikrosertlik, kalsiyum salımı, remineralizasyon, SEM-EDX, Trikalsiyum silikat siman
Sayfa Adedi : 157
Danışman : Prof. Dr. Hacer DENİZ ARISU

EVALUATION OF TRICALCIUM SILICATE BASED CEMENTS ON *IN VITRO* DENTIN REMINERALIZATION

(Ph. D. Thesis)

Mohammad AMER

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

APRIL 2019

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the dentin remineralization effectiveness of tricalcium silicate-based materials. Dentin discs were obtained from 100 sound third molar teeth and then subdivided into five groups (n=20) as Control, Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, France), Theracal (Bisco Inc, Schaumburg, IL, USA), Endocem MTA (Maruchi, Gangwon-do, South Korea), and Retro MTA (BioMTA, Seoul, South Korea). 18 samples per group were examined in terms of changes in Vickers microhardness, while the remaining 2 samples were used for SEM-EDX. Baseline microhardness of dentin discs were recorded. Dentin discs were then demineralized by 15 ml 17% EDTA solution for 2 hours, then their microhardness values were recorded. The control group, was kept untouched in 15 ml DPBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) for one week at 37°C. For the experimental groups, Biodentine, Theracal, Endocem MTA and Retro MTA discs were prepared according to their manufacturers' instructions, placed in direct contact with dentin samples, then immersed in 15 ml DPBS and incubated for 1 week at 37°C. After 1 week, the hardness of dentin surfaces were recorded and the calcium ion concentration and pH of the immersion solutions were measured. Obtained data were statistically analyzed, by ANOVA and Tukey post-hoc test ($p < 0.05$). The remaining 2 samples from each group were investigated by SEM-EDX analysis (SEM-JOEL 6060 LV EDS IXRF, USA) to quantitatively and qualitatively evaluate the remineralization process. Amongst the experimental groups, all the materials except Theracal ($p = 0.008$) recovered the microhardness of demineralized dentin ($p > 0.05$). Among the materials Biodentine showed the highest and Theracal showed the lowest Ca^{+2} release. In the experimental groups, Retro MTA showed the highest alkalinity ($\text{pH} = 10.90$), whereas the least value was recorded for Theracal ($\text{pH} = 8.91$). The SEM-EDX analysis revealed that all the samples developed precipitates of high calcium and phosphate content, except for the control group. The EDX analysis revealed variable calcium to phosphate ratios, being the least in the control group by Ca/P (1.18–1.52) and the highest in the Biodentine group (2.01 - 2.64). Within the limitations of this *in vitro* study, it can be concluded that all materials used in this study have remineralization potential on demineralized dentin.

Science Code : 1015

Key Word : Demineralization, microhardness, calcium release, remineralization,
SEM-EDX, Tricalcium silicate cement

Page Number :157

Advisor : Prof. Dr. Hacer DENİZ ARISU

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **03/2017-17** kodlu proje ile desteklenmiştir,

Ayrıca;

Doktora eğitimimde bana her zamanda destekte bulunan, bilgi ve tecrübelerini çekinmeden benimle paylaşan, tezimin her aşamasında büyük katkıda bulunan, sabır ve titizlikle bana yardımcı olan, öneri ve desteğini esirgemeyen, akademik ve manevi olarak bana çok şeyler kazandıran, hayatımı aydınlatan ve değerli bilgileriyle beni yetiştiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Hacer DENİZ ARISU'ya,

Engin bilgi ve tecrübesinden çok faydalandığım ve doktora eğitimimin ilk adımlarında çok yardımcı olan çok değerli hocam Prof. Dr. Emin TÜRKÖZ'e,

İlgi ve desteklerini esirgemeyen Restoratif Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine,

Sabır ve anlayışla bilgilerini benimle paylaşan, bana içten yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Özcan YALÇINKAYA'ya,

Sabır ve anlayışla bana yardım eden Gazi Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü Öğretim Elemanı Uzm. Dr. Meryem POLAT'a,

Laboratuar çalışmalarında nezaketi ve yardımseverliğiyle hep yanımda olan Gazi Üniversitesi, Patoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Emre BARIŞ'a

Doktora öğrenciliğim boyunca hep yanımda olup, dostluklarını, sevgilerini, samimiyetlerini yardım ve desteklerini esirgemeyen çok değerli arkadaşlarım Uzm. Dt. Esra ÖZYURT, Uzm. Dt. Serap KÜÇÜKŞAHİN, Dr. Fatih RASİM, Uzm. Dt. Fatma BOYDAŞ; Dr. Raghip SURADİ, Dr. Abdulrahman MUSTAFA, Dr. Hasan HASHASH ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Haytım boyunca her zaman yanımda olup, hayatımı anlamlı ve değerli kılan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, emeklerini asla ödemeyeceğim; canım annem Fadia MASAED, babam Othman AMER, kardeşlerim Niveen, Haneen, Ahmad, Abdelrahman, Esra ve Ala'ya

SONSUZ TEŞEKKÜRLER

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Dentinin Yapısı ve Bileşenleri	5
2.2. Dentinin Histolojik Yapısı.....	7
2.2.1. Dentin tübülleri	7
2.2.2. Peritübüler dentin	8
2.2.3. İntertübüler dentin	8
2.2.4. İnterglobüler dentin	10
2.2.5. İnkremental gelişim çizgileri	11
2.2.6. Tomes granüler tabakası	11
2.2.7. Primer ve sekonder dentin.....	12
2.2.8. Sklerotik dentin.....	12
2.2.9. Tersiyer dentin.....	13
2.3. Dentinogenez	14
2.4. Dentin Matriksinin Organik Bileşenleri.....	18
2.4.1. Kollajen.....	19

2.4.2. Proteoglikanlar	20
2.4.3. Küçük integrin bağlayan ligand, N-bağlantılı glikoproteinler (SIBLING proteinler)	21
2.4.4. Glutamik asit içeren proteinler	26
2.4.5. Ca^{+2} bağlayan proteinler ve metallo-enzimler	27
2.4.6. Fosfolipidler ve proteolipidler	28
2.4.7. Biyomineralizasyonda dentin fosfoproteinlerinin rolü	28
2.5. Dentinin Mineral Fazı	30
2.6. Dentin Mineralizasyonu	31
2.6.1. Kalsiyum fosfat aşırı doygun çözeltilerden kristalizasyon	34
2.6.2. Kristalleşmenin heterojen yüzeyler ve polimerik katkı maddeleri ile gelişmesi	34
2.6.3. SIBLING proteinleri ve bunların kollajen lifleri ile ilişkisi	35
2.6.4. Kalsiyum ve fosfat iyonlarının mineralizasyon ön yüzüne taşınması	36
2.7. Diş Sert Dokularındaki Demineralizasyon-Remineralizasyon Dinamikleri	37
2.7.1. Demineralizasyon	37
2.7.2. Remineralizasyon	38
2.7.3. Çürük dentinin remineralizasyonu	39
2.8. Biyomimetik Remineralizasyon Amacıyla Kullanılan Kalsiyum Silikat Simanlar ve Bu Simanların Bileşenleri	42
2.8.1. Trikalsiyum silikat	44
2.8.2. Dikalsiyum silikat	45
2.8.3. Trikalsiyum aluminat	45
2.8.4. Stronsiyum tuzları	46
2.8.5. Kalsiyum sülfat	46

Sayfa

2.8.6. Radyopaklaştırıcılar	47
2.8.7. Metil selüloz	47
2.8.8. Kalsiyum klorit	48
2.9. Dentinin Sertliği ve Mikrosertlik Testleri	48
2.10. Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (SEM-EDX).....	52
3. GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1. Diş Örnek Sayısının Belirlenmesi	53
3.2. Örneklerin Hazırlanması	53
3.3. Vickers Mikrosertlik Ölçümleri.....	58
3.4. Kalsiyum İyon Salım Miktarının Ölçülmesi	61
3.5. Deney Materyallerinin Alkalizasyon Potansiyellerinin Değerlendirilmesi.....	62
3.6. SEM, SEM-EDX Analizi	63
3.7. İstatistiksel Analiz	64
4. BULGULAR	65
4.1. Vickers Mikrosertlik Bulguları	65
4.2. Kalsiyum İyon Salım Miktarı	73
4.3. pH Ölçümleri.....	74
4.4. SEM Değerlendirmesi.....	76
5. TARTIŞMA.....	91
6. SONUÇLAR.....	115
KAYNAKLAR.....	117
EKLER.....	151
EK-1. Etik Kurul Raporu	152
ÖZGEÇMİŞ	156

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan materyaller, üretici firmaları ve ürün içerikleri	57
Çizelge 4.1. Grupların başlangıç (v1), EDTA uygulaması sonrası (v2) ve remineralize edici ajan uygulaması sonrası (v3) Vickers mikrosertlik ölçüm değerleri (VHN).....	66
Çizelge 4.2. v1 ölçümlerinin Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	68
Çizelge 4.3. v2 ölçümlerinin Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	69
Çizelge 4.4. v3 ölçümlerinin Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	70
Çizelge 4.5. v1, v2 ve v3 için eşleştirilmiş t-testi	72
Çizelge 4.6. Grupların Ca^{+2} salım ölçümleri (mg/L)	73
Çizelge 4.7. Çalışma gruplarının Ca^{+2} salım çoklu karşılaştırma sonuçları	74
Çizelge 4.8. Grupların pH ölçüm değerleri (ortalama $\pm$ standart sapma).....	75
Çizelge 4.9. Çalışma gruplarının pH ölçümlerinin çoklu karşılaştırma sonuçları.....	76
Çizelge 4.10. Kontrol grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizi sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları	81
Çizelge 4.11. Biodentine grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizi sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları	83
Çizelge 4.12. Theracal grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizin sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları.	85
Çizelge 4.13. Endocem MTA grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizi sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları	87

Çizelge**Sayfa**

Çizelge 4.14. Retro MTA grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizi sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları	89
---	----



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Dentin kesitleri elde edildikten hemen sonraki Vickers sertlik değerleri (v1)	67
Şekil 4.2. 2 saat boyunca %17'lik EDTA solüsyonunda bekletilerek demineralize edilen dentin kesitlerinin Vicker's sertlik değerleri (v2) ...	67
Şekil 4.3. 7 gün boyunca Dulbecco's fosfat tamponlama solüsyonunda remineralize edici ajanlarla bekletilen örneklerin Vickers sertlik değerleri (v3)	68
Şekil 4.4. Çalışma gruplarının demineralizasyon öncesi (v1), %17 EDTA ile demineralizasyonları sonrası (v2) ve 7 gün DPBS içerisinde bekletme sonrasındaki (v3) Vickers mikrosertlik sonuçları	71
Şekil 4.5. Ca^{+2} salım ortalama ve standart sapma değerleri (mg/L)	74
Şekil 4.6. Çalışma gruplarının pH değerlerinin ortalama ve standart sapma verileri	75

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Dişlerin akrilik bloklara gömülmesi	54
Resim 3.2. Mecatome kesit alma cihazı	54
Resim 3.3. Elde edilen dentin kesitleri ve dentin kesitlerinin kalınlıklarının ölçülmesi	55
Resim 3.4. Mecapol zımpara makinesi.....	55
Resim 3.5. Çalışmada kullanılan (a) Biodentine, (b) Theracal, (c) Endocem MTA ve (d) Retro MTA	56
Resim 3.6. Vickers mikrosertlik ölçüm cihazı.....	58
Resim 3.7. (a) Dentin kesiti ve PVC halka içerisinde hazırlanan deney materyalleri, (b) Dentin kesiti ve deney materyalinin ortodontik lastik kullanılarak sıkı temasının sağlanması, (c) Dentin kesiti ve materyal diskinin 15 ml DPBS içinde yerleştirilmesi	60
Resim 3.8. Varian AA240FS Ca+2 salım ölçüm cihazı.....	62
Resim 3.9. pH metre cihazı	62
Resim 3.10. (a) Altın kaplama cihazı, (b) SEM-EDX cihazı	63
Resim 4.1. Kontrol grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları	76
Resim 4.2. Biodentine grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları	77
Resim 4.3. Theracal grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları	78
Resim 4.4. Endocem MTA grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları	78
Resim 4.5. Retro MTA grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları	79
Resim 4.6. Kontrol grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a)SEM-EDX görüntüsü ve b- EDX analiz sonuç grafiği	80
Resim 4.7. Biodentine grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a) SEM-EDX görüntüsü ve (b) EDX analiz sonuç grafiği	82

Resim**Sayfa**

- Resim 4.8. Theracal grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a) SEM-EDX görüntüsü ve (b) EDX analiz sonuç grafiği 84
- Resim 4.9. Endocem MTA grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a) SEM-EDX görüntüsü ve (b) EDX analiz sonuç grafiği 86
- Resim 4.10. Retro MTA grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a) SEM-EDX görüntüsü ve (b) EDX analiz sonuç grafiği 88



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simge ve kısaltmalar, açıklamaları ile aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
α	Alfa
$\alpha, \alpha'H, \alpha'L, \beta, \text{ ve } \gamma$ C2S	Dikalsiyum silikat polimorfları
Al	Alüminyum
Al_2O_3	Alüminyum oksit
Ba	Baryum
β	Beta
Bi_2O_3	Bizmut (III) oksit
/	Bölü
C	Karbon
CO_2	Karbon dioksit
CO_3^{-2}	Karbonat
$(CaO)_3 \cdot SiO_2$; C3S	Trikalsiyum silikat
$(CaO)_2 \cdot SiO_2$; C2S	Dikalsiyum silikat
$(CaO)_3 \cdot Al_2O_3$; C3Al	Trikalsiyum alüminat
$(CaO)_4 \cdot Al_2O_3 \cdot Fe_2O_3$; C4AIF	Tetrakalsiyum alüminoferrit
C_3Si	Tri-kalsiyum silikat,
C_2Si	Di-kalsiyum silikat
CaO	Kalsiyum oksit
$Ca(OH)_2$	Kalsiyum hidroksit
$CaO \cdot SiO_2 \cdot nH_2O$	Kalsiyum silikat hidrat
$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	Kalsiyum hidroksiapatit
Ca^{+2}	Kalsiyum iyonu
Cl	Klorür
°C	Celsius
cm	Santimetre
cc	Santimetre küp
°	Derece

Simgeler	Açıklamalar
=	Eşittir
Fe_2O_3	Demir (III) oksit
gr	gram
HPO_4^{-2}	Hidrojen fosfat
H_2O	Dihidrojen monoksit
H_3O^+	Hidronyum
K	Potasyum
kDa'	kilodalton
kg	kilogram
KCl	Potasyum Klorür
KH_2PO_4	Monopotasyum Fosfat
L/dk	Litre/dakikada
mA	miliAmper
Mg	Magnezyum
MgO	Magnezyum Oksit
mg	miligram
mg/L	miligram/Litre
ml	mililitre
M	Mol
μm	Mikrometre
mM	miliMolar
mm	milimetre
nm	Nanometre
mm^2	Milimetre kare
mN	mili Newton
mW	miliWatt
mW/cm^2	miliWatt/santimetrekare
N	Newton
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum Klorit
NaH_2PO_4	Monosodyum Fosfat
OH^-	Hidroksil iyonu

Simgeler**Açıklamalar**

O	Oksijen
”	ons
PO₄⁻³	fosfat
P	Fosfat
pH	Ortamdaki Hidrojen İyonlarının Konsantrasyonu
ppm	Milyonda Bir Birim (Particle per million)
sn	saniye
Si	Silikon
Si-OH	Silanol
SiO⁻	Silikon monoksit
SiO₄⁻⁴	Ortosilikatı
SiO₂	Silikon Dioksit
SO₃	Sülfur Trioksit
TiO₂	Titanyum Dioksit
Zn	Çinko
Zr	Zirkonyum
%	Yüzde

Kısaltmalar**Açıklamalar**

(Asp-Pse)n	Aspartik Asitlerin ve Fosfoserinlerin tekrarlayan dizileri (Aspartic acid-Phosphoserine)n
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACP	Amorf Kalsiyum Fosfat (Amorph Calcium Phosphate)
AFM	Atomsal Kuvvet Mikroskopisi (Atomic Force Microscopy)
Asp	Aspartik asit
BM-40	Bazal Membran proteini 40
BMP-2	Kemik Morfogenetik Proteini-2 (Bone Morphogenic Protein-2)

Kısaltmalar**Açıklamalar**

BSP	Kemik Sialoprotein (Bone SialoProtein)
cDNA	Tamamlayıcı DeoksiriboNükleik Asit (Complementary Deoxyribonucleic Acid)
DGP	Dentin Glikoprotein (Dentin Glycoprotein)
DMP-1	Dentin Matriks Protein-1 (Dentin Matrix Protein-1)
DPBS	Dulbecco's Fosfat Tamponlama Solüsyonu (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)
DPP	Dentin Fosfoprotein (Dentin Phospho-Protein)
DSP	Dentin Sialoprotein
DSPP	Dentin SialoFosfoProteinleri (Dentin Sialo Phospho -Protein)
EDTA	Etilen DiaminTetraasetik Asit (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid)
GPa	Giga Paskal
HP-DPP	Yüksek Fosforile olmuş Dentin Fosfo Protein (Highly Phosphorylated Dentin Phospho-Protein)
ISO	International Organization for Standardization
LED	Işık Saçan Diyod (Light Emitting Diode)
MEPE	Matriks Ekstraselüler Fosfolgliko Proteini (Matrix Extracellular Phosphoglycoprotein)
MGP	Matris Gla Proteini (Matrix Gla Protein)
MMP	Matris Metalo-Proteinazlar
mRNA	messenger Ribo-Nükleik Asit (messenger Ribonucleic acid)
MTA	Mineral Trioksit Agregat
OPN	Osteopontin
PC-1	Proprotein Dönüştürücü (Proprotein Convertase)
polyAsp	Poli-Aspartik
Pse	Fosfoserin (Phosphorine)
PVC	Polivinil Klorür (Polyvinyl Chloride)
RGD	Arjinin-glisin-aspartat tripeptit
S100	Düşük moleküler ağırlıklı proteinler

Kısaltmalar**Açıklamalar****SEM-EDX**

Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımlı X-
Işını Spektroskopisi (Scanning Electron
Microscope Energy-dispersive X-ray
spectroscopy)

Ser/Thr

Serin / Treonin

SIBLING

İntegrin Bağlayan Küçük Ligandlar, N-bağlantılı
Proteinler (Small İntegrin-Binding Ligand, N-linked
Glycoprotein)

SLRP

Lösinden Zengin Proteoglikanlar (Small Leucine-
Rich Proteoglycan)

SPARC

Asidik ve Sisteinden Zengin Salgı Proteinini
(Secreted Protein Acidic and Cysteine Rich)

TGF β Transforming Growth Factor β **TNAP**

Doku Spesifik olmayan Alkalen Fosfataz (Tissue
Non-specific Alkaline Phosphatase)

v1 (VHN 1)

Demineralizasyon öncesi Vickers mikrosertlik

v2 (VHN 2)

Demineralizasyon işlemi sonrası Vickers
mikrosertlik ölçümleri

v3 (VHN 3)

Remineralizasyon işlemi sonrası Vickers
mikrosertlik ölçümleri

VHN

Vickers Hardness Number

1. GİRİŞ

Minimal girişimsel diş hekimliği sağlıklı diş dokularının maksimum düzeyde korunması olarak açıklanabilir. Günümüzde teşhis yöntemlerinin gelişimi ve dental hastalıkların etiyolojisi ve prognozunun daha iyi anlaşılmasıyla, çürük risk analizi ile birlikte girişimsel işlemler minimum düzeyde yapılabilmektedir. Minimal girişimsel diş hekimliği kavite oluşmuş çürük lezyonlarında ultra konservatif tedavi yaklaşımını temsil etmektedir (Ericson, Kidd, McComb, Mjör ve Noack, 2003; Tyas, Anusavice, Frencken ve Mount, 2000).

Çürük, demineralizasyon-remineralizasyon dengesinin demineralizasyon lehine bozulmasıyla ortaya çıkan dinamik bir süreçtir. Bu denge patolojik ve koruyucu faktörler arasındaki dinamiklerden kaynaklanmaktadır. Patolojik faktörler koruyucu faktörlere göre ağır basmaya başladığında bu denge bozulur ve demineralizasyon süreci başlar. Eğer patolojik faktörlerin yoğunluğu devam ederse çürük lezyonları gelişir (Featherstone, 2008).

Mine çürüğünün önlenmesi için pek çok materyal geliştirilmiş ve önerilmiştir. Bu materyaller aynı zamanda remineralizasyon ajanı olarak etkinliği kanıtlanmış materyallerdir. Çürük sürecine dentin dahil olduğunda, özellikle kaviteasyonlar olduğu durumlarda remineralizasyon sağlanması güçleşir ve diş dokusunun uzaklaştırılması kaçınılmaz hale gelir. Çürük sürecinin, mineral miktarındaki azalmaya bağlı olarak diş dokularını mekanik stres ve karyojenik patojenlerin asit ataklarına karşı daha korunmasız hale getirmesiyle, kollajen matriks kimyasal ve fiziksel olarak etkilenmektedir. Ayrıca, lezyonunun dentine ilerlediği durumlarda, endojen matriks metalloproteinazlar ve sistein katepsinlerin aktive olmasıyla kollajen lifler yıkıma uğramakta ve dentinin mekanik özellikleri zayıflamaktadır (Niu ve diğerleri, 2014).

Çürük uzaklaştırılması sırasında daha az miktarda doku kaldırılmasını sağlamak ve diş restorasyon ara yüzeyinde sekonder çürük oluşumu riskini azaltmak amacıyla demineralize dentinin remineralizasyonu için farklı stratejiler kullanılmıştır. Florid, amorf kalsiyum fosfat (ACP) salan rezinler veya biyoaktif cam içerikli rezin esaslı adezivler dentine bağlanan restorasyonların sekonder çürüğe karşı direncini

arttırmak amacıyla kullanılmıştır (Shen, Zhang ve Anusavice, 2010; Xu, Moreau, Sun, Chow, 2011; Sauro, Osorio, Watson ve Toledano, 2012). Ancak bu çalışmaların pek çoğu, parsiyel olarak demineralizasyona uğramış çürük dentinin remineralizasyonunu amaçlamaktadır. Bu durumda, kalsiyum-fosfat iyonları herhangi bir çekirdek oluşturmadan, var olan apatit çekirdek kristalinin üzerine epitaksiyel olarak depolanmaktadır. Bu tip geleneksel iyon bazlı stratejilerde, çekirdek kristalin olmadığı bölgelerde remineralizasyon oluşmamaktadır. Bu nedenle klasik iyon bazlı kristalizasyon konsepti, tamamen demineralize olmuş dentin veya minimal invaziv çürük uzaklaştırılması sonrasında geriye kalan çürükten etkilenmiş dentinin üst tabakası gibi bölgelerde apatit kristallerinin homojen nükleasyonunu sağlamak için gerekli çekirdek kristaller bulunmadığından, uygulanabilirliğini yitirmektedir (Liu ve diğerleri, 2011).

Bu problemin üstesinden gelmek için biyomimetik remineralizasyon, demineralize dentin kollejeninin sıvı-benzeri amorf kalsiyum fosfat nanoprekürsörleriyle doyurulmasını amaçlayan farklı bir yaklaşımı ifade etmektedir (Tay ve Pashley, 2008).

Kalsiyum silikat esaslı materyaller, dentinin biyomimetik remineralizasyonu alanında, üstün biyouyumluluk özellikleri ve kanıtlanmış biyoaktif ve biyointeraktif özellikleri nedeni ile oldukça fazla ilgi çekmektedir. Kalsiyum silikat simanlar, nem toleransı olan ve vücut sıvılarında polimerize olabilen, sertleşebilen hidrofilik materyallerdir (Prati ve Gandolfi, 2015). Ayrıca apatit oluşumu için, çevre dokulara kalsiyum ve hidroksil iyonları salarak uygun ortamı oluşturan materyallerdir (Gandolfi ve diğerleri, 2011c). Bu materyallerin osteoblast, fibroblast, sementoblast, odontoblast, pulpa hücreleri ve pek çok kök hücrenin farklılaşmasını hızlandırdığı da kanıtlanmıştır (Chung, Kim, Song, Park, Shin, 2016). Biyolojik sıvılar içerisinde bekletildiklerinde, kalsiyumfosfat/apatit tabakası oluşumunu başlatabilmektedirler. Diğer bir deyişle, bu materyaller yüzeylerinde çekirdek apatit ve/veya bunların öncülerini barındırmaktadır ve bu durum hücre farklılaşmasının, osteogenez, sementogenez ve doku yenilenmesinin desteklenmesi ve uyarılması anlamında pozitif bir rol üstlenmektedir (Gandolfi ve diğerleri, 2011c).

Bu simanların silisyum içeriklerinin yüksek olması, hücre tutunumu, çoğalması ve farklılaşmasını da arttırmaktadır. Ayrıca kalsiyum hidroksit gibi kalsiyum silikat materyaller de alkali olmalarından ötürü 15 ila 30 gün süresince antibakteriyel/bakteriyostatik aktiviteye sahiptirler (Gandolfi ve diğerleri, 2015).

Mineral trioksit agregat (MTA) diş hekimliğinde kullanılan ilk kalsiyum silikat esaslı materyaldir. Günümüze kadar MTA ile pek çok araştırma yapılmış ve etkilenmiş dentini remineralize edebildiği kanıtlanmıştır. Uzun sertleşme süresi ve manipulasyon güçlüğü bu materyalin yaygın kullanımının önünde bir engeldir ve bu dezavantajları ortadan kaldırmak için yeni formülasyonlar önerilmektedir (Gandolfi ve diğerleri, 2013b).

Biodentine, Theracal, EndoCem MTA ve Retro MTA, orijinal MTA formülasyonunun biyolojik ve fiziksel özelliklerini geliştirmek amacıyla küçük değişiklikler içeren ve MTA ile eşdeğer elemental yapıya sahip oldukları bildirilmiş olan materyallerdir. Ancak literatürde bu materyallerin remineralizasyon etkinlikleriyle ilgili yeterli bilgi mevcut değildir. Bu çalışmada, Biodentine, Theracal, EndoCem MTA ve Retro MTA kullanılarak, trikalsiyum silikat esaslı materyallerin demineralize dentini remineralize etme etkinliklerinin, in vitro bir model üzerinde değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada dentin remineralizasyonunun değerlendirilmesinde mikrosertlik ölçümleri için Vickers sertlik ölçüm cihazından, Ca^{+2} salım miktarlarının belirlenmesi için Atomik Absorbsiyon Spektroskopisinden, bekletme solüsyonunun pH'sının ölçülmesi için pH metreden ve yüzey özellikleri ve elemental analiz için SEM ve SEM-EDX analizlerinden faydalanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dentinin Yapısı ve Bileşenleri

Dentin dişin büyük bir kısmını oluşturan mineralize bir yapıdır. Kronda yüksek oranda mineralize mine dokusu ve kökte ise sement dokusuyla çevrelenmiştir. Dentinin iç kısmında, genellikle mineralize olmayan pulpa dokusu yer almaktadır. Bu yumuşak bağ dokusu, çevre dokular, periodontal ligaman ve kemik soketiyle bağlantılı sinir ağı içermektedir (Nanci, 2012:165).

Dentin ağırlıkça %70, hacimce %40-45 mineral, ağırlıkça %20, hacimce %30 organik matriks ve ağırlıkça %10, hacimce %20-25 su içermektedir.

Fiziksel olarak dentin, dişin fonksiyonu için önemli olan elastisiteye sahiptir. Dentinin bu elastisitesi, üstteki kırılğan mine dokusuna esneklik sağlar ve kırılmasını engeller.

Dentin, mine dokusuna göre daha yumuşak ve kemik dokusundan daha sert bir dokudur. Mine dokusunun daha kalın olduğu ve dişin daha beyaz görüldüğü vakalar dışında, ışık mine dokusundan geçip alttaki dentin dokusuna ulaştığından, dentinin diş rengini belirleyen doku olduğu bildirilmiştir (Nanci, 2012:165).

Dentin, pulpa-dentin kompleksinin sert doku kısmı olarak adlandırılmaktadır. Dentin dokusu karakteristik olarak tüm kalınlık boyunca uzanan çok sayıda yakın yerleşimli ve dentin dokusunun oluşumu sırasında görev alan ve daha sonra burada kalan odontoblastların stoplazmik uzantılarını içeren, dentin tübülleri ile karakterize kemik dokusuna benzer bir matrikse sahiptir (Nanci, 2012:165).

Dentinin mineralizasyonu, oluşacak olan dentin tipine bağlı olarak değişen karmaşık bir süreçtir. Dentin oluşumu diş gelişimi sırasında çan safhasında başlamakta ve tüm yaşam boyunca devam etmektedir. Dentin oluşumunu sağlayan hücreler, ileride tüberküllerin oluşacağı bölgelerde bulunan katlanmış iç mine epitelinin yanında bulunan ektomezenşimal papiller doku kaynaklı odontoblastlardır. Diş gelişimi sırasında epitelyal-mezenşimal etkileşimler ektomezenşimal pulpa hücrelerinin odontoblastlara farklılaşmasına neden olur. İç mine epitelindeki hücrelerden salınan

sinyal molekülleri ve büyüme faktörleri dental papilladan odontoblastların farklılaşmasına neden olmaktadır. Başlangıçta, iç mine epiteli ve henüz farklılaşmamış odontoblastlar arasında az sayıda kollejen lifleri içeren, hücresiz bir alan bulunmaktadır. İç mine epitelindeki hücreler polarize olmaya başladıklarında, papiller hücreler ilerleyen süreçte daha da farklılaşarak tam bir polarizasyona sahip ve sitoplazmalarını kaplayan, protein sentezi yapan organelleriyle genişlemiş odontoblastlara dönüşecek olan preodontoblastlara farklılaşmaya başlar. Odontoblastlar genişlemeye devam ettikçe, iç mine epiteli ve dental papilla arasında bulunan hücresiz alanı doldurmaya başlarlar ve hücre çekirdekleri iç mine epitelinden uzaklaşacak şekilde yüksek düzeyde polarize hale gelirler (Nanci, 2012:170).

Odontoblastların iki ayrı bölümü bulunmaktadır: hücre gövdesi ve hücre gövdesi mineralizasyon ön yüzünün sınırında mineralize dokunun dışında kalacak şekilde oluşmuş, dentin lümenini kaplayan odontoblast uzantısı. Odontoblastlar terminal olarak polarize olduğunda, ortodentin oluştururlar. Hücre gövdeleri pulpanın periferindeki predentin/dentin tabakasının dışında ve hücre uzantıları dentin tübülleri içerisinden predentinini geçerek mine-dentin birleşimine doğru uzanacak şekilde yerleşirler (Nanci, 2012:170).

Tübüller, ortodentinin karakteristik özelliğidir. Tübül çapları 2 ila 4 μm arasındadır. Dentin tübüllerinin sayısı ise mm^2 'de 18,000 ila 21,000 olacak şekildedir (Schilke, Lisson, Bauss ve Geurtsen, 2000). Tübüller pulpaya yakın 1/3'lük kısımda, dış 1/3'lük kısma göre sayıca daha fazladır (Goldberg, Kulkarni, Young, & Boskey, 2011).

Odontoblastlar, dentinin yüksek oranda mineralize hücre dışı makriksini oluşturacak özel gen ürünleri salgırlar. Hidroksiapatit, dentinin ana inorganik yapısını oluştururken, organik yapının büyük bölümünü Tip I kollajen oluşturmaktadır (Nanci, 2012:167)

Tip I kollajen, liflerin boşluk ve deliklerinde büyük miktarlarda mineral barındıran (tahminen %56) bir iskelet görevi görür (Nanci, 2012:167).

2.2. Dentinin Histolojik Yapısı

Histolojik olarak, dentin, kendisini diğer sert dokulardan ayıran bazı yapısal özelliklere sahiptir. Bu özellikler; dentin tübülleri, peritübüler ve intertübüler dentin, interglobüler dentin denilen eksik kalsifikasyon alanları, inkremental büyüme çizgileri, yalnızca kökte görülen Tomes granüler tabakası olarak sayılabilir (Goldberg ve diğerleri, 2011)

2.2.1. Dentin tübülleri

Dentinin en belirgin özelliğidir. Mine-dentin birleşiminden mineralizasyon ön yüzüne kadar tüm dentin kalınlığını geçerek, kemik dokusunun kanaliküllerine benzer şekilde besinlerin dentine geçişinde büyük öneme sahip bir ağ oluştururlar. Hücreler pulpaya doğru iç yönde ilerlediklerinde arkada kalan odontoblast uzantıları dentin tübüllerinin içini doldurur. Koronal dentinde tübüller, dentinin dış yüzeyinden pulpaya doğru S şeklinde bir konfigürasyon gösterir. Bu S şekli dentinogenez sırasında pulpaya doğru ilerleyen odontoblastların sıkışmasına bağlıdır. S'nin kurvatürü insizal kenar ve tüberkül altında çok düşüktür (Nanci, 2012: 176) (Goldberg ve diğerleri, 2011).

Kök dentininin dentinogenezi sırasında, daha geniş alan varlığı nedeniyle pulpaya doğru ilerledikçe odontoblastlarda sıkışma olmadığından, tübüller düz bir yol izler (Nanci, 2012:176).

Dentin tübülleri pulpa tarafında daha geniş olmak üzere, mine-dentin birleşimine doğru daralan yapıdadır. Genç premolar ve molar dişlerin koronal bölgelerinde pulpal yüzeyde tübül sayılarının milimetre karede 59,000 ila 76,000 arasında olduğu, mineye yaklaştıkça bu sayının yarıya düştüğü tahmin edilmektedir. Bu sayısal fark pulpa tarafındaki alanın azalmasına bağlı olarak odontoblastların yoğunlaşmasından kaynaklanmaktadır. Servikal dentinle kıyaslandığında, kök dentinindeki tübül yoğunluğu da belirgin oranda azalmaktadır (Nanci, 2012: 177).

Dentin tübülleri ciddi şekilde dallanarak ölçülemeyecek kadar çok anastomoz yapan kanaliküler sistem meydana getirirler. Bu dallanmalar kök dentininde daha belirgindir.

Dentinin t b ler yapısı,   r k s recinin etkilerini ve dental i lemlere pulpa cevabını arttıracak  ekilde ge irgenli in artı ına yol a ar.   r k lezyonlarında t b ller bakteri ile dolar ve histolojik kesitlerde koyu boyanmış olarak g zlenirler. Bu t b llerdeki odontoblast uzantıları bozularak t b l i erisinin bo almasına neden olur ve bu alanlar  l  alanlar olarak adlandırılır. Reperatif dentin bu  l  alanları kapatarak pulpayı enfeksiyondan korur. Bu alanlar,  zellikle pulpa boynuzlarında odontoblast h crelerinin sıkı ması nedeniyle meydana gelen h cre  l mleri sonucunda g r lebilir. A ındırılmış kesitlerin ı ık altında incelenmesinde bo  t b ller, i erisinde hava oldu undan siyah olarak g zlenmektedir (Nanci, 2012: 178).

2.2.2. Perit b ler dentin

T b ller, mineralizasyon  n y z nden ba layan, perit b ler dentin olarak adlandırılan y ksek oranda kalsifiye bir  ember ile  evrelenmiştir. Perit b ler dentin intert b ler dentine kıyasla y ksek oranda kalsifiedir. Ayrıca perit b ler dentin az miktarda kollajen ve y ksek miktarda DSP ve DMP-1 gibi kollajen olmayan matriks proteinleri i ermektedir (Nanci, 2012:178) (Goldberg ve di erleri, 2011).

2.2.3. İntert b ler dentin

Dentin t b lleri arasında yer alan dentine, intert b ler dentin denmektedir. İntert b ler dentin apatit kristallerinin depolandı ı, 50-200 nm  apta, Tip I kollajen liflerinin sıkıca i  i e ge mesinden olu muş bir a dan olu maktadır. Lifler, dentin t b llerine kabaca dik a ıda olacak  ekilde rastgele d zenlenmiştir. Temel yapı kalsifiye dokulara uygun kollajen olmayan proteinler ve bazı plazma proteinlerinden olu ur (Nanci, 2012: 182).

İntert b ler ve perit b ler dentinin yapı ve bile enler y n nden farklılıkları tanımlanmıştır. Tip I kollajen, intert b ler dentinin ba lıca proteini (%90) olmasına kar ın, perit b ler dentinde kollajen lifleri g zlenmez. Her iki dentinin kollajen olmayan protein i eriklerinde de farklılıklar oldu u bildirilmiştir (Goldberg, Molon Noblot ve Septier, 1980; Gotliv ve Veis, 2007). Bu a ılardan, intert b ler ve perit b ler dentinde kristal yapısına ait bazı  zellikler tespit edilmiştir (Goldberg ve di erleri 2011).

İntertübüler dentinde, 2-5 nm kalınlığında ve 60 nm uzunluğunda plaka şeklinde düz kristalitler bulunmaktadır. Düşük büyütmelerde, intertübüler dentin kristalitleri iğ benzeri yapılar olarak gözlemlenmektedir. Bu kristalitler kollajen liflerinin yüzeylerinde ve kollajen liflerinin akslarına paralel olarak yerleşmişlerdir. Bunlar lifler arası boşlukları rastgele doldurmaktadırlar (Goldberg ve Boskey, 1996).

İntertübüler dentinin demineralizasyonu, kollajen olmayan proteinlerle kaplanmış sıkı bir kollajen lif ağı ortaya çıkarmaktadır.

Peritübüler dentinde çapı yaklaşık 25 nm olan izodiametrik yapılar bildirilmiştir (Goldberg ve diğerleri, 1980; Lester ve Boyde, 1968). Yüksek çözünürlükte kristaller $a=36$ nm, $b=25$ nm ve $c=9,75$ nm boyutlarında olmak üzere üç boyutludurlar (Schroeder ve Frank, 1985). Tübüllerin lümenleri etrafında bir halka oluştururlar. Hafif demineralizasyon sonrasında herhangi bir kollajen lifi gözlenmezken, kollajen olmayan protein ve fosfolipitlerden oluşmuş ince bir ağ gözlenir (Goldberg ve diğerleri, 1980; Gotliv ve Veis, 2007; Goldberg ve Boskey, 1996).

İntertübüler dentin ve peritübüler dentin mineralizasyon şekilleriyle de birbirlerinden farklıdırlar. İntertübüler dentin, yeni salınan predentinin sürekli olarak dentine dönüşmesi sonucunda oluşur. Predentin kalınlığı değişebilmekte (10-50 nm) ve pulpaya yakın iç kısmı sınırlamaktadır. Metadentin, predentin ve dentin arasında kalan bölgedir (Goldberg ve Septier, 1996). Predentinin dentine dönüşmesi, odontoblastların hücre gövdelerinde sentezlenen ve odontoblastik uzantı tarafından salınan ürünlerin yardımıyla gerçekleşmektedir. Öncelikle Tip I kollajenle birlikte proteoglikanları (dekorin, biglikan, humikan, fibromodülin) da kapsayan hücre dışı matriks molekülleri predentin içerisine salgılanır ve bunlar kollajen fibrilasyonuna katılır (Goldberg ve diğerleri, 2005; Goldberg, Septier, Oldberg, Young ve Ameye, 2006). Diğer hücre dışı matriks molekülleri mineralizasyon ön yüzü ve hatta tübül lümeni gibi daha uzak bölgelerde salgılanır.

Bazı kollajen olmayan proteinler, mineral fazının çekirdeklenmesi ve büyümesi veya inhibisyonunda rol alabilirler. Pek çok fosforile protein metadentinde mineralizasyon ön yüzünde salgılanmaktadır. Oluşan kollajen liflerinin çapı mineralizasyon süreci ilerledikçe farklılık gösterir. Hücre gövdesine yakın proksimal predentinde 20 nm

iken, merkezde ortalama ap 40 nm'ye ulařmakta, distal blm ve mineralizasyon n yznde lif apı 55 ile 75 nm arasında deęiřmektedir (Goldberg, Septier ve Escaig-Haye,1987).

İntertbler dentin oluřumu  ayrı tabaka gsteren matriks baęımlı mineralizasyona bir rnektir. Anatomik olarak  ayrı tabaka bulunmaktadır:

- 1- Hcresel tabaka: Odontoblast gvdeleri ve pulpanın periferinde bulunan Hehl hcreleri (Hehl,1896)
- 2- 15-20 nm kalınlıęında olgunlařmamıř predentin tabakası ve
- 3- Mineralizasyon n yznden bařlayıp, mine-dentin birleřimine kadar devam eden mineralize dentin.

Peritbler dentin intertbler dentindeki gibi predentinin dentine dnřmnden kaynaklanmaz. Dentin tblleri ierisindeki odontoblast uzantılarından salgılanan veya dentin lenfinden kaynaklanan amorf matriksin adsorbsiyonu sonucu oluřur. Proteoglikanlar, yaęlar ve dięer hcre dıřı matriks proteinleri yoęun hipermineralize peritbler dentini oluřturacak olan ince amorf aęın oluřumunda rol alırlar (Goldberg ve dięerleri, 2011).

2.2.4 İnterglobler dentin

Homojen bir yapı oluřturmak zere birleřemeyen, mineralize olmamıř ya da hipomineralize dentini tanımlamak iin kullanılan bir terimdir. Bu alanlar zellikle dentin oluřumu sırasında D vitamini eksiklięi ya da yksek oranda flora maruz kalan kiřilerin diřlerinde grlmektedir. İnterglobler dentin, en sık olarak manto dentininin hemen altında yer alan pulpa etrafındaki dentinde izlenir ve mineralizasyon grnts byk oranda globlerdir. Bu dentin bozukluęu, matriks oluřumuna deęil, mineralizasyondaki bir bozukluęa baęlı olduęundan, tbllerin mimari yapısında herhangi bir deęiřiklik gzlenmez ve tbller interglobler alanlarda kesintiye uęramadan devam ederler. Ancak mineralize olmamıř alanlardan geerken, peritbler dentin izlenmez (Nanci, 2012: 182).

2.2.5. İnkremental gelişim çizgileri

Primer dentinin organik matriksi günde yaklaşık 4 µm olmak üzere salınmaktadır. Her bir günlük artış arasındaki sınırdaki kollajen liflerin oriyantasyonunda küçük değişiklikler meydana gelmektedir ve bunlar özel boyama teknikleriyle gözlemlenebilir. Bu inkremental büyüme çizgileri dentin tübüllerine dik olarak gözlenir ve dentin oluşumunun iç yöndeki ritmik, doğrusal birikimini gösterir. Geleneksel ve aşındırılmış kesitlerde birbirlerinden yaklaşık 20 µm uzaklıkta olacak şekilde 5 günlük birikim von Ebner inkremental çizgileri olarak izlenmektedir. Globüler mineralizasyonun ayrıntılı incelenmesi her 12 saatte 2 µm organik matriks salgılandığını göstermektedir. Bu da günlük olarak ritmik 4 µm organik matriks salgılandığını ve 12 saatlik döngülerde bunun mineralize olduğunu göstermektedir. Sekonder dentin depozisyonu daha yavaştır ve simetrik değildir. Dentinde bulunan bir diğer inkremental görüntü Owen'in kontur çizgileridir. Bu terim bazı yanlış çağrışımlara sebep olmaktadır. Owen tarafından tarif edildiği gibi, kontur çizgileri komşu dentin tübüllerinin ikincil kurvatürlerinin çakışmasından kaynaklanmaktadır. Ancak günümüzde aynı görüntüye sahip olan, fakat mineralizasyondaki düzensizliklere bağlı olarak gelişen çizgiler Owen'in kontur çizgileri olarak adlandırılmaktadır. Bunlar aşındırılmış, uzunlamasına kesitlerde kolaylıkla ayırt edilebilirler. İstisnai genişlikteki kontur çizgisi, neonatal çizgidir ve bu çizgi mineralize olmakta olan dişin doğum sırasındaki fizyolojik travmaya bağlı olarak mineralizasyonundaki değişikliği göstermektedir. Hastalık dönemleri ve yetersiz beslenme de yine dentin içerisindeki kontur çizgileriyle kendisini göstermektedir (Nanci, 2012: 183).

2.2.6. Tomes granüler tabakası

Kök dentininin aşındırılmış kesitleri ışık altında incelendiğinde, kökün sement ile kaplı olan bölümlerinde dentin yüzeyinin hemen altında Tomes granüler tabakası gözlenmektedir. Mine-sement birleşiminden dişin apeksine doğru gidildikçe granülitede bir artış gözlenmektedir. Bu yapılar hakkında birkaç yorum yapılmıştır. Bu tanecikli görüntünün, interglobüler dentine ait olan küçük hipomineralize alanlar olduğu düşünülmüş ancak bu görüntüler hemotoksilen-eozin boyamaları veya elektron mikroskop görüntülerinde izlenmemiştir. Son olarak, yalnızca kök dentininde bulunan dentin tübüllerinin terminal kısımları olduğu ve bu nedenle

yalnızca aşındırılmış kalın kesitlerde ışık kırılmasıyla gözlemlenebildiği ileri sürülmüştür. Bu konudaki en yeni yorum, bu tabakanın sement-dentin arayüzünde, kollajen ve kollajen olmayan matriks proteinlerinin özel bir düzenlemesiyle ilgili olabileceği hakkındadır (Nanci, 2012: 183).

2.2.7. Primer ve sekonder dentin

Başlangıçta odontoblastlar, sürekli olarak 10 µm kalınlığında tabaka oluşturacak matriks molekülleri üretirler. Daha sonra bu miktar günlük 4 µm'ye düşmektedir. Primer ve sekonder dentin arasında çok büyük farklar bulunmamaktadır. Aralarındaki en büyük fark, geri çekilmekte olan pulpanın periferinde yer alan odontoblastların alanlarının kademeli olarak daralmasına bağlı, tübüllerde gözlemlenen S şeklindeki kıvrımların daha belirgin hale gelmesinden kaynaklanan morfolojik farklılıktır (Goldberg ve diğerleri, 2011).

Sekonder dentin daha az düzenli olmasına rağmen, primer dentin ile devamlılık taşıyan tübüler bir yapıya sahiptir. Minerallerin organik matrikse oranı primer dentin ile aynıdır. Özellikle molar dişlerde pulpa odasının periferinde sekonder dentin eşit şekilde birikmez. Pulpa odasının tabanına ve tavanına sekonder dentinin daha fazla birikmesi, pulpa odasının boyut ve şeklinde asimetrik bir azalmaya neden olur. Pulpa hacmindeki bu değişiklikler histolojik kesitlerde ve radyograflarda gözlenebilir ve belli restoratif işlemler için kavite formunun belirlenmesinde önem taşımaktadır. Sekonder dentin sklerozunun, yani tübüllerin kalsifiye materyal ile tıkanmasının, primer dentine göre daha kolay olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Bu süreç dentinin geçirgenliğini azaltarak pulpayı korumaktadır (Nanci, 2012: 168).

2.2.8. Sklerotik dentin

Sklerotik dentin kalsifiye materyal ile tıkanmış dentin tübüllerini tanımlamaktadır. Bu durum aynı bölgedeki pek çok tübülde gözlemlendiğinde, dentin camsı bir görünüm alarak translüsent hale gelir. Sklerotik dentinin miktarı yaşla birlikte artar ve en sık kökün apikal üçlüsünde ve kronun mine-dentin birleşimi ile pulpa tabanı arasındaki orta bölgede görülür. 18 yaşındaki bireylerde dentin tübüllerinin mineral ile tıkanması premolarların kök dentininde dış bir uyaran olmadan başlar ki bu da sklerotik dentinin fizyolojik bir cevap olduğu ve tıkanmanın peritübüler dentin

birikimine bağı olabileceğı yorumlarını getirmektedir. Ancak t b llerin tıkanması dentin oluřumu olmadan t b l i erisinde mineral birikmesi, canlı bir odontoblast uzantısı mevcut iken meydana gelen diff z mineralizasyon ve odontoblast uzantısının kendisinin ve intert b ler kollajenleri de kapsayan t b ler i eriğın mineralizasyonu gibi pek  ok farklı yolla da meydana gelebilmektedir. Skleroz, dentin ge irgenliğini azalttığından pulpa canlılığının devam ettirilmesine yardımcı olabilir (Nanci, 2012: 180).

2.2.9. Tersiyer dentin

Tersiyer dentin   r k, abrazyon, atrizyon, restoratif dental iřlemler veya devam etmekte olan normal dentinogenezi etkileyebilecek diğ r fakt rlere reaksiyon olarak normal dentinogenezin kesilmesi olarak yorumlanabilecek kalsio-travmatik bir  izginin altında yer alır. Tersiyer dentin ayrıca, dolgu materyallerinden salınan bazı bileřenlere, serbest monomerlere, civa i eren g m ř amalgama, kavite hazırlama iřlemlerine fizyopatolojik bir cevap olarak da oluřabilmektedir. Tersiyer dentin,   r k atağının hızı ve řiddetine, reaksiyonun ilerlemesine ve hastanın yařına bağı olarak t b ler veya at b ler ortodentin veya osteodentin tipinde bir tabaka olarak g r lebilir (Goldberg ve diğ rleri, 2011)

B t n pulpa-dentin sınırını oluřturan primer ve sekonder dentinden farklı olarak tersiyer dentin, uyaranlardan direkt olarak etkilenen h crelerce oluřturulur. Tersiyer dentin, sekonder dentindeki t b llerin devamı niteliğinde t b ller i erebileceğı gibi sayıca az ve d zensiz t b l i eren ya da hi  t b l i ermeyen yapıda olabilir. Tersiyer dentini oluřturan h creler, tersiyer dentinin y zeyinde ya da dentin i erisinde yer alır. Dentin i erisinde yer aldığı durumda buna osteodentin denmektedir. Tersiyer dentin reaksiyoner ya da reperatif dentin olarak ikiye ayrılmaktadır. Reparatif dentin var olan odontoblastlarca, reaksiyoner dentin ise yeni farklılařmış odontoblast benzeri h creler tarafından salgılanır (Nanci, 2012: 169).

Eğ r orijinal odontoblast h creleri hasara uğramış ve ciddi řekilde etkilenmişlerse altta bulunan preodontoblastların son b l nmesinden kaynaklanan, H ehl tabakasındaki latent eriřkin  nc  h creler reaksiyoner dentin oluřum s recini devam ettirir. Reaksiyoner dentin, mevcut osteoblastik aktivite sonucunda değıl, pulpadaki  nc  h crelerin bařkalařımlarıyla meydana geldiğinden, pulpa tařları

veya pulpanın diffüz mineralizasyonu gibi durumlarda görüldüğü üzere kemik benzeri tübulsüz mineralize yapıdadır ve reperatif dentin yapısından farklıdır (Goldberg ve diğerleri, 2011).

2.3. Dentinogenez

Dentin oluşumunun ilk işareti, 0,1 ila 0,2 μm çapında, geniş çaplı von Korf lifleri olarak adlandırılan kollajen liflerinin ortaya çıkmasıdır. Bu lifler başlangıçta fibronektin ile birlikte Tip III kollajen kaynaklıdır. Bu lifler odontoblastların derin kısımlarından başlayarak, iç mine epiteline doğru uzanır ve epitelin hemen altındaki düzensiz taban substansında yelpaze şeklinde yayılırlar. Ayrıca bu liflerin dental papiller hücrelerin mitozu sonucu oluşan ve preodontoblastların gelişimine yol açan subodontoblastlar tarafından salgılandığına inanılmaktadır. Subodontoblastlar, odontoblastlara dönüşebilmek için gerekli bütün özellikleri göstermelerine karşın, farklılaşmamış hücrelerdir. Odontoblastların boyutları büyüdükçe manto dentininin ayırıcı özelliği olan, mine-dentin bağlantısına paralel Tip I kollajen liflerini oluşturmaya başlarlar (Nanci, 2012: 170,171).

Dentin oluşumunun başlangıcında, üstteki tabakalardan tamamen farklı, oluşan minenin hemen yanında ayırıcı bir tabaka oluşmaya başlar. Periferdeki bu dış tabaka manto dentini olarak adlandırılır. Bu tabaka dişin koronal bölgesinin periferinde 15-30 μm kalınlığında, çok az sayıda ince ve kıvrımlı tübül içeren ya da esas olarak tübül içermeyen (atübüler) yapıdadır.

Kökte de benzer tabakalar gözlemlenir: 1- Tomes granüler tabaka, tam olarak birleşmemiş kalkosiferik yapılar ve sonuç olarak interglobüler boşluklar ve/veya 2- her biri 15-30 μm kalınlığında Hopewell-Smith tabakası (Goldberg ve diğerleri, 2011; Kagayama ve diğerleri, 1976).

Bu tabakanın mineralizasyonu, pulpayı çevreleyen dentinin mineralizasyonundan farklıdır. Burada odontoblastlar bazal membrana paralel sıralanmışlardır ve dentinin erken mineralizasyonuna en önemli katkıyı sağladığı düşünülen ayrılabilir matriks vezikülleri ile ayırıcı özellik gösterirler (Slavkin ve diğerleri, 1976).

Manto dentininin mineralizasyonu, Tip I kollajenlerin üzerinde uzanmalarından sonra odontoblastların uzama süreçlerinde tomurcuklanan matriks veziküllerince yürütülür. Uzama, Tomes liflerinin salgılanan matriksin tümüne ve mine-dentin bağlantısına doğru dentinin içerisine penetre olmasıyla sonuçlanır. Bazen bu uzantılar bazal laminaya nüfus etme eğilimindedir ve iç mine epiteline doğru yönelerek mine tuğları haline gelirler. Matriks vezikülleri denilen membrana bağlı veziküller, mineral çekirdeklerinin oluşmaya başladıkları yerdir. Bu veziküller bazal membrana yakın, yüzeyel olarak yerleşmişlerdir. Mineral tohumlarının çekirdeklenmesi, bu veziküllerin duvarları arasında bulunan fosfolipidlerin yardımıyla gerçekleşmektedir. Mineral kristalleri, tek bir kristalin büyümesiyle başlar, vezikülleri delene kadar hızla büyür ve mineral kümeleri diğer veziküllerden kaynaklanan diğer mineral kümeleriyle birleşerek mineralize bir tabaka oluşturur. Organik matriksin sentezlenmesi ve bunun mineralize olması arasında her zaman bir zaman aralığı bulunmaktadır. Bu zaman aralığı odontoblastlarla mineralize olmuş yüzey arasında, predentin denilen mineralize olmamış organik matriks tabakasıyla sonuçlanır. Odontoblastlar predentinin mineralizasyonunu düzenleyecek olan, kollajen olmayan matriks proteinlerini salgılamaya başlar. Bu koordine süreç, 15-20 nm kalınlığında, üzerine, pulpayı çevreleyen primer dentinin ekleneceği koronal manto dentiniyle sonuçlanır (Nanci, 2012: 170, 173; Goldberg ve diğerleri, 2011)

Kuronda, Vickers mikrosertlik değerlendirmeleriyle yapılan ölçümler manto dentininde dış 200 µm'lik kısımda, sertlikte kademeli bir artış olduğunu göstermektedir. Bu tabaka daha az mineralizedir ve buna bağlı olarak esnektir. Bu da mine çatlakları veya mine-dentin bağlantısından kopmalara neden olabilecek kuvvetleri dengeler. Dentin tübülleri sayıca azdır ya da hiç görülmez ve dentinin bu dış tabakalarında eğimli hale gelmiştir.

Boyama yöntemleri ya da dentin fosfoproteinlerine karşı gelişen antikorlar değerlendirildiğinde (Takagi ve Sasaki, 1986; Rahima, Tsay, Andujar ve Veis, 1988), pulpayı çevreleyen dentin dokusu boyanırken, manto dentininde boyanma gözlenmemiştir. Bu nedenle Takagi ve Sasaki (1986) bu tabakada fosforlanmış protein bulunmadığını bildirmişlerdir.

Ancak kimyasal analizler genellikle fosforile halde olmak üzere daha az fosforile ya da fosforile olmamış halde proteinlerin mevcut olduğunu göstermektedir (MacDougall, Slavkin ve Zeichner-David, 1992). Bu da, kollajen olmayan proteinlerin yapısının, manto dentini ve pulpayı çevreleyen dentin arasında farklılık gösterdiğini, dış tabakanın organik fosfor durumundan etkilenmediğini göstermektedir. Sonuç olarak kuronda, dış tabakalar dentinin diğer bölgelerine göre daha az mineralizedir. Bu durum mekanik açıdan oldukça önemli olan ve stres yaratan kuvvetlerin dağılmasını sağlayan elastik özelliklere sahip olmasını ve esnekliğini açıklamaktadır (Wang ve Weiner, 1997)

Dişin kökünde de yine elastik modülüs homojen değildir ve dış kısım aksiyel ve lateral kuvvetlere dayanabilecek bir çerçeve oluşturmaktadır (Wang ve Weiner, 1998). Yapısal açıdan bakıldığında manto dentininde pek çok vakada, dentin tübülleri görülmez ya da çok az sayıdadır. Bükülmüş ve dar tübüller, granüler Tomes tabakasında bulunan kalkosiferik yapılar tarafından saptırılırlar.

Odontoblastlar mineralizasyon sürecinin en önemli elemanıdır ve bu süreci kontrol ederler. Başlangıçta bu özelleşmiş hücreler membrana bağlı veziküllerin tomurcuklanmasıyla, iyi sentezlenmiş organik matriksin mineralizasyonunu başlatır ve sonra mineralizasyon sahasına minerallerin doğrudan teminini sağlar. Bu, salınan minerallerin organik matrikse adapte olmasını sağlayan protein salımıyla elde edilmektedir. Odontoblastlar arası bağlantılar tamamlanmadığından, minerallerin, mineralizasyon yüzeyine, geçirgen odontoblast hücre tabakasından diffüze olan doymuş doku sıvısı içerisindeki kalsiyum ve fosfat iyonlarının çökmesiyle geldiği düşünülmektedir. Bu önerme, bazal plazma membranında kalsiyum kanallarının bulunması ve bunlar bloke edildiğinde mineralizasyon sürecinin ciddi şekilde etkilenmesiyle çelişmektedir. Ayrıca hücrelerin uzak uçlarında alkalin fosfataz ve kalsiyum adenosintrifosfataz aktivitesi odontoblast hücrelerinin mineralizasyon yüzeyine iyon geçişi ve salgısında yer aldıklarını göstermektedir (Nanci, 2012: 173).

Dentin mineralizasyonunun paterni, mineralizasyon hızına bağlı olarak çizgisel ya da globüler olabilir. Globüler mineralizasyon ya da diğer adıyla kalkosiferik kalsifikasyon, kollajenin heterojen olarak tutulumuyla, matriksin farklı bölgelerinde

çoklu kristal birikimini içermektedir. Kristaller büyümeye devam ettikçe, globüler kütleler oluşur ve bunlar birleşip tek bir kalsifiye kütle oluşana kadar genişlemeye devam eder. Bu mineralizasyonun paterni, matriks veziküllerinin mineralizasyon odaklarını oluşturduğu ve bunların genişleyerek kümeler halinde vezikülleri terk ettiği ve diğer veziküllerden kaynaklı kümelerle birleştiği manto dentininde belirgindir (Nanci, 2012: 174).

Manto dentin tabakasının bitişiğinde, pulpayı çevreleyen dentin tabakası bulunmaktadır. Bu tabaka dentinin en büyük bölümünü oluşturur. Dentinogenezis süreci boyunca günde yaklaşık 4 µm kalınlaşarak başlangıçta pulpa dokusu tarafından doldurulan alanları kaplar.

Pulpayı çevreleyen dentinin en büyük kısmı intertübüler dentinden oluşmaktadır ve tübüllerin lümenleri çevresinde, peritübüler dentin bulunmaktadır (Goldberg ve diğerleri, 2011).

Pulpa çevresi ve primer dentinde dentin depozisyon hızına bağlı olarak mineralizasyon modeli çizgisel (doğrusal) ya da globüler olabilir. Dentin birikiminin daha hızlı olduğu durumlarda daha büyük globüller ile globüler yapı izlenir. Daha yavaş dentin oluşum hızında mineralizasyon yüzeyi daha düzgün görünmektedir ve doğrusal bir görüntü yaygındır (Nanci, 2012: 174) (Goldberg ve diğerleri, 2011).

Kök oluşumu tamamlandıktan sonra dentin birikimi daha düşük bir hızda devam eder. Sekonder dentin, primer dentini salgılayan aynı odontoblastlar tarafından primer dentinin devamı olarak salgılanır. Histolojik olarak sekonder dentin, primer dentinden ince bir sınır çizgisi, daha az organize dentin tübülleri ve boyama yöntemlerindeki küçük farklılıklarla ayırt edilebilir (Nanci, 2012: 174; Goldberg ve diğerleri, 2011).

2.4. Dentin Matriksinin Organik Bileşenleri

Dentinin hücre dışı matriks bileşenleri odontoblastik cDNA bilgilerine dayanılarak aşağıdaki gibi belirlenmiştir:

1. Kollajen: Tip I, III ve IV
2. Proteoglikanlar
3. SIBLING proteinleri (İntegrin bağlayan küçük ligandlar, N-bağlantılı proteinler)
4. Glutamik asit proteinleri (Osteokalsin, MGP, S100)
5. Pek çoğu olgun dentinde bulunmayan diğer bileşenler

Proteinazlar:

- Prokollajen peptidaz
- Katepsin D
- Matriks metalloproteinazlar

Diğer enzimler:

- Alkalen fosfataz
- Lizil oksidaz
- PC-1

Yağlar

Dentin matriksinin ana bileşeni kollajen olmasına karşın (yaklaşık %90), kollajen liflerinin üzerine mineral birikimini başlatan, kollajen olmayan makromoleküller, yani kollajen olmayan proteinlerdir.

Dentin matriksinin kollajen olmayan proteinleri, hücre tutunması ve kollajen fibrillogenesis gibi çeşitli fonksiyonlara sahiptir (Xu ve diğerleri, 1998; Keen ve diğerleri, 2000; Jadlowiec ve diğerleri, 2004). Dentin mineralizasyonu söz konusu olduğunda bu proteinler önemli roller üstlenmektedirler (Linde ve Goldberg, 1993; Veis, 1993; Qin, Baba ve Butler, 2004). Bunların önemi, bu kollajen olmayan proteinlerin hasarlı olması ya da genetik mutasyonları sonucunda hayvanlarda kemik ve dentin mineralizasyonunda meydana gelen dramatik fenotipik anomalilerle desteklenmektedir. (Xu ve diğerleri, 1998; Xiao ve diğerleri, 2001; Sreenath ve diğerleri, 2003).

2.4.1. Kollajen

Dentinde esas olarak Tip I kollajen bulunmaktadır ve organik matriksin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Tip I kollajen, iki $\alpha 1$ zinciri ve bir $\alpha 2$ zincirinin kendiliğinden birleşmesiyle oluşmaktadır. Bu zincirler üçlü helozon oluşturacak şekilde sarmalanmıştır (Van der Rest ve Garrone, 1991). Kollajen liflerin yaklaşık %3 kadarı Tip III ve/veya Tip V kollajenden oluşmaktadır.

Kollajen, odontoblastlar tarafından prekollajen olarak salgılanır. Predentinde peptidaz aktivitesi ile kollajene dönüşür ve burada kademeli olarak organize olur (Linde ve Goldberg, 1993). Tip I kollajen iki tanesi benzer yapıda olan üç α zincirinden oluşmuş bir biopolimerdir ve birleşimi $[\alpha 1(I)]_2\alpha 2$ olarak gösterilmektedir. Her bir zincir yaklaşık 1000 aminoasit kalıntısı içerir. Molekülün toplamının %95'ini oluşturan merkez kısmı, üçlü sarmal (heliks) yapısındadır. Sarmalda her bir α zinciri, her üç pozisyonda bir glisin içeren bir amino asit dizisine sahiptir. Bu, üçlü sarmal oluşumu için bir zorunluluktur. Geri kalan yapının yaklaşık dörtte biri prolin ve hidroksiprolin amino asitlerinden oluşmaktadır. Prolin hidroksilasyonunun büyük bölümü kollajen içerisinde gerçekleşmektedir.

Dentin dokusundaki kollajen molekülleri, liflerin çaplarının artışına katkıda bulunacak şekilde uç uca uzama ve lateral kümelenme yoluyla lifleri oluşturmak için uzunlamasına, çakışmayacak şekilde yerleşmişlerdir (Silver, Langley ve Trelstad, 2004). Bu yerleşim, elektron mikroskop incelemesinde çapraz çizgilenme görüntüsü meydana getiren, örtüşen moleküller (örtüşme alanları) ve boşluklar (delik bölgeleri) ile üç boyutlu değişken alanlar yaratır.

Mineralize olmuş dokularda gösterildiği üzere, mineral kristallerinin başlangıç oluşumları, kollajen liflerinin boşluk bölgelerinde meydana gelemektedir. Oluşan lifler, hemen ardından kollajen moleküllerinde meydana gelen kovalent çapraz bağlarla sabitlenir (Veis, 2003). Başlangıç mineralizasyon ve hemen arkasından gerçekleşen mineral kristal büyümesi için, kollajen şablon görevi görür.

2.4.2. Proteoglikanlar

Proteoglikanlar, bir protein çekirdeğine kovalent olarak bağlanmış birkaç karbonhidrat yan zinciri ve glikozaminoglikan içeren makromoleküllerdir. Yan zincirler, her biri bir üronik asit ve bir N-asetil hekzoamin içeren, temelde kondroitin dermaton veya kreatin sülfat tipinde tekrar eden disakkarit birimlerinden meydana gelir. Histokimyasal incelemeler, prostoglandin dağılımının mineralize dentinde çok heterojen olduğunu göstermektedir. Pulpayı çevreleyen dentine kıyasla, dentin tübülleri içerisinde ve manto dentinde glikozaminoglikan için yoğun bir reaksiyon gözlenmiştir (Embery, Hall, Waddington, Septier ve Goldberg, 2001). Dentinde bulunan bazı proteoglikanlar, kollajen fibrilasyonuna dahil olur (Keene ve diğerleri, 2000; Neame ve diğerleri, 2000). Proteoglikanların dentinogenezdeki olası fonksiyonlarından bir tanesi, predentin kollajenöz matriksinin organizasyonunun kontrol edilmesi olabilir. Dentindeki en önemli proteoglikan gruplarından olan küçük lösinden zengin proteoglikanlar (SLRP), dentinogenez ve osteogenezde çok önemli bir sitokin ailesi olan Transforming Growth Factor β (TGF β) için bağlayıcı görevi görerek diğer biyolojik aktiviteleri gerçekleştirir. Bunlar hem gelişim hem de mineralizasyon süreçleri ile ilgili olan hücre göçü ve kalsiyum bağlanması ile ilişkilidir (Hunter ve Szigety, 1992; Xu ve diğerleri, 1998). *In vitro* deneylerde gösterildiği üzere, bunlar ayrıca, hidroksiapatit oluşumu için inhibitör olarak da fonksiyon görebildiklerinden, biyomineralizasyonla direkt olarak ilişkili oldukları bildirilmiştir (Boskey, Boyan ve Schwartz, 1997). Goldberg ve diğerleri (2005) proteoglikanların, kollajen liflerinin predentinin proksimalinden distaline doğru geçişini/fibrilasyonunu sağlayan amorf bir jel oluşturdıklarını bildirmişlerdir. İkinci grup glukozaminoglukanlar, mineralizasyon cephesine yakın dentin içinde salgılanırlar. Bu proteoglikanlar stabildir, oluşan dentin yapısına katılır ve mineralizasyon ile ilişkili dentin bileşenleri haline gelir (Lormée, Septier, Lecolle, Baudoin ve Goldberg, 1996). Proteoglikanların dentin mineralizasyonundaki potansiyel rolleri, (Gafni, Septier ve Goldberg, 1999) biglikanların kristal çekirdeklenmesini başlatma potansiyellerini gösteren *in vitro* deneyler ve fareler üzerinde biglikan, dekorin ve fibromodilin ile yapılmış *in vivo* çalışmalar ile desteklenmektedir (Goldberg ve diğerleri, 2005; Goldberg ve diğerleri, 2006).

2.4.3. Küçük integrin bağlayan ligand, N-bağlantılı glikoproteinler (SIBLING proteinler)

Dentinde SIBLING ailesi dentin sialoprotein (DSP), dentin glikoprotein (DGP), ve dentin fosfoprotein (DPP) salgılandıktan hemen sonra ayrılan dentin sialofosfoproteinleri (DSPP) içermektedir. Bunlar ayrıca dentin matriks protein-1 (DMP-1), kemik sialoprotein (BSP), osteopontin (OPN) ve matriks ekstraselüler fosfolglikoproteini (MEPE) de içermektedir. Bu matriks grubu, sert dokulardaki biyomineralizasyonun düzenlenmesinde etkilidir (Fisher, Torchia, Fohr, Young ve Fedarko, 2001). Kromozom 4 q21'de lokalize gen ekspresyonu ile üretilirler. DSPP ve DMP-1 genlerinin mutasyonları, farklı formlarda dentinogenezis imperfekta ve dentin displazisine neden olurken, MEPE'deki mutasyon X-bağlantılı hipofosfatemi'ye sebep olur.

SIBLING ailesinin farklı üyeleri, aynı kromozomda bulunmaları, aynı hücre tutulum mediatörleri ve aynı sinyalleme motifine sahip olmaları ve bulundukları sert dokular gibi bazı ortak özelliklere sahiptirler. Hepsi, pek çoğunun fonksiyonunu belirlediği saptanmış olan fosforileasyon, ve glikolizasyon gibi benzer dönüşüm sonrası modifikasyonlara sahiptirler.

Osteopontin

Osteopontin 301 aminoasit uzunluğunda bir proteindir. Kemikte çok büyük miktarlarda görülürken aynı zamanda pek çok fonksiyona işaret eden, pek çok farklı doku ve hücrede saptanmıştır (Sodek K. L., Tupy, Sodek J. ve Grynpas, 2000). Osteopontinin etkin bir apatit inhibitörü ve apatit büyümesinden sorumlu olduğu *in vitro* çalışmalar ve OPN yetmezliği bulunan farelerin iskeletsel fenotip çalışmalarında gösterilmiştir (Hunter, Kyle ve Goldberg, 1994; Boskey ve diğerleri, 1993; Boskey, Paschalis, Binderman ve Doty, 2002; Boskey, Spevak, Paschalis, Doty, McKee, 2002). OPN fosforilasyonu serin kalıntıları üzerinde gerçekleşir. Fosfat gruplarının mineralizasyonda, OPN'nin inhibitör etkisi için kritik olduğu düşünülmektedir (Pampena ve diğerleri, 2004). OPN fosforile olmuş bir sialoproteindir ve poliaspartik asit dizisi ve hidroksiapatit bağlama aracısı Ser/Thr fosforilasyon alanlarıyla karakterizedir. Arjinin-glisin-aspartat (RGB) motifi hücre

tutulumu ve sinyalizasyonuna aracılık eder. OPN yalnızca yapısal bir protein değil aynı zamanda enflamatuar sürece katılan bir hücresel matriks molekülüdür (Sodek, Ganss ve McKee 2000). *In vitro* olarak izole edilmiş poliaspartat içeren OPN fosforilasyon durumuna bağlı olarak mineralizasyon inhibitörüdür. Rekombinant fosforile olmamış OPN ve kimyasal olarak defosforile olmuş OPN'nin hidroksiapatit oluşumu üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Yüksek oranda fosforile olmuş süt OPN'si hidroksiapatit oluşumunu teşvik eder. OPN fosforilasyonu, OPN ile başlatılan mineralizasyon sürecinin düzenlenmesinde önemli bir faktördür. (Gericke ve diğerleri, 2005)

Kemik Sialoproteini

Kemik sialoproteini dentinde kollajen olmayan proteinlerin tamamının %1'ni oluşturmaktadır (Ganss, Kim ve Sodek, 1999). Özel olarak mineralize dokularda bulunur ve kemikteki oranı dentine göre daha fazladır. Bazı bulgular, kemik sialoproteininin başlangıç apatit oluşumunda çekirdek oluşumunu sağladığını ve daha sonra da kristal büyüme yönünü düzenlediğini göstermektedir (Hunter ve diğerleri, 1994). Kemik sialoproteininin fosforilasyonunun etkisi bilinmemesine karşın, kemik sialoproteini üzerindeki serin ve tereonin artıkları kazein kinazlarca fosforlanmıştır (Chenu Ibaraki, Robey, Delmas ve Young, 1994). Kemik sialoproteinindeki fosfat grupları, kemik ve dentindeki apatit kristal büyümesini etkileyebilir (Hunter ve diğerleri, 1994). Kemik sialoproteini birçok poliglutamik asit bölümünün tekrarı ve hücre tutulumuna aracılık eden arjinin-glisin-aspartat (RGB) motifi ile karakterizedir. Hem fosforilasyonun derecesine, hem de mineral yüzeye bağlanan bölgeye bağlı çekirdeklenme kabiliyetiyle, *in vitro* olarak başlangıçta mineral kristal oluşumunu teşvik ettiği gösterilmiştir. Ser136'nın fosforilasyonu, hidroksiapatit kristalinin kemik sialoprotein aracılığı ile çekirdeklenmesi için kritiktir. Kemik sialoproteini, kollajen fibrilasyonunu yoğunlaştırır, kristal çekirdeklenmesini destekler ve hücrelerin hücre dışı matrikse tutunmasını tetikler ve teşvik eder. (Baht ve diğerleri, 2010)

Dentin Morfogenetik Protein-1

DMP-1 ve DSPP geninin protein ürünleri (dentin sialoprotein ve dentin fosfoprotein) dentin içerisinde en yoğun bulunan SIBLING üyeleridir. Çok benzer bir amino asit bileşimi gösterirler ve her ikisinin de salgılandıktan sonra hem N-terminal, hem de C-terminal fragmanları halinde işlenmesi gerekir. DMP-1, alışılmadık şekilde fazla asidik alana sahip 473 aminoasit uzunluğunda bir proteindir. Aspartik asit ve glutamik asit kalıntıları ve ayrıca potansiyel protein kinaz substratları olan 100'den fazla serin tortusunun fosforile edilmiş bölümü, bu proteini oldukça asidik hale getirmektedir. Her ne kadar henüz kanıtlanmış olmasa da DMP-1, üzerindeki sayısız fosfor grubunun kalsiyum (Ca^{+2}) ayırma işlevi olduğu ve DMP-1'in fonksiyonunun fosforilasyon durumuna bağlı olduğu bildirilmiştir (Narayanan ve diğerleri, 2001). DMP-1, odontoblastlarda yüksek oranlarda ve ayrıca mineyi oluşturan hücrelerin farklılaşma öncesi halleri olan pre-ameloblastlarda geçici olarak izole edilebilmektedir (Narayanan, Gajjeraman, Ramachandran, Hao ve George, 2006). Çok yüksek oranda DMP-1 transgenetik hücreler, normal hücrelere kıyasla daha büyük ve daha erken oluşmuş mineralize nodüller gösterirler. DMP-1 diğer moleküllerle etkileşime girer, DSPP gen transkripsiyonunu düzenler ve TGF β ile etkinliği azalır. Molekül, odontoblastlarda, dentin tübüllerinde ve ameloblastlarda bulunur. DMP-1 mineralizasyon ön yüzünde immun olarak belirlenebilir. Bu nedenle DMP-1 sinyalleme özellikleri yanında, dentinogenezde rol oynamaya adaydır (Goldberg ve diğerleri, 2011).

DMP-1, kalsiyum bağlama kapasitesi nedeniyle biyomineralizasyonun düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca, kollajen liflerine büyük afinitesi nedeniyle, güçlü şekilde bağlanır. Kalsiyum fosfat kristallerinin heterojen çekirdeklenmesini başlatma kapasitesine sahiptir ve kristal gelişimini düzenler. Tip I kollajen lifleri üzerinde immobilize edilmiş DMP-1, *in vitro* apatit birikimini kolaylaştırır. DMP-1 bulunmayan farelerde, predentinin matur dentine dönüşme hızı yavaşlamakta ve predentin alanı artmış olarak gözlenmektedir. Peritübüler yapı, kaba ve düzensiz bir yüzey oluşturacak şekilde, organizasyonu bozulmuş olarak izlenmektedir. Bu çalışmalar DMP-1'in doğrudan biyomineralizasyon ile ilişkili olduğunu ve yokluğunun dentin hipomineralizasyonuna neden olduğunu göstermektedir. DSPP ve blikan gibi diğer matriks proteinleri, DMP-1 eksikliğinden etkilenir. (Ye ve diğerleri, 2004).

Dentin sialofosfoproteini

Dentin sialofosfoprotein, salgılandıktan hemen sonra matriks metallo proteinaz (MMP) 2 ve 20 tarafından birbirleriyle bağıntılı moleküllere ayrılır: (McKnight, Simmer, Hart, P. S., Hart, T. C. ve Fisher 2008)

- 1- DPP veya fosforin. DSPP'nin C-terminal bölgesi (463-1253 amino asit)
- 2- DSP- DSPP'nin N-terminal bölgesi
- 3- DGP

DPP veya Fosforin

Dentinde en çok bulunan kollajen olmayan protein DDP'dir. DSP ise ikinci sıradadır ve oranları 18'e 1'dir. DPP, dentinde bulunan kollajen olmayan proteinlerin %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. DPP, kalsiyuma, hidroksiapatite ve kollajene bağlanarak lifler arasında mineralizasyonu tetikler (Cocking,1983). DPP, (Asp-Pse-Pse)_n ve (Asp-Pse)_n tekrarlayan dizilerinde büyük oranda aspartik asit (Asp) ve fosfoserin (Pse) içerir. DPP'nin dentin apatit kristal oluşumunun önemli bir başlatıcısı ve modülatörü olduğu gösterilmiştir. Salgılandıktan sonra büyük oranda bozulmaya maruz kalır. (Boskey, Maresca, Doty, Sabsay ve Veis, 1990; George ve diğerleri, 1996; Saito, Arsenault, Yamauchi, Kuboki ve Crenshaw, 1997)

DPP dizisinin yaklaşık %45 kadarı serin artıklarıdır ve bunların pek çoğu fosforile edilmiş haldedir. DPP'nin üç izoformundan en yüksek fosforile olmuş HP-DPP, DPP'lerde 209 fosfat/mol ile en baskın olanıdır. Yüksek asiditesi, yüksek aspartik asit içeriğiyle fosforinden zengin bir protein olmasına bağlanabilir.

DPP'nin öngörülen yapısı, polipeptit zincirlerinin karşı tarafında değişen karboksil ve fosfat gruplarını içeren uzun çıkıntılarla, kalsiyum ve fosfat kristallerinin bu kafes üzerinde büyümesine izin verecek bir yapıdır (Tartaux ve diğerleri, 2004). Fosfat gruplarının uzaklaştırılmasından sonra DPP'nin kollajen üzerinde apatit çekirdeklenmesini başlatma kapasitesini kaybettiği bildirilmiştir (Saito ve diğerleri, 1997).

DPP'nin dentin kollajen liflerinin oluşturduğu kafes içerisinde apatit oluşumunun başlatılmasında rol aldığını gösteren kanıtlar mevcuttur. DPP, Ca^{+2} ile güçlü şekilde ilişkilidir (Kuboki Fujisawa, Aoyama ve Sask, 1979). Ca^{+2} ile birleşerek çözünmeyen kümeler oluşturur, nisbeten yüksek afinitesi sayesinde yüksek oranda Ca^{+2} bağlar ve kalsiyum varlığında genişlemiş β -tabakaları oluşturur. (Marsh, 1989)

DPP'nin lokalizasyonu, mineralizasyondaki işlevini de göstermektedir. DPP, odontoblastlar tarafından salgılandıktan sonra, predentinde oluşmuş mineralize olmamış kollajeni geçerek nispeten hızlı bir şekilde mineralizasyon ön yüzüne ulaşır. (Weinstock ve Leblond, 1974)

Mineralizasyon ön yüzünde, sınırlı sayıda DPP molekülü, başlangıç apatit oluşumunun meydana geldiği bilinen, kollajenin boşluk bölgesine bağlanır (Boskey ve diğerleri, 1990; Addadi, Berman., Oldak, Weiner, 1989). Mineralizasyonun başlatılmasının teşvik edilmesine ek olarak DPP, kristal büyümesinin kontrol edilmesinde de rol oynar. Büyüyen kristallerin yüzeyine yüksek konsantrasyonda bağlandıklarında, fosforil ve aspartil grupları kristal kafesindeki kalsiyum iyonları ile etkileşime girerek, kristale ilave kalsiyum ve fostat iyonlarının eklenmesini engelleyerek, biyomineralizasyondaki rolünü çeşitlendirir.

DPP düşük konsantrasyonlarda kristal çekirdeklenmesine, yüksek konsantrasyonlarda ise kristal büyümesinin önlenmesine neden olur (Lussi, Crenshaw ve Linde, 1988; Saito, Yamauchi, Abiko, Matsuda ve Crenshaw, 2000). Fosforin, esas olarak fizyolojik olmayan geniş mineral kristallerinin yüzeyinde adsorbe edilir (Fujisawa ve Kuboki, 1991). Bu özel bağlanma, DPP'nin mineral kristallerinin boyutunu ve şeklini düzenleyebilmesi için bir yoldur. DPP veya fosforinin, intertübüler dentin mineralizasyonunda rol aldığı düşünülmektedir.

DSP

DSP, potansiyel Ser/Thr kazein kinaz substrat alanlarının yarısı olan 6,2 fosfat/mol ile orta derecede fosforiledir. DSP fosfat gruplarının, mineralizasyonda küçük bir rolü olduğu görülmektedir.

DSP genindeki mutasyonlar ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, insanlarda dentinogenezis imperfekta (Xiao ve diğerleri, 2001) ve DSP eksik farelerde (Sreenath ve diğerleri, 2003) defektif mineralizasyona yol açması, DSPP geninin dentinogenezdeki rolünü destekler niteliktedir.

DGP

DSPP'nin orta kısmı, 19kDa'ya göç eder. Domuz dentin ekstresinde bulunmuştur ve molekülün diğer türlerde bulunup bulunmadığı, sonuç olarak dentinogenez sürecinde herhangi bir rolü olup olmadığı tespit edilememiştir (Yamakoshi, 2005).

2.4.4. Glutamik asit içeren proteinler

Osteokalsin

Bu gruptaki en belirgin protein osteokalsin olup, kemiğin kollajen olmayan proteinlerinin %15'ini oluşturmaya karşın, dentin içerisinde göreceli olarak düşük seviyelerde bulunmaktadır. Osteokalsin, hücreler için osteoblastik fonksiyonun belirtecidir ve kemikte osteoklast toplanmasında rol alır.

Dentindeki osteokalsinin kendine has fonksiyonları bilinmemektedir. Osteokalsin eksikliği bulunan hayvanlarla (Boskey ve diğerleri, 1998) yapılan çalışmalar ve osteokalsin içermeyen kemik implantları çalışmaları (Glowacki ve Lian, 1987) osteokalsinin, osteoklastların toplanması ve kemik dokunun yeniden şekillenmesinde rol aldıklarını göstermektedir. Çalışmalar osteokalsinin glikoz metabolizmasında rol oynadığını göstermektedir (Goldberg ve diğerleri, 2011).

Matriks Hücre Dışı Fosfoglukoprotein (MEPE) (Osteoregulin)

MEPE bir RGD dizisi, bir glikozaminoglikan ek dizisi ve kalsiyum bağlayıcı bir motif içeren merkezi bir bölüme sahiptir. MEPE-eksik hayvanlarda hipermineralizasyon görüldüğünden, MEPE'nin mineralizasyon inhibitörü olduğu düşünülmektedir. Asidik, serin ve aspartat bakımından zengin MEPE ile ilişkili motif etkili bir mineralizasyon inhibitörüdür. MEPE'nin merkezi bölümü (Dentin), pulpa hücrelerinin odontoblast/osteoblast öncü hücrelerine farklılaşmalarının desteklenmesinde rol alır. (Goldberg ve diğerleri, 2011).

Osteonektin, SPARC

Asidik ve sisteinden zengin salgı proteini (SPARC) bir bazal membran proteinidir (BM-40) ve osteonektin olarak da bilinmektedir. Molekül üç alandan oluşmaktadır: asidik bir Ca^{+2} bağlanma alanı, folistatin benzeri bir alan ve hücre dışı kalsiyum bağlayıcı alan tanımlanmıştır (Chun ve diğerleri, 2006).

Osteonektin mRNA, dentindeki odontoblastları da içeren pek çok yumuşak ve sert dokuda *in situ* hibridizasyonla gözlenebilir (Holland, Harper, McVey ve Hogan, 1987). Ca^{+2} ve kollajen bağlayıcı bir protein olarak osteonektin, dolaylı olarak dentin mineralizasyonunda rol alabilir ancak bu henüz kanıtlanmamıştır.

2.4.5. Ca^{+2} bağlayan proteinler ve metallo-enzimler

Kalmodulin ve anneksin ailesinin bazı üyeleri de, oluşmakta olan dentinde ve odontoblastlarda bulunmaktadır (Goldberg ve diğerleri, 1991). Bu moleküllerin hep birlikte hücre dışı matrikse ve burada bulunan fosfoproteinlere doğru Ca^{+2} geçişine dahil oldukları bilinmekle birlikte, bu proteinlerin mekanizmadaki rolleri kanıtlanmamıştır.

Anneksin V'in matriks veziküllerinin çekirdeklenme kompleksinde yer aldığı ve bu nedenle mineralizasyonda doğrudan ya da dolaylı olarak bir rol oynayabileceği gösterilmiştir.

Odontoblastlarda (çekirdek, granüllü endoplazmik retikulum, mitokondri) ve hücre dışı matrikste bulunan ve bir Ca^{+2} bağlayıcı protein olan nükleobindin göz önünde bulundurularak diğer Ca^{+2} bağlayıcı proteinlerin dentinogenezde rol oynayabilecekleri düşünülmektedir. Ca^{+2} iyonlarının mineralizasyon ön yüzüne taşınması ve birikmesinde rol oynayabilirler (Somogyi, Petersson, Sugars, Hultenby ve Wendel, 2004).

Çinko ve magnezyum içeren bir enzim olan alkalen fosfataz gibi enzimler, kan serumundan elde edilen katyon bağlayıcı proteinler ve diğer moleküller, dentin ekstraktlarında izole edilmiştir.

Doku spesifik olmayan alkalin fosfataz (TNAP) aktivitesinin bazı hücre dışı matriks proteinlerinin defosforilasyonunda kritik öneme sahip olduğu görülmektedir. Bu enzim pirofosfatı hidrolize eder ve mineralizasyonu desteklemek için inorganik fosfat sağlar (Orimo, 2010).

Diğer enzimler de odontogenezde rol alırlar. MMP-2, MMP-9 ve MMP-3 inhibisyonunun, dolaylı etkileri gösterilmiştir (Fanchon diğerleri, 2004; Bourd-Boittin ve diğerleri, 2005). MMP-2 ve MMP-9, dentinde çoğunlukla mine-dentin bağlantı bölgesinde bulunmaktadırlar. MMP-3 ise predentinde bulunur ve proteoglikan düzenlenmesinde rol alır (Hall Septier, Embery ve Goldberg 1999).

Trombospondin-1

Odontoblastlarda ve ayrıca predentinde bulunan, aktivitesi Ca^{+2} 'a bağlı bir proteindir. Ancak bu moleküllerin dentinogenezdaki direkt rolleri aydınlığa kavuşmamıştır. (Calzada ve diğerleri, 2008; Ueno ve diğerleri, 1998)

2.4.6. Fosfolipidler ve proteolipidler

Malasit yeşili ve iyodoplatinat kullanılarak yağları boyamak ve bunların dağılımlarını elektron mikroskopla incelemek mümkündür (Goldberg ve Boskey, 1996; Goldberg ve Septier, 2002). Kimyasal (kloroform/metanol veya asetat) veya enzimatik yollarla (fosfolipaz C) uzaklaştırılabilen yağlar, predentinde interkollejenöz bölgelerde devamlı bir ağ oluşturacak şekilde bulunmaktadır. Dentinde iğ benzeri yapılar veya kristal hayaleti olarak adlandırılmış olan kristalitleri saran ince organik zarlar boyanmış olmasına karşın, mineralizasyon ön yüzünde boyanma gözlenmemiştir. Ayrıca, dentin içerisinde fosfolipid/malacit yeşili/aldehit komplekslerine ait geniş, amorf noktalar boyanmıştır.

2.4.7. Biyomineralizasyonda dentin fosfoproteinlerinin rolü

Yukarıda bahsedilen kollajen olmayan proteinler, pek çok mineralize dokuda muhtemelen farklı fonksiyonlara sahip olarak bulunmaktadır. Dentinde, biyomineralizasyonla en yakından ilgili olan matriks proteinlerinin fosforlanmış SIBLING proteinleri olduğuna inanılmaktadır. İlgili çalışmaların çoğunda bazı

türlerde dentin fosfoproteinine denk olabilecek ve bazı araştırmacılar tarafından DMP-2 olarak da adlandırılan fosforin kullanılmıştır.

Dentindeki fosfoproteinleri, bazıları daha önce tartışılmış olan pek çok mineralizasyon fonksiyonlarından birisine bağlayan çeşitli kanıtlar mevcuttur. Bunlar:

1- Fosfoproteinlerin sentezi ve lokasyonu: Çok sayıda çalışma odontoblastlarda fosfoproteinlerin ve kollajenin bağımsız olarak salındığını göstermektedir. Kollajen, predentin içine salgılanırken, fosfoprotein içeren veziküller odontoblastik uzantı boyunca yol alıp doğrudan mineralizasyon ön yüzüne salgılanır (Dimuzio ve Veis, 1978 a,b; Maier, Lechner ve Veis, 1983; Weinstock ve Leblond, 1973).

2- Fosfoproteinlerin kollajen ile ilişkisi: Mineralizasyon ön yüzünde, fosfoproteinler mineralize olan kollajen lifleri ile doğrudan bağlantılıdır. Fosforinin, özellikle lifin e-bandı olmak üzere, Tip I kollajen liflerine bağlandığı *in vitro* çalışmalar ile gösterilmiştir (Stetler-Stevenson ve Veis, 1986; Traub, Jodaikin, Arad, Veis, Sabsay, 1992). Bu bölge, kollajen lifleri boyunca mineral birikiminin olduğu alan olarak gösterilen kollajen boşluk bölgesinin ortasına yakın bir bölgedir (White, Hulmes, Miller ve Timmins, 1977).

3-Fosfoproteinlerin Ca^{+2} ile etkileşimi: Dentinde, kollajen yüzeyine salgılanan fosfoproteinlerin, boşluk bölgesinin etrafındaki kalsiyum iyonlarını ayırma ve mineral çekirdeklenmesine yardımcı olma gibi fonksiyonları olabilir. Ayrıca, Ca^{+2} iyonları ile birleştiklerinde β -plaka benzeri şekil değiştirmeleri nedeniyle, fosforinlerin mineral bileşenleriyle etkileşime girdiklerine dair kanıt mevcuttur. (Veis, 1993).

4. Kristal büyümesinin düzenlenmesi: Büyümekte olan kalsiyum sülfat, kalsiyum karbonat ve apatit kristallerinin yüzeyine asidik matriks moleküllerinin adsorbsiyonunun, etkileşime giren kristal düzlemindeki onaylanmış özel bir sterokimyasal motif ile kristal büyümesini düzenlediği bildirilmiştir (Moradian-Oldak, Frolow, Addadi ve Weiner, 1992). Diğer çalışmalar da doğal fosforinin hidroksiapatit veya bazı mineralizasyon sistemlerinde oluşan farklı bir mineral fazı

olan oktakalsiyum fosfatın spesifik yüzeylerine bağlandığını da göstermiştir (Addadi ve diğerleri, 1989).

Son zamanlarda yapılmış bir çalışmada (He ve diğerleri, 2005), fosfoproteinlerin tanımlanmış pek çok özelliği, özel olarak doğal fosforin ve rekombinant olarak E. Coli'de klonlanmış fare fosforininin, fosforile olmayan aktive bölgesi ile karşılaştırılmıştır. Doğal fosforinin tersine, rekombinant fosforile olmamış fosforin, kalsiyum bağlama, kalsiyum bağlama sonrası konformasyon değişikliği, çekirdeklenme deneylerinde amorf kalsiyum fosfatın apatite dönüşümüne aracılık etmek ve kollajen çökeltisi oluşturmak gibi fosforinin tanımlanmış temel özelliklerini göstermemiştir.

2.5. Dentinin Mineral Fazı

Olgunlaşmış dentinin mineral fazı, kuru ağırlığının büyük bir bölümünü oluşturur. Dentin minerali, kemik mineraline benzer yapıdadır ve doğal olarak oluşmuş hidroksiapatit mineralinin bir analogudur ve en küçük birimi $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ olarak gösterilmektedir (Glimcher, 1998). Hidroksiapatit kristalinin birim hücresi Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve OH^- iyonlarını içeren paralel yapılı şeklin en küçük yapı taşıdır. Kristaller hekzagonal sisteme dahildir. Birim hücreler, kristalin üç yönünde belirli olmayan bir tekrarlama ile daha büyük bir kristal üretir. Birim hücredeki büyük iyonlar OH^- grupları hücre birimin köşesinde ya da c eksen boyunca yer alacak ve PO_4^{-3} grupları birim hücrenin köşesinde olacak şekilde düzgünce düzenlenmiştir. Ca^{+2} iyonları c eksen boyunca yerleşmiş olan merkezi OH^- grupları etrafında sütunlar halinde ya da vida eksen Ca^{+2} 'u (call pozisyonu) olarak yer almaktadır. Kollajen liflerin içinde ya da arasındaki dentin kristallerinde bu yerleşimin olduğu, yüksek büyütmeli transmisyon elektron mikroskobu incelemeleriyle doğrulanmıştır. (Ichijo, Yamashita ve Terashima 1993).

Dentin minerali kemik mineraline benzer şekilde kalsiyum-eksik bir kristaldir ve kemik mineraline oranla biraz daha büyüktür. Kalsiyum eksikliği, kalsiyumun yerine sodyum veya magnezyum geçmesi şeklinde olabildiği gibi, kalsiyum iyonlarının yerine başka bir iyonun geçmediği, elektriksel nötralliğin HPO_4^{-2} grupları oluşturmak

üzere protonların ilavesiyle olduğu ve bu duruma kristal boşluklarının eşlik ettiği gerçek kalsiyum eksikliği şeklinde de olabilir.

Kemik ve dentinde kristaller farklı kafes bölgeleri ve kristal yüzeyinde hem HPO_4^{2-} hem de CO_3^{2-} içerirler. Bunlar zamanla değişim gösterebilirler. Kafeste karbonat iyonlarının tutunabileceği majör alanlar, OH^- alanları (Tip A karbonat apatit) ve PO_4^{3-} alanlarıdır (Tip B karbonat apatit). Apatit yapının tipi ve yer değiştiren atomlar farklı mineral dokular için değişiklik gösterir. Örneğin olgunlaşmış kemik ve dentinde, apatit kristali baskın olarak Tip B iken, minede kristallerin neredeyse tamamı Tip A'dır.

Kristalografik olarak c eksenine karşılık gelen, apatit kristalinin en uzun kısmı, kollajen lifinin uzun eksenine paraleldir. Kristaller 67 nm'de bir tekrar edecek şekilde lif boyunca düzenlenmiştir ve kollajen boşlukları ve örtüşme bölgelerine gelecek şekilde lokalize olmuşlardır. Plaka şeklindeki kristaller, ilgili kollajen boşluk alanları tarafından oluşturulan kanallar ve oluklar içerisinde yerleşmelerine rağmen bazen kristal alanı boşluk alanının boyutunu aşmaktadır. Kristallerin hücre dışı doku hacminde bulunan su ve iyonları uzaklaştırarak ve olasılıkla kollajen yapısını bozarak kısmi olarak büyüdüğü sonucuna varılmıştır. Buna ilave olarak, organik yapılar da büyüyen kristal yapısı tarafından kaplanabilir. (Arnold ve diğerleri, 1999; Fratzl, Fratzl-Zelman, Klaushofer, Vogl ve Koller, 1991).

2.6. Dentin Mineralizasyonu

Mineralizasyon organik matriks üzerine inorganik yapıların çökmesiyle oluşan ve hayat boyu devam eden bir süreçtir. Kemik, dentin ve sement gibi sert konnektif dokuların oluşumundaki normal biyolojik süreç, tek eksenli kalsiyum fosfat kristallerinin oldukça organize bir şekilde düzenlenmesi için, kollajen liflerinin bir iskelet oluşturmasını gerektirir (Neel, ve diğerleri, 2016).

Dentin mineralizasyonu Tip I kollajen liflerinden oluşan organik matrikste gerçekleşir ve kristal fazın, kollajen lif yapısına özel olarak yerleşmiş, münferit, yassı, amorf kalsiyum fosfat nanokristallerinin kümeleşmesinden meydana geldiği uzun yıllardır bilinmektedir. Hücreler, kristal morfolojisi, büyümesi, kompozisyonu ve yerleşimi ile ilgili mineralizasyon sürecini kontrol eder. Bununla birlikte hücre dışı matriks

molekülleri ve bir seri enzim, kemik, dentin ve minede kalsiyum ve fosfat iyonu gibi mineral tuzlarının girişı ve sabitlenmesini yönlendirir (Veis ve Dorvee, 2003).

Kollajen ve fosfoproteinlerin ayrı salgı granüllerinden salgılandığı gösterilmiştir. Bu nedenle apatit mineralizasyonunun lokalize edilmesi ve uyarılması için mineralizasyonun, kollajen ve fosfoproteinlerin doğrudan etkileşimleriyle olabileceği düşünülmektedir. Fosfoproteinler, ve dentindeki kollajen olmayan proteinler (SIBLING proteinler) ve bunların mineralizasyondaki rolleri çok yönlü olarak ele alınmıştır. Fosfoproteinleri de kapsayan SIBLING'lerin çok fonksiyonlu proteinler oldukları, mineralizasyona doğrudan katıldıkları gibi aynı zamanda sinyalizasyon özelliği de sergiledikleri açıktır (Veis ve Dorvee, 2013).

Bu kollajen olmayan proteinler mineral depozisyonunda önleyici, destekleyici ve/veya stabilizör olarak görev yaparlar. Örneğin glikoproteinler kollajen lifleri olgunlaşp doğru boyutlara ulaşana kadar mineralizasyonu önler. Asidik bir fosfoprotein olan dentin matriks protein-1 çekirdeklenmenin başaltılması ve mineral fazın morfolojisinin modülasyonunda önemli rol oynar (Martinez, da Silva, Furuse ve de Araújo, 2009).

Mineralizasyonla ilgili pek çok *in vitro* deney tek başına kollajen liflerinin bu organize mineralizasyonu sürdüremeyeceğini göstermiştir (Veis, 2003). Bununla birlikte iki yeni çalışma, kollajen liflerinin elektrostatik yapısının, kollajeni olası bir heterojen çekirdekleştirici (Silver ve Landis, 2011) haline getirdiğini ve *in vitro* koşulların ayarlanmasıyla kollajen olmayan makromoleküllere gerek olmadan kollajen liflerine amorf kalsiyum fosfat çökmesinin mümkün olduğunu göstermektedir (Wang ve diğerleri, 2012).

Dentinogenez sırasında genellikle 3 tip mineralizasyon görülür: manto dentininde matriks vezikülleri türevli mineralizasyon, dentinin büyük bölümünde hücre dışı matriks molekülü türevli mineralizasyon ve peritübüler dentinde kan-serum türevli mineralizasyon (Goldberg ve diğerleri, 2011). Odontoblastlar mineralizasyonun başlaması için ön şart olan kondroitin sülfat gibi asidik bir mukopolisakkarit salgırlar. Bu polisakkarit dentin matriksindeki mineralizasyon alanlarına taşınır;

kalsiyumu çeker ve minerallerin hücrelerden, hücre dışı matrikse taşınmasını sağlar (Bevelander ve Nakahara, 1966).

Mineralizasyon, başlangıçta kalsiyum ve fosfat fazları ile yüksek doygunluğa ulaşmış interstisiyel sıvıdan, klasik bir çökelme ile apatit kristallerinin büyümesi olarak bilinmekte iken, çalışmalar serumun, kollajen, elastin ve hücre debrisı gibi kalsifiye olabilen şablonlar varlığında kalsiyum fosfatın çökeldiği metastabil bir solüsyon olduğunu göstermiştir (Urry, 1974; Westenfeld ve diğerleri, 2009). Son zamanlarda kemik ve dişlerdeki apatit oluşumunun, solüsyondaki iyonların katılımıyla doğrudan meydana geldiği, mekanizması hala tartışmalı olmasına rağmen hidroksiapatit olmadan önce oktokalsiyum fosfata dönüşebilecek amorf kalsiyum fosfat prekürsör fazından kaynaklandığı gösterilmiştir (Neel ve diğerleri, 2016).

Kristalizasyon süreci birkaç farklı açıdan ele alınabilir:

- 1- Mineral fazındaki kristalleşme, mineral iyonlarıyla aşırı doymuş bir çözeltiden doğrudan gelişebilir,
- 2- *In vitro* olarak mineralizasyon sisteminde polimerik poliiyonların varlığı ve bunların mineralizasyon sürecini modüle etmek için nasıl serbest iyonlarla ve kalsiyum-fosfat iyon nanokümeleriyle etkileşime girdiği,
- 3- SIBLING proteinler ve bunların çekirdeklenme, kristal büyümesi, kristal morfolojisi ve boyut düzenlenmesini de içeren özel alanlardaki mineralizasyonun düzenlenmesi için, *in vivo* olarak nasıl iletilebilecekleri,
- 4- Ayrı tutulan veziküler kalsiyum ve fosfat nanokümeciklerinin hücre ya da mitokondriden direkt olarak mineralizasyon ön yüzüne iletilmesi (Veis ve Dorvee, 2013).

2.6.1. Kalsiyum fosfat aşırı doymun çözeltilerden kristalizasyon

Kalsiyum fosfat çözeltileri karmaşıktır ve mevcut iyon türleri pH'ya ve iyon kuvvetine bağlıdır. Klasik çekirdeklenme teorisine göre yapı taşlarını oluşturan iyonların aşırı doymun çözeltilerinden kristal oluşumu, etkileşime giren iyonların konsantrasyonlarında yerel dalgalanmalar gerektirir. Bu iyonların bazı kritik konsantrasyonlarında, iyonların yoğun kümeye ya da kristal yüzeyine ilavesiyle elde edilecek serbest enerji, iyonların bu kümelerden ayrılması ile oluşan yüzey serbest enerjisinden yüksek olacak şekilde, iyon kümelerinin stabilizasyonunu sağlar. Yani süreç, kristal ve çözelti fazlarının arasındaki serbest enerji farkıyla termodinamik olarak sürdürülür. Fakat yeni yüzey oluşumunun serbest enerjisini içeren kritik boyuttaki enerji oluşumu, enerji bariyer boyutu ile kinetik olarak kontrol edilir (Veis ve Dorvee, 2013).

Kristal çekirdeklenmesinin anlaşılmasında bir sonraki yorum, kristalleşmenin doğrudan süper doymun ana solusyondan ziyade, erken çekirdek kümesi vasıtasıyla daha kolay gerçekleşebileceği fikrini ortaya koyan Ten Wolde ve Frenkel (Ten Wolde ve Frenkel, 1997) tarafından yapılmıştır. Başlangıç kümenin düzensiz olduğu varsayıldığından, erken çekirdeklenme kümeleri "yoğun sıvı" evreleri (Ten Wolde ve Frenkel, 1997; Talanquer ve Oxtoby, 1998) olarak kabul edilmekte ve kristalleşmenin bu evrede gerçekleştiği düşünülmektedir.

2.6.2. Kristalleşmenin heterojen yüzeyler ve polimerik katkı maddeleri ile gelişmesi

Daha önceki çalışmaların aksine, yeni çalışmalar, Tip I kollajenin şablon gibi davranarak, diğer kollajen olmayan proteinlerin müdahale ya da aracılığı olmadan, amorf kalsiyum fosfat nanopartiküllerini, fizikokimyasal (elektrostatik) çekim ile yönlendirmesiyle, boşluk bölgelerinde doğrudan intrafibriller apatit oluşumunda aktif rol oynadığını göstermektedir. Silver ve Landis (2011), Tip I kollajenin boşluk alanlarında, kalsiyum iyonlarını tutma ve bağlama potansiyeline sahip belirli bölgeleri rapor etmişlerdir.

Nudelman ve diğerkleri (Nudelman ve diğerkleri, 2010), apatit kristal çekirdeklenmesi için doğrudan kollajen yüzeyine gelen amorf kalsiyum fosfat ya da amorf kümelerin birikimi anlamında şablon yüzey olarak kollajen liflerinin potansiyel rollerini araştırmışlardır.

Nudelman ve diğerkleri (Nudelman ve diğerkleri, 2010), kollajen molekülünün C-terminal ucuna yakın kısımlarında, negatif yüklü amorf kalsiyum fosfat nano öncülerinin kollajen liflerine infiltrasyonunu destekleyen net pozitif yükler olduğunu hesaplamışlardır. Boşluk ve örtüşme bölgelerindeki yüklü amino asitlerin düzenlenmesi, amorf kalsiyum fosfat nano öncülerinin yönlendirilmiş apatit kristallerine dönüşümünü kontrol eden çekirdeklenme bölgeleri oluştururlar (Nudelman ve diğerkleri, 2010)

2.6.3. SIBLING proteinleri ve bunların kollajen lifleri ile ilişkisi

SIBLING proteinler, içsel olarak düzensiz olan proteinler olarak sınıflandırılmaktadırlar (Uversky, 2002). Yani solüsyon içerisindeyken, lokal α veya β konformasyonları gibi sınırlı sekanslar göstermelerine rağmen artık uzun düzenli yapıları olmayan, esnek polipeptitlerdir ve ilerleyen dönemdeki yapısal düzenleri diğerk proteinler ile ilişkilerine bağlıdır. pH 7,5'de 10 mM Ca^{+2} içerisindeki DPP'nin elektron mikyografaları, DPP'nin 16-18 nm çapında, kabaca globüler yapıda olduğunu göstermektedir (Traub ve diğerkleri, 1992). Aynı preperat kollajen lifleri içeren hindi tendonlarına ilave edildiğinde, liflerin yüzeyleri, yaklaşık %75'i liflerin 'e-bantları' ile ilişkili olan ve lif boyunca yayılan benzer boyuttaki DPP yapılarıyla kaplanmıştır (Traub ve diğerkleri, 1992). Bu nedenle kollajen liflerin boşluk bölgelerini gösteren bu e-bandı pozisyonunun, DPP bağlanması için tercih edilen bir yer olduğu öne sürülmüştür. Bu özel bağlanma yalnızca, çok yüksek kollajen/DPP oranlarında gözlenebilmektedir (Dahl, Sabsay ve Veis 1998; Veis, 2003). DPP konsantrasyonu, çözünür kollajene oranla artırıldığında, ilave DPP partiküllerinin her bir kollejen molekülü boyunca rastgele bağlandığı bildirilmiştir. Bu kollajen molekülleri ve DPP asimetrik fibriler yapılar olarak kümelenir (Dahl ve Veis 2003) DPP'nin sekans özellikleri, kollajen üzerindeki lozkalizasyonunun belirlenmesinde önem taşımaktadır. Her ne kadar *in vitro* çalışmalarda polyAsp'nin amorf kalsiyum fosfat çekirdeklenmesini başlatabildiği gösterilmiş olsa da, mineralizasyona aracılık etme

fonksiyonlarında, DPP sekansı yaklaşık %40 Asp kalıntıları içermesine karşın, DPP'nin amino asitlerin %50'sini oluşturan Ser kalıntılarının fosforilasyonunun kritik önem taşıdığı hakkında çok güçlü kanıtlar mevcuttur (He ve diğerleri, 2005). Mineralize olmayan fibroblast hücrelerine DPP cDNA verildiğinde, fibroblast hücrelerinde fosforile DPP ekspresyonu ve salgılanması, ayrıca hidroksi apatit mineralizasyonunun başladığı bildirilmiştir (Sfeir ve diğerleri, 2011).

Proteinin serbest ya da hareketsiz halde olmasının ve protein konsantrasyonunun çökelme modellerini büyük oranda etkilediği gösterilmiştir (Neel ve diğerleri, 2016).

2.6.4. Kalsiyum ve fosfat iyonlarının mineralizasyon ön yüzüne taşınması

In vivo durum, *in vitro* deneylerde öne sürülmüş olan süreçten daha karmaşıktır. Bonnucci (Bonucci, 1967; Bonucci, 2009), Anderson (Anderson,1970; Anderson,1967), Lehninger (Lehninger, 1970) and Greenwalt ve diğerlerinin (Greenwal, Rossi ve Lehninger 1964) büyük miktarlarda kalsiyum ve fosfat iyonlarının alımı, bunların biriktirilmesi ve membrana bağlı veziküllerdeki kalsiyum fosfatın mineralize olan kıkırdak ve kemikteki hücre dışı alanlara taşınmasında, mitokondrilerin rolünü gösterdikleri çalışmalarından beri bu konu üzerinde tartışmalar olmasına karşın, kasiyum ve fosfatın mineralizasyon ön yüzüne taşınmasıyla ilgili nispeten az sayıda biyomineralizasyon tartışması mevcuttur. Veziküllerin hangi mekanizmayla kırılarak açıldığı ve bunların mineral içeriklerinin hangi mekanizmayla kollejene iletildiği ve lokalize edildiği, hala üzerinde çalışılan ve tartışılan konulardır (Boonrunsiman ve diğerleri, 2012). Mineral içeren hücre içi veziküllerin varlığı ve farklı durumlarda içeriklerinin amorf kalsiyum fosfat veya apatitik iç benzeri kristaller olduğuna dair çok sayıda kanıt mevcuttur. Cevap bulunamayan sorular, minerallerin mitokondrilerden mineralize matrikse hangi mekanizma ile iletildiği ve sonrasında kollajen lif matriksindeki liflerin yüzeylerinde veya liflerin içerisinde nasıl çözünüp rekristalize olarak yeniden düzenlendikleriyle ilgilidir.

Matriks vezikülleri, hücre dışı, membranla kuşatılmış 50-200 nm çapındadırlar ve kondiriosit, osteoblast ve odontoblastların yüzey membranlarından, polarize tomurcuklanma ile oluşurlar. Hücre içi kalsiyum ve hücre dışı fosfat konsantrasyonları öneme sahip olsa da, matriks veziküllerinin serbest kalmasını

sağlayan sinyaller anlaşılamamıştır (Orimo, 2010). Mineralizasyon, matriks vezikülleri içerisinde hidroksiapatit kristal oluşumu ile başlar, ardından hidroksiapatit membranı geçerek hücre dışı matrikse doğru ilerler. Veziküllerin içerisindeki kalsiyum ve fosfat kaynağı henüz açıklanamamıştır. Kalsiyum ve fosfat birikimi, kalsiyum-fosfat çözünürlük noktasını geçtiğinde, matriks veziküllerinin içerisinde hidroksiapatit birikmeye başlar (Orimo, 2010). İkinci aşamada hidroksiapatit kristalleri, matriks vezikül membranına nüfus eder ve hücre dışı alana doğru uzanırlar.

2.7. Diş Sert Dokularındaki Demineralizasyon-Remineralizasyon Dinamikleri

Demineralizasyon mine, dentin, sement, kemik gibi sert dokulardaki hidroksiapatit kristallerinden minerallerin ayrılmasına neden olan bir süreçtir. Bu mineral iyonlarının tekrar yerine konmasını ifade eden sürece ise remineralizasyon denmektedir. Her iki süreç de diş yüzeyinde gerçekleşir ve bütünlüğü bozulmamasına karşın hidroksiapatit çok sayıda mineral iyonu kaybeder. Bununla birlikte hidroksiapatit kafesinin bütünlüğünü yitirmesi kaviterler oluşturur. Demineralizasyon, dişlerdeki parsiyel olarak demineralize olmuş hidroksiapatit kristalleri, remineralizasyonu destekleyen bir ağız içi ortama tabi tutulduğunda, orijinal boyutlarına tekrar kavuşabileceğinden, geri dönüşümlü bir süreçtir (Boskey ve diğerleri, 2005).

2.7.1. Demineralizasyon

Dişler, minedeki fosfat esaslı hidroksiapatit kristalleri, dentindeki kollajen ve canlı dokularıyla kemiğe benzer kompozit materyallerdir (Ji ve diğerleri, 2013; Shepherd ve diğerleri, 2012; Vanderby ve Provenzano, 2003). Dişleri kemiklerden ayıran en önemli faktörler anatomik düzenlenmeleri ve lokalizasyonlarıdır (Burr, 2004). Ağız içerisinde gıda, içecekler ve mikrobiyal floraya maruz kaldıklarından diğer mineralize dokulardan farklı olarak, dişler lokalize demineralizasyona yüksek oranda dirençlidir (Ren, 2011; Scaramucci, Carvalho, Hara ve Zero, 2015). Bu direnç esas olarak dişlerin üst yüzeylerini kaplayan mine tabakasından kaynaklanmaktadır (Barbour ve diğerleri, 2006; Meredith, Sherriff, Setchell ve Swanson, 1996)

Dişlerin kimyasal demineralizasyonları, yiyecekler ve içecekler olarak tüketilen diyet kaynaklı asitler ya da ağız içerisindeki mikrobiyal floradan kaynaklı organik asitler yoluyla gerçekleşir (Scaramucci ve diğerleri, 2015; Kwang ve Abbott, 2014; Hara, Carvalho ve Zero, 2015).

Bir asit atağı sırasında veya tipik bir demineralizasyon rejiminde, hem organik hem de inorganik matriks bileşenleri kimyasal çözünmeye uğrar. Bu, dişlerin içerisine asit difüzyonuna ve mineral içeriğin dişlerin dışına taşınmasına olanak sağlayan, mine ve dentinin su içeriği ile meydana gelmektedir (Featherstone, 2006).

Organizmalarda biyominerallerin ve kalsiye dokuların demineralizasyonu fizyolojik ve patolojik süreçlerle gerçekleşebilir. Kemik dokusunun modellenme ve yeniden şekillenme olayları sırasında, diş sürmesi, çatlak iyileşmesi gibi durumlarda çok az miktarda fizyolojik demineralizasyon meydana gelirken, osteoporöz veya çürük gibi durumlar patolojik demineralizasyona ve ardından matriks yıkımına neden olur. 19. yüzyıldan beri diş çürüğünün nedenleri, özellikleri üzerine yoğunlaşmış pek çok çalışma, kalsifiye dokuların demineralizasyonlarını araştırmıştır (Ehrlich, Koutsoukos, Demadis ve Pokrovsky, 2009). Mine çürüğü ve minenin demineralizasyonu hakkında pek çok bilgi bulunmasına karşın, karmaşık dentin çürüğü ve dentin demineralizasyonunun mevcut mikroskopik ve spektroskopik tekniklerin yardımıyla ayrıntılı şekilde incelenmesi gerekmektedir (Chien ve diğerleri, 2015).

2.7.2. Remineralizasyon

Remineralizasyon konsepti, 1970'lerin ortalarından beri ilgi çekmektedir (Iijima, Takagi, Ruben ve Arends 1999; Hicks, Flaitz ve Silverstone 1986; Hicks, Flaitz ve Silverstone 1985; Ten Cate, 2001). Remineralizasyon terimi, demineralizasyon sürecinde kaybedilmiş olan minerallerin yerine konmasını, lezyonların tamirini ve iyileşmesini ifade etmektedir. Remineralizasyon süreci, dinamik çürük sürecinin doğal bir bileşenidir. Karbonhidrat fermentasyonu sırasında, karyojenik bakteriler tarafından üretilen asit yoluyla meydana gelen demineralizasyonun kesintiye uğradığı süreler mevcuttur. Karbonhidrat alımı kesildiğinde ve plak pH'sı dinlenme

seviyesine döndüğünde, remineralizasyon meydana gelebilir (Hikcs, Garcia-Godoy ve Flaitz, 2004).

Enfekte ve hasar görmüş dokunun minimal uzaklaştırılmasıyla birlikte, tedavi edici etkisi olan restoratif materyallerin kullanımı, modern operatif diş hekimliğinin temelini oluşturmaktadır. Diş sert dokularında madde kaybına neden olan etkenler arasında prevelansı en yüksek olanı çürüktür. Çürük ayrıca, travma, diş aşınması, hipoplazi ve malformasyon gibi diğer defektlere de eşlik edebilir. Bu nedenle, defekt öncelikle fonksiyon ve estetik için restore edilse bile, restorasyonun temelini sağlam olması için çürük dokunun uzaklaştırılması gerekmektedir (Gao, Smales ve Yip, 2000).

Dişlerin remineralizasyonu için tükürük, flor tedavisi, diyet kontrolü ve probiyotik bakteriler gibi koruyucu rejimler önerilmiştir. Ayrıca farklı formlarda kalsiyum fosfat içeren kompozit rezinlerin kullanımı da diş remineralizasyonu için potansiyel iyileştirici olarak önerilmektedir. Koruyucu diş hekimliğinde, antibakteriyel nanoterapi ve biyomimetik remineralizasyon için nanoteknolojinin, yeni başlayan çürük lezyonlarında ve çürüğün geri döndürülmesinde kullanılması, literatürde ayrıntılı olarak açıklanmıştır (Hikcs ve diğerleri, 2004).

2.7.3. Çürük dentinin remineralizasyonu

Dentinin karmaşık yapısına bağlı olarak, dentin remineralizasyonu, mine remineralizasyonuna göre daha zor gerçekleşmektedir. Çürük atakları sırasında dentin dokusu bakteri ve bakteri ürünleriyle direkt olarak temas etmektedir. İç ve dış çürük tabakası olmak üzere iki genel tabaka görülmektedir (Gao ve diğerleri, 2000).

Bu iki tabakanın remineralizasyonu, insan, köpek ve maymun dişleri kullanılarak araştırılmıştır. Kalsiyum içeriğinin eski seviyesine dönmesi ve artmış sertliğin eşlik ettiği fizyolojik remineralizasyon, yalnızca içteki çürük dentin matriksinde görülmektedir. Dış çürük tabakalarının kalsiyum içerikleri de, tükürük ya da kalsiyum hidroksit simanların etkileriyle hafifçe artmış olabilir. Ancak, bu eski uygun sertliğin geri kazanılmasına neden olacak fizyolojik bir remineralizasyon değil, sadece saf kalsiyum çökeltisidir. Zaman zaman durmuş dentin çürük lezyonlarının

yüzeylerinde gözlenen devasa vitlokit kristalleri de, apatit çökmesiyle remineralizasyonu göstermez. Bunlar yalnızca, yavaş ilerleyen demineralizasyon sürecinin ara ürünleridirler (Gao ve diğerleri, 2000).

Fizyolojik remineralizasyon için iki koşul bulunmaktadır. Remineralizasyon, apatit kristallerinin tutunabileceği bir baz olarak görev yapacak olan, kollajen prekürsörlerinin intermoleküler çapraz bağlantılarıyla, kollajen liflerinin çapraz bantlı yapısının korunduğu, çürük dentinin iç tabakasında gerçekleşir. İntermoleküler çapraz bağlantıların kopması nedeniyle kollajen liflerinin çapraz bantlı görüntüsünün kaybolduğu dış çürük tabakasında, remineralizasyon meydana gelmemektedir. Dentin kollajeninin kalsiyum bağlama potansiyeli ölçüldüğünde, normal dentine kıyasla iç çürük tabakasındaki dentinde belirgin bir artış görülürken, dış çürük tabakasında ise oldukça düşük olduğu bulunmuştur (Ricketts, Kidd ve Beighton 1995). Odontoblastik uzantının artık mevcut olmadığı çürük dentinin dış tabakalarında remineralizasyon gerçekleşmezken, vital pulpadan kalsiyum fosfat sağlayacak canlı odontoblastik hücre uzantısının mevcut olduğu dentin çürüğünün iç tabakalarında remineralizasyon mümkündür (Gao ve diğerleri, 2000).

Silva (Silva, 2006) biomateriyallerin sentezlenmesini tavandan tabana ya da tabandan tavana yaklaşımları olarak sınıflamaktadır. Tavandan tabana yaklaşımı, kritik nanoboyutta ayrıntıları içeren kütleli bir materyal ile başlar. Klasik iyon esaslı stratejiler, genellikle metastabil kalsiyum ve fosfat iyonu içeren solüsyon ve jellerin kullanımından oluşmaktadır. Mevcut çekirdek kristalleri üzerinde epitaksiyel büyüme tavandan tabana kristalizasyondur ve demineralize dentin gibi organik matrikslerde spontan mineral çekirdeklenmesi oluşmaz. Kollajen olmayan proteinlerin biyomimetik analogları mevcut olmadığında, tavandan tabana yaklaşımı ile lifler içerisinde apatit birikimi görülmez (Cao, Mei, Li, Lo ve Chu, 2015).

Bazı çalışmalar biyoaktif materyallerin (Forsback, Areva ve Salonen 2004; Vollenweider ve diğerleri, 2007; Reyes-Carmona, Felipe, M. S. ve Felipe, W. T., 2009), agoroz jel sistemlerinin (Ning ve diğerleri, 2012) ve çinkonun (Osorio R., Osorio, E., Cabello ve Toledano, 2014) kullanılmasıyla, fibriller arası bölgede apatit birikimi olduğunu ve dentin tübül ağzlarının tıklandığını bildirmişlerdir. İki çalışmada, kollajen olmayan proteinlerin fonksiyonlarını kısmi olarak taklit etmek amacıyla

peptit (Wang, Q., Wang, X. M., Tian, Cheng ve Cui, 2011) ve oligopeptit (Cao ve diğeri 2014) sentezlenmiş olmasına karşın, amorf kalsiyum fosfat nanopartikül oluşumu olmadığından, kollajen matriks içerisinde hiyerarşik lif içi apatit birikimi oluşmamıştır. Buna rağmen bu sonuçlar, özellikle dentin hassasiyetinin tedavisi anlamında klinik olarak önem taşımaktadır.

Dentinin mineral fazı kollajen liflerinin boşluk bölgelerinin içerisinde ya da hemen komşuluğunda bulunan, lif içerisindeki mineraller ve lifleri birbirinden ayıran interstisiyel alanlarda bulunan lifler arası mineraller olarak sınıflandırılmaktadır (Kinney, Habelitz, Marshall SJ ve Marshall GW, 2003). Demineralizasyondan sonra, dentinin kollajen lifleri arasındaki mineraller hızla çözünür. Liflerin içerisindeki mineraller kısmi olarak ya da tamamıyla çözünür ve kollajene ait boşluk bölgeleri açığa çıkar. Kollajen lifleri içerisindeki mineraller, dentinin mekanik özelliklerinde önemli rol oynar (Bertassoni, Habelitz, Marshall, S. J. Ve Marshall, G. W. 2011). Lif içi remineralizasyon, minerallerin büyümesi ve kollajen lifleri içerisindeki boşlukları doldurması ile sınırlıdır. Tavandan tabana yaklaşımının tersine tabandan tavana remineralizasyon yaklaşımı, amorf nanoprekürsör parçacıkların kendiliğinden birleşmesi ve takiben bunların biyomineralizasyonda mezoskopik transformasyonu gibi belli süreçler sonucunda yüksek oranda sıralı ve organize bir yapı oluşturacak, bir veya birden fazla tanımlanmış moleküler tür ile başlar (Colfen ve Antonietti., 2005). Bu klasik olmayan partikül-aracılıklı kristalizasyon yolu, çok aşamalı bir süreci kapsamaktadır (Dey ve diğeri, 2010). Kalsiyum ve fosfat iyonları çekirdeklenme öncüsü kümeleri oluşturmak için kendiliğinden birleşir. Kollajen olmayan protein analoglarının varlığında bu çekirdeklenme öncüsü kümeler, amorf kalsiyum fosfat nanoprekürsörleri içerisine çöker. Daha sonra bu öncüler kollajen liflerinin içerisindeki boşluk bölgelerine penetre olur ve kollajenin lif içi boşlukları boyunca apatit oluşturacak şekilde büyür. Kollajen liflerinin lif içi remineralizasyonları, komşu kollajen lifleri arasında, lifler arası remineralizasyona neden olur. Bu nedenle amorf kalsiyum fosfat nanoprekürsörlerinin oluşumu, dentinin biyomimetik remineralizasyonu için temel bir basamaktır (Cao ve diğeri, 2014).

2.8. Biyomimetik Remineralizasyon Amacıyla Kullanılan Kalsiyum Silikat Simanlar ve Bu Simanların Bileşenleri

Kalsiyum silikat Portland simanların geçmişi, Roma döneminde kireç ve volkanik artıkların birlikte öğütülmesi ve su ile karıştırılmasıyla elde edilen çimentoya kadar uzanır. Pozzolan, su içerisinde bile Roma betonunun hızlı şekilde sertleşmesini sağladığından köprülerin, limanların, su kemerlerinin ve anıt kum binalarının yapımına yardımcı olmuştur. Orta çağlarda bu çimentonun oranlarıyla ilgili bilgi kaybolmuştur ancak 18. yüzyılda İngiliz bir mühendis olan John Smelton, kil ve kireçtaşı kullanarak bu çimentonun doğru oranlarını yeniden bulmuştur. 1824 yılında İngiliz bir tuğla döşemecisi olan Joseph Aspdin, Portland çimentosu adını verdiği materyalin yapım süreci için patent almıştır. ABD'de 19. yüzyılın sonlarında inşa edilen ilk büyük köprü Portland-Pozzolanik çimentolardan yapılmıştır. Pozzolan hala pek çok Portland simanının ana bileşenidir (Prati ve Gandolfi, 2015).

Hidrolik kalsiyum silikat simanlar yaklaşık olarak 20 yıl önce geliştirilmişlerdir. Bileşimleri genellikle Portland çimentosu bileşenlerine dayanır. Bu sertleşmiş lav kütlesi kaynaklı Portland, trikalsiyum silikat $[(CaO)_3 \cdot SiO_2; C_3S]$, dikalsiyum silikat $[(CaO)_2 \cdot SiO_2; C_2S]$, trikalsiyum alüminat $[(CaO)_3 \cdot Al_2O_3; C_3A]$, tetrakalsiyum alüminoferrit $[(CaO)_4 \cdot Al_2O_3 \cdot Fe_2O_3; C_4AF]$ ve kalsiyum sülfat gibi farklı fazlardan oluşmaktadır. Farklı amaçlar için ilave edilen modülatörler ve radyoopasite için eklenen bileşikler, üretici firmalara göre değişiklikler gösterebilmektedir (Saghiri ve diğerleri, 2017).

Kalsiyum silikat siman ailesinin başında, ilk kez 1995 yılında Torabinejad ve White (Torabinejad, 1998) tarafından diş-dolgu materyali olarak geliştirilmiş, yukarıda sayılan tüm mineraller ve radyoopasite için ise bizmut oksit içeren gri ProRoot® MTA bulunmaktadır. MTA® marka tescili 1996 yılında Tulsa Dental Products tarafından, PROROOT® marka tescili 2000 yılında Dentsply firması tarafından yapılmıştır (Camilleri ve Gandolfi, 2010; Gandolfi, Taddei, Modena, Siboni ve Prati 2013a).

Bu materyalin diş rengindeki versiyonu olan ve marka tescili 2000 yılında ProRoot® olarak Dentsply firması tarafından yapılan beyaz ProRoot MTA, 2004 yılında Primus

tarafından, demir içermeyen beyaz Portland simanı olarak tanıtılmıştır (Gandolfi, Taddei, Modena, Siboni ve Prati 2013a).

MTA'nın gri versiyonundaki aluminoferrit fazı MTA'nın beyaz versiyonunda bulunmamaktadır ve Dammaschke ve diğerleri (Dammaschke, Gerth, Züchner ve Schäfer, 2005) tarafından yapılan bir çalışmaya göre MTA'nın alçı içeriği Portland çimentosunun yaklaşık yarısı kadardır ve bu da MTA için uzun bir sertleşme süresinin gerekli olduğunu göstermektedir (Niu ve diğerleri., 2014)

Başlangıçta ProRoot MTA, retrograd cerrahide apikal dolgu materyali olarak, kök ve furkasyon perforasyonlarının tamirinde, internal eksternal kök rezorbsiyonları gibi durumlarda, kök kanal tedavileri ve operatif diş hekimliği uygulamaları için önerilmiştir. Günümüzde, kendine has fiziko-kimyasal özellikleri, çevre ortama Ca^{+2} ve OH^- iyon salımı (Gandolfi ve diğerleri 2011a; Gandolfi ve diğerleri, 2013a) ve vücut sıvılarıyla temasta apatit oluşturmaya (biyoaktivite) (Gandolfi, Taddei, Tinti, Dorigo, Rossi ve Prati., 2010a; Gandolfi ve diğerleri, 2013a) ile gösterilmiş olan biyolojik özellikleriyle (Parirokh ve Torabinejad , 2010a; Torabinejad ve Parirokh, 2010; Okiji ve Yoshida , 2009; Gandolfi, Shah, Feng, Prati ve Akintoye, 2011b; Gandolfi ve diğerleri ,2011a) ProRoot MTA, pulpa kuafajı, derin servikal ve radiküler lezyonlar, apeksifikasyon ve apeksifikogenezis gibi pulpa tedavilerinde kullanılmaktadır (Parirokh ve Torabinejad, 2010b; Mente ve diğerleri, 2010; Gandolfi, ve diğerleri, 2013b).

Trikalsiyum silikat bazlı malzemeler hidrasyonun bir yan ürünü olarak kalsiyum hidroksit üretir (Camilleri ve diğerleri, 2005). Bu materyaller TGF $\beta 1$ gibi biyoaktif molekülleri dentinden çözerler (Graham ve diğerleri, 2006; Tomson ve diğerleri, 2007). Bu büyüme faktörü pulpa öncü hücrelerinin migrasyonuna ve odontoblastik diferansiyasyona dahil olur ve trikalsiyum silikat esaslı materyallerin altında dentin köprüsü oluşur (Laurent, Camps ve About, 2012). Bu nedenle, MTA'nın etki şeklinin, kalsiyum hidroksite benzer olduğu varsayılabilir.

Bu nedenle, kalsiyum silikat esaslı simanlar, genleşmeleriyle (Gandolfi ve diğerleri, 2009; Gandolfi ve diğerleri, 2010b) ilintili olan iyi tıkama etkinlikleri (Torabinejad ve Parirokh, 2010; Prati, Siboni, Polimeni, Bossu ve Gandolfi, 2014; Pelliccioni ve

diğerleri, 2007), sıvı varlığında sertleşebilmeleri, bioaktiviteleri, epijenik sinyaller olarak rol alacak iyon salımları (Moghadame, Mantellini, Botero, McDonald ve Nör, 2005; Paranjpe, Smoot, Zhang ve Johnson, 2011; Gandolfi ve diğerleri, 2011a; Gandolfi ve diğerleri, 2013a) ve biyolojik özelliklerinin iyi olması gibi klinik kullanımlarına uygun özellikler sergilemektedirler (Gandolfi, ve diğerleri, 2013a).

Ancak orijinal simanın uzun sertleşme süresi, manüplasyonunun güç olması, kanama bölgeleri gibi fazla nemli alanlarda ortamdaki uzaklaşma riski, düşük radyoopasitesi ve yüksek maliyeti gibi sakıncaları, bu mükemmel özellikleri gölgede bırakmaktadır. Bu nedenle, yeni MTA benzeri kalsiyum silikat siman arayışları başlamıştır.

Biodentine, Theracal, Endocem MTA ve Retro MTA gibi yeni hidrolik kalsiyum silikat simanlar üretilmiş, piyasaya sürülmüş ve bunlar dışında da pek çok deneysel materyal/prototipin etkinliği araştırılmıştır. Bu ikinci jenerasyon kalsiyum silikat esaslı materyallerin pek çoğu, orijinal simana göre klinik kullanımlarını daha uygun hale getirecek özellikler taşımaktadırlar (Camilleri, Laurent ve About, 2014).

2.8.1. Trikalsiyum silikat

Trikalsiyum silikat kendi başına ya da bazı ilavelerle kemik simanı (Huan ve Chang, 2008; Zhao ve diğerleri, 2008; Huan, Chang, 2007; Zhao, Wang, Zhai, Wang, Z ve Chang, 2005) olarak, selüloz esaslı polimerlerle karıştırıldıklarında plastik üretim sürecinde kalıp malzemesi olarak (Ridi, Fratini, Mannelli ve Baglioni, 2005), posterior restoratif materyal olarak (Laurent, Camps, De Méo, Déjou ve About, 2008), kök ucu dolgu malzemesi olarak (Wang, Sun ve Chang, 2008) kullanılmaktadır. MTA'nın siman bileşimine benzer yapısı ve biyoaktivitesi ile (Camilleri, 2011; Chen, C. C., Ho, Chen, C. H. D. Ve Ding, 2009), MTA'nın siman bileşimine göre kısalmış sertleşme süresi (Chen ve diğerleri, 2009) ve zamana bağımlı biyoaktivitesinin daha yüksek olması (Formosa, Mallia, Bull ve Camilleri, 2012) nedeniyle trikalsiyum silikatın, MTA'nın siman bileşenlerinin yerini alabileceği kabul edilmektedir (Saghiri ve diğerleri, 2017).

Kalsiyum karbonat, kalsiyum sülfat ve kalsiyum klorid'in %30 oranında ilavesi trikalsiyum silikat simanların bioaktivitesini ve oluşan kompozit materyalin çözünmesini daha iyi hale getirmekte ve fiziksel özelliklerini geliştirmektedir (Zhao ve diğerleri, 2008; Zhao ve diğerleri, 2005, Wang, 2008). Trikalsiyum silikat simanlar, Biodentin ve Bioaggregate gibi çok sayıda tescilli markanın ana bileşeni olarak kullanılmaktadır. Trikalsiyum silikatın hidrasyonu, sertleşmeyi ve erken dönem dayanımı büyük oranda etkiler (Saghiri ve diğerleri, 2017).

Trikalsiyum silikatın suyla reaksiyonunun neredeyse şekilsiz bir materyal olan ana ürünü kalsiyum silikat hidrat, çimento esaslı materyallerin mukavemet ve hacimsel stabilitesine katkıda bulunmaktadır (Greenberg ve Chang, 1965; Taylor, 1997: 295-310).

2.8.2. Dikalsiyum silikat

α , α' H, α' L, β , ve γ olarak tanımlanmış beş polimorf dikalsiyum silikat bulunmaktadır (Saghiri ve diğerleri, 2017). Dikalsiyum silikat, trikalsiyum silikata göre daha geç hidrasyona uğrar ve sonraki dönemdeki dayanımı sağlar. Dikalsiyum silikat simanlar, kök ucu dolgu maddesi olarak kullanıldıklarında, yüksek apatit oluşturma aktivitesi gösterirler ve asidik ortamlarda düşük çözünürlükleri vardır (Chiang ve Ding, 2013).

Dikalsiyum silikat simanlar uygun biyolojik özelliklere sahiptir ve kök ucu dolgu materyali ve pulpa kuafaj materyali olarak kullanılabilirler, ayrıca, biyoaktivite ve biyoyumluluklarının da iyi olduğu yapılan in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Gou, Chang, Zhai, Wang, 2005; Liangjiao ve diğerleri, 2005; Gandolfi ve diğerleri, 2010c).

2.8.3. Trikalsiyum aluminat

Portland simanının ana bileşenleri arasında en hızlı hidrasyon oranına sahip bileşenin trikalsiyum aluminat olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, trikalsiyum aluminat, hidrasyon sürecini hızlandırmakta ve kısa dönem basma dayanımını sağlamaktadır. (Taylor, 1997: 295-310; Black ve diğerleri, 2006). Trikalsiyum silikatlara alüminyum ilavesi sertleşme süresini kısaltmaktadır.

2.8.4. Stronsiyum tuzları

Simana küçük miktarlarda stronsiyum ilavesi biyoaktivite ve biyoiletkenlik özellikleri kazandırır veya artırır (Yang, 2011; Peng, 2010). Stronsiyum florid, stronsiyum oksit veya hidroksitler hızlı sertleşen MTA formülasyonlarında bulunmaktadır (Lovschall, Kjaergaard ve Thomsen, 2014). Stronsiyum karbonat, kalsiyum karbonata yakın çözünürlük özelliğine sahiptir ve bu da stronsiyum karbonatı emilebilir yapmaktadır. Stronsiyumun, osteoklastik aktivitede (Saint-Jean, 2005) ve hücre canlılığının ve farklılaşmasının artırılmasında (Kim, Koh, Kong, Kang ve Kim, 2004) yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Stronsiyum kullanımıyla ilgili ana kısıtlama maliyetinin yüksek olmasıyla ilgilidir.

2.8.5. Kalsiyum sülfat

Tipik olarak dihidrat (alçı taşı) formundaki kalsiyum sülfat, sertleşme reaksiyonunun oranının kontrol edilmesi amacıyla ilave edilmektedir (Al-Daafas ve Al-Nazhan, 2007). MTA'da bulunan kalsiyum sülfat oranıyla karşılaştırıldığında Portland simanı iki kat kalsiyum sülfat içermektedir (Darvell ve Wu, 2011; Gandolfi ve diğerleri, 2010d). Kalsiyum sülfat içeren ProRoot MTA 3-4 saatlik sertleşme süresiyle, 15 dakikade sertleşen kalsiyum sülfat içermeyen MTA Angelusa göre daha uzun bir sertleşme süresine sahiptir. Sertleşme geciktirici olarak kalsiyum sülfat, tercihen trikalsiyum aluminat ile reaksiyona girerek siman yüzeyinde bir tabaka oluşturmakta ve böylece hidrasyon sürecini geciktirmektedir (Fleming, Farooq ve Barralet, 2003).

Bunlara ek olarak bazı bileşenlerde küçük miktarlarda kükürt de bulunmuştur. Kükürtün, kalsiyum silikat esaslı simanların hidrasyon reaksiyonlarını, ardışık olarak farklı pek çok reaksiyon oluşturmaları nedeniyle karmaşık bir süreçle, etkilediği bilinmektedir. Trikalsiyum aluminat su ile hızlı bir hidrasyon reaksiyonu göstererek farklı hidratlar oluşturmaktadır. Bu hidratlar, bir difüzyon bariyeri oluşturur. Bu difüzyon bariyeri, trikalsiyum silikat ve dikalsiyum silikatların hidrasyonunu önleyerek simanın 'ani sertleşme' olarak adlandırılan sertleşmesine neden olur (Darvell ve Wu, 2011). Kükürt, aliminyum ile rekabet eden bir kimyasal reaksiyon yaratmak ve bu mekanizmayı önlemek amacıyla ilave edilmektedir. Bu nedenle bileşenin kükürt içermemesi, 'ani sertleşme'yi destekleyerek, başlangıç sertleşme

kinetiklerini hızlandırabilir. Ancak bu durum, aynı zamanda uzun dönem sertleşmeyi geciktireceğinden, mekanik özelliklerin kazanılmasını geciktirebilir (Dammachke ve diğerleri, 2005; Gandolfi ve diğerleri, 2010d).

2.8.6. Radyopaklaştırıcılar

Kalsiyum silikat simanlar, 0,86-2,02 mm aliminyum (Islam, Chng ve Yap, 2006; Kim ve diğerleri, 2008, Saliba ve diğerleri, 2009) aralığındaki değerlerde radyoopasiteye sahiptir. Ancak ISO standartlarına göre (ISO 6876 Section 7.8 2002), kök kanal dolgu materyallerinin radyoopasitesinin 3 mm Aliminyum'dan daha yüksek olması gerekmektedir. Bu nedenle simanı çevre dokulardan ayırt edebilmek için, siman içerisine radyopaklaştırıcıların ilavesi gerekmiştir (Beyer-Olsen ve Ørstavik, 1981; Ruch, Lesot, Peterkova, Peterka, 1997). MTA içerisinde kullanılan ilk radyopak madde bizmut oksittir. Bununla birlikte, nispeten daha yüksek moleküler ağırlığa sahip altın tozu, gümüş/kalay alaşımı (Camilleri ve Gandolfi, 2010), baryum sülfat (Camilleri ve Gandolfi, 2010- Duarte ve diğerleri, 2012), iyodoform (Bortoluzzi, Guerreiro-Tanomaru, Tanomaru-Filho, ve Duarte, 2009; Duarte ve diğerleri, 2012), zirkonyum oksit (Bortoluzzi ve diğerleri, 2009; Duarte ve diğerleri, 2012), çinko oksit (Camilleri ve Gandolfi, 2010; Duarte ve diğerleri, 2012), kalsiyum tungstat ve kalsiyum zirkonat gibi alternatif radyopaklaştırıcıların ilavesi de önerilmiştir.

2.8.7. Metil selüloz

Bu bileşenlerin yanında bu simanlarda metilselüloz da bulunmaktadır. Simanlara metilselüloz ilavesi, çekme dayanım özelliklerini geliştirirken, termal stabilite ve basma özelliklerini düşürmektedir. Metilselüloz miktarı arttıkça, mekanik özelliklerde görülen bu değişimler de artmaktadır (Xuli ve Chung, 1996). Daha yüksek oranda metiselüloz varlığı, konsantrasyona bağlı olarak (Nawy, 2008: 3-14) Portland simanın dayanımını değiştirecek ve sertleşme reaksiyonunu geciktirecek olan havayı hapsetme ve daha yüksek oranda su tutma özelliğine sahiptir.

Simanın uygulama yüzeyinden uzaklaşmasını engellemek için bileşime eklenen metilselüloz, siman içerisindeki suyu bağlayarak, materyalin daha kolay taşınmasını ve kullanılmasını sağlayan plastisite ve yapışkanlık özelliğini artırır. Bunun yanında, materyalin sıvı içeren ortamlarda uygulama yüzeyinden uzaklaşması olarak tanımlanabilecek olan materyalin 'yıkama direnci' de, metilselüloz konsantrasyonuna bağlı olarak artmaktadır ve bu özellikle kan ya da nem kontaminasyonu olan alanlara yerleştirilmesi gereken materyaller için büyük önem taşımaktadır. (Nawy, 2008: 3-14).

2.8.8. Kalsiyum klorit

Trikalsiyum silikat ve Portland simanlarında en etkili hidrasyon ve sertleşme akselatörlerin birisi de kalsiyum klorittir (Ramachandran, Paroli, Beaudoin ve Delgado, 2002: 146-149). Kalsiyum kloritin bu akselatör özelliği, en azından kısmen, kalsiyum silikat hidrat gibi hidrofilik kolloidleri pıhtılaştırarak, artmış por çapı aracılığıyla iyonların ve suyun başlangıç kalsiyum silikat hidrat tabakasından difüzyonunu kolaylaştırır. Bu da erken difüzyon kontrollü dönemde, hidrasyon oranının artmasına neden olur (Juenger, Monteiro, Gartner ve Denbeaux, 2005).

2.9. Dentinin Sertliği ve Mikrosertlik Testleri

Sertlik, bir materyalin belirli bir bölgesinin baskı deformasyonu ve kırılmaya karşı gösterdiği direnç özelliklerini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Sangwal, Surowska ve Błaziak, 2003). Mikrosertlik testleri materyallerin ve diş dokularının fiziksel özelliklerinin incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Chunmuang, Jitpukdeebodintr, Chuenarrom ve Benjakul ve 2007; Attin, Meyer, Hellwig, Buchalla ve Lennon, 2003). Bu yöntem hızlıdır, kolaydır ve test için oldukça küçük bir örnek yüzey alanı gerektirir (Chuenarrom, Benjakul ve Daosodsai, 2009).

Mikrosertlik testlerinde, elmas bir intendör ile P yükünün uygulanmasıyla, materyal yüzeyinde bir girinti/iz/indentasyon oluşturulur. Elde edilen indentasyonun köşegen boyutu, optik bir mikroskop yardımıyla ölçülür ve sertlik, intendörün altında kalan alana uygulanan ortalama gerilim olarak değerlendirilir. Başlangıçta saat dişlileri, ince tel ve folyolar için kullanılan mikrosertlik testleri, günümüzde metalik ve seramik

malzemelerde özel fazlar, tekli kristallerdeki oryantasyonun etkileri, yayılım gradyanları gibi farklı çalışma alanlarında kullanılmaktadır. Avrupa'da genellikle kare bir iz oluşturan, arayüz açısı 136° olan Vickers intendörü tercih edilmektedir. Mikrosertlik testlerinde genellikle uygulanan yükler 1-100 gr arasında değişmekte iken (1 gr=9,81 mN) genel mühendislikte kullanılan muadilinde 5 ila 100 kgr test yükü kullanılmaktadır. Sığ bir iz derinliği istenen malzemelerde Amerikan kökenli eşkenar dörtgen tabanlı Knoop intendörlerinin kullanımı tavsiye edilmektedir. Uçurtma şeklindeki Knoop izi, 7:1 eksensel oranda uzamıştır (Smallman ve Ngan, 2014: 165-168).

Mikrosertlik testlerinin mümkün olduğu kadar büyük yükler kullanılarak çok dikkatli bir şekilde kontrol edilmesi ve tekrarlanması gerekmektedir. Numune yüzeyi düz ve intendör aksına dik olmalıdır. İntendör, titreşimsiz koşullarda, dakikada 1 mm'den daha düşük bir hızla, yavaşça alçalır ve sonunda test yüzeyini sabit hal sünmesine benzer şekilde deforme eder (Smallman ve Ngan, 2014: 165-168).

Vickers sertlik formülü izin yüzey alanına, Knoop sertlik formülü ise izdüşüm alanı ve uzun köşegenin boyutuna dayanmaktadır. Sertlik değeri, indentasyon yükü ve intendörün şekline bağlı olarak oluşan izin orantısı kullanılarak hesaplanır. Vickers sertliği indentasyonun birim alanındaki test kuvveti hesaplanarak elde edilebilir. İntendör, karşıt açıları 136° olan elmas kare piramit formundadır. Ölçülen değer, yükün indentasyonun yüzey alanına bölünmesiyle elde edilmektedir (Zhang, Du, Zhou ve Yu, 2014). Knoop sertliğini ölçmek için kullanılan intendör de aynı şekilde elmas bir kare piramitten oluşmuştur ancak bu piramit eşit olmayan iki zıt açıdan meydana gelmektedir. Knoop sertliği, yükün temas alanının izdüşümüne oranına eşittir (Zhang ve diğerleri, 2014). Materyallerin sertlikleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanabilir:

$$\text{Knoop sertliği} = 14230 (F/d^2) \text{ kg yük/mm}^2$$

$$\text{Vickers Sertliği} = 1854 (F/d^2) \text{ kg yük/mm}^2$$

Denklemlerin sabit deęerleri, intendörün kendine özgü geometrisi kullanılarak hesaplanmıřtır. Formölde indentasyon yükü F ile (gram), girintinin köşegen uzunluęu d ile (mikrometre) ifade edilmiřtir (Chuenarrom ve dięerleri, 2009).

Diřlerin sertlięi statik ve dinamik sertlik olmak üzere ikiye ayrılabilir (Zhang, Du, Zhou ve Yu, 2014). Karakterizasyon için en sık kullanılan yöntem statik indentasyon sertlięidir (Zhang ve dięerleri, 2014). Sertlik testleri, intendör ucunun neden olduęu deformasyona dentinin direncini ölçer. Statik indentasyon sertlięi için en sık kullanılan belirteçler Vickers, Knoop sertlikleri ve nano indentasyondur (Chuenarrom ve dięerleri, 2009).

Dentin tübüllerinin yeri, yoğunluęu ve yönü, kollajen liflerinin yönü, mineral fazın ortalama yoğunluęu, dentinin mekanik özelliklerini etkileyen faktörlerdendir (Cohen ve dięerleri, 2008). Mekanik özelliklerin belirlenmesi, mikro yapı, mineral yoğunluęu ve minerallerin organik matriks içerisindeki yerleri ile örtüşmektedir (Bertassoni, Habelitz, Kinney, Marshall, S. J. ve Marshall Jr, G. W., 2009).

Wang ve dięerleri (Wang, ve Weiner, 1997) mine-dentin baęlantı bölgesine komřu dentinin sertlięinin düşük olduęunu, bu bölgeden pulpa dokusuna doęru ilerledikçe dentin sertlięinin yükselerek en yüksek deęerine ulařtıęını, ardından pulpaya yaklařtıkça yavaşça azaldıęını bildirmişlerdir.

Cohen ve dięerleri (2008), AFM kullanarak dentinin mikroyapısal mekanik özelliklerini deęerlendirdikleri çalışmalarında, lümen kenarları, peritübüler dentin, peritübüler-intertübüler dentin baęlantısı ve intertübüler dentinin sertlięini ve elastisite modüllerini ölçmüşlerdir. Sonuçlar, mikroyapısal mekanik özelliklerin dentin içerisindeki farklı bölgelere göre deęiřtięini göstermektedir. Sertlik, mineral içerięinin düşmesine baęlı olarak dentin tübül kavitesi duvarından intertübüler dentine doęru aşamalı olarak azalmaktadır.

Dentinin mekanik özellikleri, yapısı, mineral içerięi ve birleşimi gibi içsel faktörlere baęlı olduęu kadar dış otama da baęlıdır (Zhang ve dięerleri, 2014; Guidoni, Denkmayr, Schöberl ve Jäger, 2006) yapmış oldukları çalışma sonucunda, nemli

ortamda dentinin elastisite modülüsünün %35 ve sertliğinin %30 azaldığını göstermişlerdir.

Kinney ve diğerleri (2004) dentinin nemli ortamda anizotropik olduğunu doğrulamışlardır. Tübül yönüne dik olan elastisite modülüsü 25,1GPa iken, tübül yönüne paralel olan elastisite modülüsü biraz daha yüksektir. Bununla birlikte dentin kuru hale geldiğinde izotropiktir ve elastisite modülüsü 28,1 GPa olarak bildirilmiştir (Kinney ve diğerleri, 2004).

Bertassoni ve Swain (2012) tarafından yapılmış olan bir başka çalışma, kuru ortamda dentinin viskoelastik özelliklerinin daha güçlü olduğunu ancak elastisite modülü ve sertliğinin azaldığını göstermiştir (Bertassoni ve Swain, 2012).

Demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında, intraoral modellerle birlikte sertlik testlerinin kullanılması büyük öneme sahiptir (Wei ve Koulourides, 1972). Diş dokularının sertlikleri aşındırma (Taketa ve diğerleri, 1957), çizme (Totah, 1942) ve indentasyon teknikleri (Kinney ve diğerleri, 1996; Meredith, Sherrieff, Setchell ve Swanson, 1996; Caldwell, Muntz, Gilmore ve Pigman, 1957; Collys, Slop, Cleymaet, Coomans ve Michotte, 1992) gibi pek çok farklı yöntemle değerlendirilmiştir (Gutiérrez-Salazar ve Reyes-Gasga, 2003).

Gutierrez-Salazar ve Reyes Gasga, yaptıkları çalışma sonucunda (2003), Knoop ve Vickers sertlik değerlerinin yaklaşık olarak aynı olduğunu minenin sertlik değerinin 250 ila 360 VHN ve dentinin sertlik değerinin ise 50 ila 70 VHN arasında olduğunu bildirmişlerdir. Elde ettikleri bu değerler, Craig ve Peyton (1958) tarafından bildirilen değerlere benzerdir.

Mikrosertlik testlerinde indentasyon yükü 1 ila 1000 g arasında değişmektedir ve bu yük farklı sürelerde uygulanabilmektedir. Knoop sertlik ve Vickers sertlik formülleri göz önünde bulundurulduğunda, yük değişse de yükteki bir artışla birlikte indentasyon boyutları da büyüdüğünden mikrosertlik değerinin değişmeyeceği görülmektedir. Pek çok farklı yükün kullanıldığı farklı çalışmaların sonuçları, sonuçların çok düşük yüklerde sabit olmadığını göstermektedir (Chuenarrom ve diğerleri, 2009). Bu durum, elastik geri dönüşüm veya viskoelastik yapıya (Sangwal

ve diğlereri, 2003) tane büyüklüğü etkisine (Low, 1998), indentasyonla birlikte meydana gelen çatlaklara, yüzey dokusu veya çapraz ölçüm hatalarına (Quinn J. B ve Quinn G., 1997) bağlanmaktadır.

2.10. Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (SEM-EDX)

EDX, EDS, EDAX olmak üzere farklı kısaltmalar kullanılarak ifade edilen Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi, incelenen materyallerin kimyasal olarak tanımlanması ya da elemental analizlerinin yapılması amacıyla kullanılmaktadır. Bu teknikte kullanılan X-ışını, incelenecek olan materyal yüzeyine iletilerek, materyal ve X-ışını arasındaki etkileşim değerlendirilmektedir. Kimyasal olarak her bir elementin kendine has atomik yapısı bulunmaktadır. Bu analiz, X- ışını kullanılarak bu atomik yapının karakteristik özelliklerinin diğler elementlerden ayrılması prensibine dayanmaktadır (Goldstein ve diğlereri, 2003).

SEM-EDX analizinde, değerlendirilecek olan örnek yüzeyine bir elektron demeti gönderilir. Bu elektron demetindeki yüksek enerjili elektronlar, incelenecek yapının yüzeyine çarptıklarında, bu yapıda bulunan elementlerin atomlarına enerji vererek elektronlarının daha yüksek enerji seviyesindeki yörüngeye geçmesine ya da elektronların atomdan kopmasına neden olur. Bu elektron geçişleri atomların yörüngelerinde bir boşluk yaratır. Bu boşluklar pozitif yüklüdür ve daha yüksek enerji seviyesindeki yöründe bulunan negatif yüklü elektronları çekerler. Bir elektron atom kararlılığını sağlamak için, yüksek enerjili yörüngeden daha düşük enerjili yörüngedeki boşluğu doldurmak üzere hareket ettiğinde fazla enerjisini X-ışınması olarak saçar. Elektronların yörüngeler arası geçişlerinden kaynaklanan X- ışınının karakteristik özelliği, incelenen yapının hangi element atomularını içerdii hakkında bilgi verir. Atomun saçtığı bu X- ışınları bir dedektör yardımıyla algılanır, kaydedilir. EDX ile elde edilen veriler bir yazılım kullanılarak, örnekteki farklı elementlere ait pikler içeren bir spektrum olarak gösterilir ve numunede hangi tip elementler olduğı ve bu elementlerin numunedeki konsantrasyonları nitel ve nicel olarak belirlenebilir (Smallman ve Ngan, 2014: 168-175).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, dentin remineralizasyonunda kullanılan ve Mineral Trioksit Agregat (MTA)'a göre daha hızlı sertleşen, trikalsiyum silikat esaslı materyaller remineralizasyon etkinlikleri yönünden karşılaştırıldı. Mikrosertlik değerlendirmeleri Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı bünyesinde bulunan araştırma laboratuvarında, Ca^{+2} miktarlarının belirlenmesi ve pH ölçümleri Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde, SEM ve SEM EDX değerlendirmeleri ise Gazi Üniversitesi Teknoloji Fakültesi, Metalürji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü'nde gerçekleştirildi. Çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 03/2017-17 kodlu 'Trikalsiyum silikat bazlı kaide materyallerinin dentinde remineralizasyon etkinliğinin değerlendirilmesi' isimli proje ile desteklendi.

3.1. Diş Örnek Sayısının Belirlenmesi

Yapılan power analizde örneklem genişliği Tip 1 hata 0,01 (%99 güven düzeyi), testin gücü 0,80 (0.20 Tip 2 hata) ve testin etki büyüklüğü 5,9 olarak alındı, deney gruplarında minimum 20 diş olacak şekilde hesaplandı. Kontrol grubu için örneklem genişliğinin minimum 16 olması gerektiği hesaplandı ancak, deney gruplarıyla standart oluşturmak için 20 örnek hazırlanmasına karar verildi.

3.2. Örneklerin Hazırlanması

Çalışma protokolü Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından incelendi ve etik onay alındı (Protokol no: 36290600-107). Çalışmada Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'nda, ortodontik sebeplerle çekilmiş olan, gelişimsel defekti bulunmayan, çekim esnasında kök ya da koronal bölgesinde çatlak, kırık gibi bir hasar oluşmamış 100 adet alt gömülü üçüncü büyük azı dişi kullanıldı. Dişler su altında temizlendikten sonra, çalışma için kullanılabilecek kadar %5'lik salin solüsyonu içerisinde 37°C'de bekletildi. Çalışmada kullanılacak dişler, koronal bölgeleri açıkta kalacak şekilde, mine-sement sınırına kadar soğuk akril (Melioden Heraeus, Hanau, Almanya) ile hazırlanan bloklara gömüldü (Resim 3.1.) Dişlerin okluzal

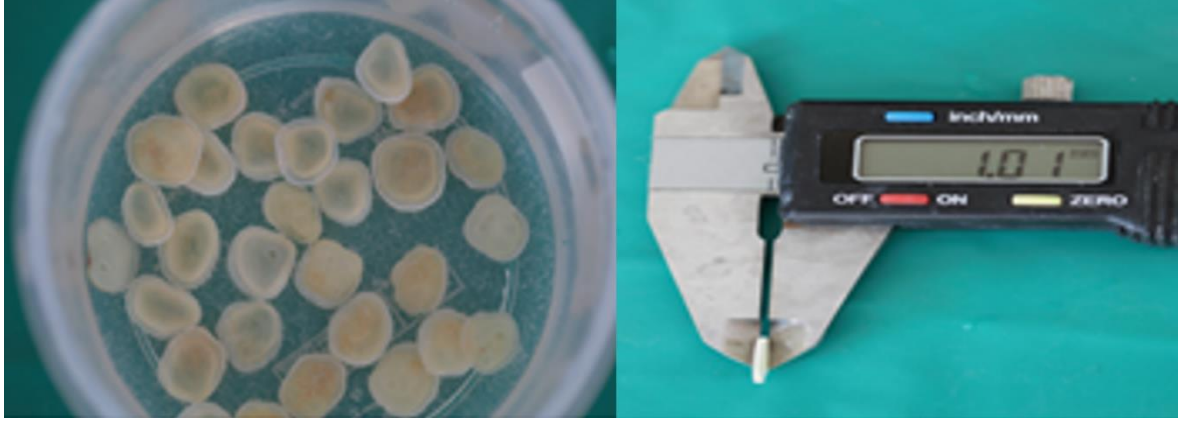
yüzeylerindeki mine tabakası kaldırıldıktan sonra, kesit alma cihazında (Mecatome, T 201 A Presi, Grenoble, Fransa) (Resim 3. 2.), su soğutması altında yüksek devirli elmas disk ile dişin uzun eksenine dik olacak şekilde iki kesi yapılarak, her bir dişten 1 adet olmak üzere, 5 ± 2 mm çapında ve $1,2 \pm 0,2$ mm kalınlığında dentin diskleri elde edildi (Resim 3.3.). Elde edilen dentin yüzeyleri, homojen ve standart bir smear tabakası oluşturmak amacıyla zımpara makinası (Mecapol, Presi p230, Grenoble, Fransa) (Resim 3.4.) kullanılarak, su soğutması altında sırasıyla 600, 800, 1000 ve 1200 grid'lik silikon karbit zımpara kağıtlar (Atlas, Lijian, Jiangsu, Çin) ile aşındırıldı. Aşındırılan yüzeyler renkli tırnak cilasıyla işaretlendi. Daha sonra örnekler ultrasonik temizleyicide distile su ile 5 dakika boyunca temizlendi.



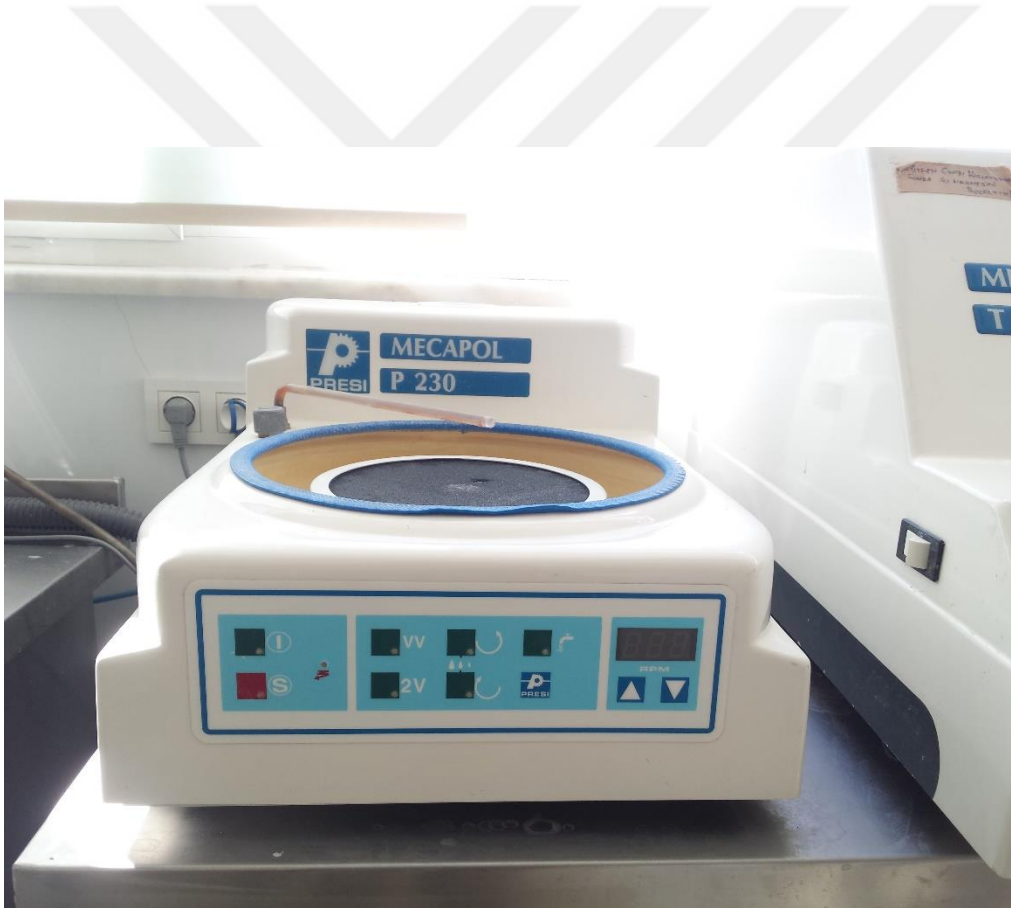
Resim 3.1. Dişlerin akrilik bloklara gömülmesi



Resim 3.2. Mecatome kesit alma cihazı



Resim 3.3. Elde edilen dentin kesitleri ve dentin kesitlerinin kalınlıklarının ölçülmesi



Resim 3.4. Mecapol zımpara makinesi

Örnekler remineralizasyon için kullanılacak materyallere göre Kontrol, Biodentine, TheraCal, Endocem MTA ve Retro MTA olmak üzere rastgele 5 gruba ayrıldı (n=20).

Çalışmada kullanılan birbirlerinden farklı içeriklere sahip materyaller (Biodentine, TheraCal LC, Endocem MTA ve Retro MTA) Resim 3.5.'de gösterilmiştir.



Resim 3.5. Çalışmada kullanılan (a) Biodentine, (b) TheraCal, (c) Endocem MTA ve (d) Retro MTA

Çalışmada kullanılan materyaller ve deney materyallerinin ürün içerikleri ve üretici firmalarına ait bilgiler Çizilge 3.1.'de gösterilmektedir.

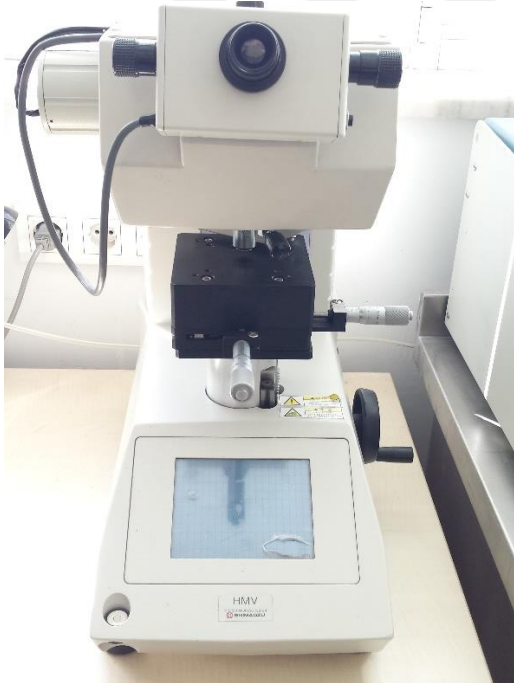
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan materyaller, üretici firmaları ve ürün içerikleri

Materyal	Üretici Firma	İçerik (Üretici Firmanın Bildirdiği)
Biodentine	Septodont, Fransa	Tri-kalsiyum silikat (C_3Si), Di-kalsiyum silikat (C_2Si), kalsiyum karbonat ve kalsiyum oksit, demir oksit, zirkon oksit, kalsiyum klorit, suda çözünebilen polimer
Theracal LC	Bisco, ABD	Ağırlıkça %45 mineral (Tip III portland çimentosu), %10 radyopak bileşen, %5 hidrofilik kalınlaştırıcı (işlenmiş silika), % 45 metakrilik rezin
Endocem MTA	Maruchi, Gangwon-do Güney Kore	Steril su ile karıştırılmış ağırlıkça %46,7 CaO, %5,43 Al_2O_3 , %12,80 SiO_2 , %3,03 MgO, %2,32 Fe_2O_3 , %2,36 SO_3 , %0,21 TiO_2 , %14,5 H_2O/CO_2 , ve %11,0 Bi_2O_3 ve pozzolan parçacıkları.
Retro MTA	Bio MTA, Seul, Güney Kore	%60-%80 Kalsiyum karbonat, %5-%15 silikon dioksit, %5-%10 alüminyum oksit, %20-%30 kalsiyum zirkonya kompleksi
Dulbecco's Fosfat tamponlu Salin Solusyonu (DPBS)	Sigma ALdrich, Darmstadt Almanya	136,4 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8.2 mM NaH_2PO_4 , 1,25 mM KH_2PO_4 (pH 7.4)
Ortodontik lastik	Xtreme elastics, McMinville, ABD	1/4" Medium
Bluephase 20i	Ivoclar Vivadent Schaan, Lihtenştayn	1,200 mW/cm ² 20 sn
Werax EDTA	, Spot Diş Deposu, İzmir, Türkiye	% 17'lik etilen diamin tetra asetik asit solusyonu

Her gruptan 18 adet örnek Vickers mikrosertlik testleri, 2 adet örnek ise SEM ve SEM-EDX deęerlendirilmesi iin kullanıldı. Ca^{+2} salım ve pH deęerlendirmeleri, 20 numunenin tamamının bekletme solüsyonları (DPBS) deęerlendirilerek yapıldı.

3.3. Vickers Mikrosertlik Ölümleri

Her gruptaki 18 örneęe, demineralizasyon işlemleri öncesinde, Vickers mikrosertlik ölçümleri yapıldı. SEM-EDX analizi iin ayrılan 2 örneęe mikrosertlik ölçümleri uygulanmadı. Demineralizasyon öncesi Vickers mikrosertlik (v1) testi iin, numunelerin silikon-karbid zımparalar ile aşındırılan ve işaretlenen yüzeyleri Vickers indentörüne bakacak şekilde, Vickers mikrosertlik cihazına (Shimadzu Micro Hardness Tester, HMV-2 HMV-700, Shimadzu Corp., Japonya) (Resim 3.6.) yerleştirildi. Örneklere 20 sn boyunca, 25 gr yük uygulanarak, her bir örnekten üç farklı noktadan ve numune kenarlarına ve birbirlerine mesafeleri en az 200µm olacak şekilde üçer ölçüm yapıldı ve bu üç ölçümün ortalaması VHN1 olarak kaydedildi.



Resim 3.6. Vickers mikrosertlik ölçüm cihazı

Demineralizasyon işlemi için her bir örnek, içerisinde 15 ml % 17 etilen diamin tetraasetik asit (EDTA, Werax, Spot Diş Deposu, İzmir, Türkiye) solüsyonu bulunan 50 ml'lik kapaklı test tüpleri içerisine yerleştirildi ve 37°C'lik etüvde 2 saat bekletildi. 2 saat sonunda örnekler test tüplerinden çıkartılarak distile su ile yıkandı. Demineralizasyon işlemi sonrası Vickers mikrosertlik ölçümleri (v2) daha önceden mikrosertlik testi için ayrılmış numunelerin işaretlenmiş olan üst yüzeylerine 30 sn boyunca, 25 gr yük uygulanarak v1'deki ölçüme benzer şekilde yapıldı ve her örnek için üç ölçümün ortalaması VHN 2 olarak kaydedildi.

Örneklere çalışma gruplarına uygun olacak şekilde remineralizasyon işlemleri aşağıdaki şekilde uygulandı:

Kontrol (n=20)

Kontrol grubunda bulunan her bir örnek, içerisinde 15 ml kalsiyum ve magnezyum içermeyen Dulbecco's Fosfat Tamponlama Solüsyonu (DPBS), (Sigma Aldrich, Darmstadt, Almanya) bulunan 50 ml'lik kapaklı test tüplerine yerleştirildi ve karanlık ortamda 1 hafta bekletilmek üzere 37°C'lik etüve yerleştirildi.

Remineralizasyon materyallerinin uygulandığı gruptaki örneklerde standardizasyonu sağlamak için materyaller 8 mm çapında ve 2 mm yüksekliğinde PVC halkalar içerisine yerleştirildi.

Biodentine (n=20):

Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, Fransa), üretici firma talimatları doğrultusunda, kapsül içerisindeki toza, 5 damla kalsiyum klorür içeren sıvı damlatılarak ve kapsül 4200 devir/dakika hızda karıştırma yapan amalgamatör (TAC-400M, LINEA TAC S.R.L, Montegrosso d'Asti, İtalya) ile 30 sn karıştırılarak hazırlandı. Karıştırılmış olan materyal, yine ürün paketi içerisinde bulunan spatül vasıtasıyla, steril bir cam üzerine yerleştirilmiş olan 8 mm çapında ve 2 mm yüksekliğinde PVC halkalar içerisine yerleştirildi (Resim 3.7.(a)). Materyalin nihai sertleşmesini sağlamak için 15 dakika beklendi. PVC halkalar içerisinde sertleşen materyal, dentin örneklerinin yüzeylerine yerleştirildi ve sıkı bir temas sağlamak için,

2 adet ortodontik lastik (Xtreme elastics, McMinnville, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak sabitlendi (Resim 3.7.(b)) Daha sonra numuneler, her birinde 15 ml kalsiyum ve magnezyum içermeyen DPBS bulunan kapaklı test tüpleri içerisine, her tüpte 1 örnek olacak şekilde yerleştirildi (Resim 3.7.(c)) ve 37 °C'lik etüvde 1 hafta bekletildi.



Resim 3.7. (a) Dentin kesiti ve PVC halka içerisinde hazırlanan deney materyalleri, (b) Dentin kesiti ve deney materyalinin ortodontik lastik kullanılarak sıkı temasının sağlanması, (c) Dentin kesiti ve materyal diskinin 15 ml DPBS içinde yerleştirilmesi

Theracal (n=20):

TheraCal LC (Bisco Inc, Schaumburg, IL, Amerika Birleşik Devletleri), steril cam üzerine yerleştirilen 8 mm çapında ve 2 mm kalınlığında PVC kalıplar içerisine üretici talimatlarına göre 1 mm'lik tabakalar halinde 2 seferde yerleştirildi ve her tabakaya LED ışık cihazıyla (Bluphase 20i ,Ivoclar Vivadent, Schaan , Lihtenştayn) 20 sn boyunca ışık uygulandı. PVC halkalar içerisinde polimerize edilen materyal, dentin örneklerinin yüzeylerine PVC halka ile birlikte yerleştirildi ve sıkı bir temas sağlamak için, 2 adet ortodontik lastik kullanılarak sabitlendi. Daha sonra numuneler her birinde 15 ml kalsiyum ve magnezyum içermeyen DPBS bulunan kapaklı test tüpleri içerisine, her tüpte 1 örnek olacak şekilde yerleştirildi ve 37 °C'lik etüvde 1 hafta bekletildi.

Endocem MTA (n=20):

Endocem MTA (Maruchi, Gangwon-do, Güney Kore), üretici talimatlarına göre 300 mg toz, 0,12 cc fizyolojik salin ile steril bir ağız spatülüyle karıştırılarak hazırlandı. Karışım, steril cam üzerine yerleştirilen 8 mm çapında ve 2 mm kalınlığında PVC

kalıplar içerisine taşındı ve 4 dakika süreyle materyalin sertleşmesi beklendi. Daha sonra PVC halkalar içerisinde sertleşen materyal, dentin örneklerinin yüzeylerine yerleştirildi ve sıkı bir temas sağlamak için, 2 adet ortodontik lastik kullanılarak sabitlendi. Daha sonra numuneler, her birinde 15 ml kalsiyum ve magnezyum içermeyen DPBS bulunan kapaklı test tüpleri içerisine, her tüpte 1 örnek olacak şekilde yerleştirildi ve 37 °C'lik etüvde 1 hafta bekletildi.

Retro MTA (n=20):

Retro MTA (BioMTA, Seul, Güney Kore) üretici talimatlarına göre, 0,3 gr toz, paket içerisindeki 3 damla deiyonize su ile 20 sn boyunca plastik bir spatül ile karıştırılarak hazırlandı. Karıştırma sırasında parlak yüzey oluşmaya başladığında, steril cam üzerine yerleştirilen 8 mm çapında ve 2 mm kalınlığında PVC kalıplar içerisine taşındı ve 150 saniye süreyle materyalin sertleşmesi beklendi. Daha sonra PVC halkalar içerisinde sertleşen materyal, dentin örneklerinin yüzeylerine yerleştirildi ve sıkı bir temas sağlamak için, 2 adet ortodontik lastik kullanılarak sabitlendi. Daha sonra numuneler her birinde 15 ml kalsiyum ve magnezyum içermeyen DPBS bulunan kapaklı test tüpleri içerisine, her tüpte 1 örnek olacak şekilde yerleştirildi ve 37 °C'lik etüvde 1 hafta bekletildi.

Remineralizasyon işlemi sonrası Vickers ölçümleri (v3) daha önceden mikrosertlik testi için ayrılmış olan numunelerin işaretlenmiş olan üst yüzeylerine 30 sn boyunca, 25 gr yük uygulanarak v1 ve v2'deki ölçümlere benzer olarak yapıldı ve her örnek için üç ölçümün ortalaması VHN 3 olarak kaydedildi.

3.4. Kalsiyum İyon Salım Miktarının Ölçülmesi

Deney ve kontrol gruplarındaki örnekler 1 hafta boyunca 37°C'lik etüvde kalsiyum ve magnezyum içermeyen DPBS içerisinde bekletildikten sonra, kontrol grubunda yalnızca dentin kesitleri, diğer gruplarda materyallerle birlikte dentin kesitleri test tüpleri içerisinden çıkartıldı ve DPBS solüsyonu içerisine materyallerden salınan Ca^{+2} iyon konsantrasyonu, kalsiyum tayini için üretici önerileri doğrultusunda döteryum lambalı arka plan düzeltici, kalsiyum oyuk katod lambası ve atomizer olarak hava-asetilen alevi donanımlı Varian AA240FS modeli (Varian Inc., Palo Alto,

CA, USA) (Resim 3.8.) alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi ile belirlendi. Cihazın dalga boyu, ampül akımı, yarık genişliği, ve asetilen akım oranı sırasıyla 422,7 nm, 5 mA, 0.5 mm ve 2 L/dk'dır



Resim 3.8. Varian AA240FS Ca^{+2} salım ölçüm cihazı

3.5. Deney Materyallerinin Alkalizasyon Potansiyellerinin Değerlendirilmesi

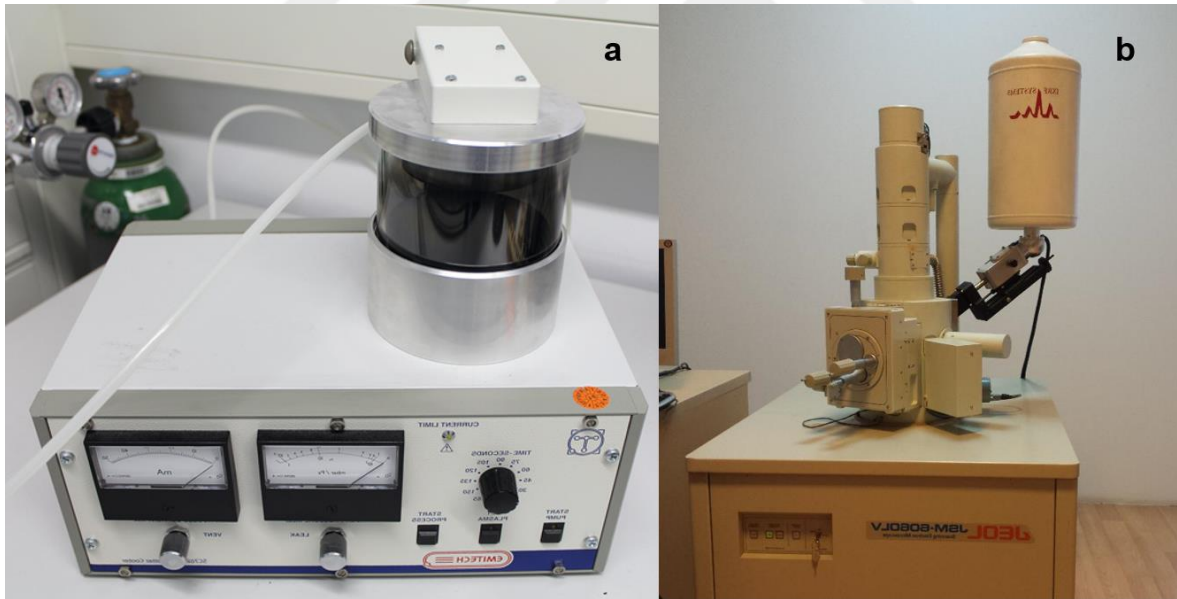
Örnekler 1 hafta boyunca 37°C 'lik etüvde kalsiyum ve magnezyum içermeyen DPBS içerisinde bekletildikten sonra, kontrol grubunda yalnızca dentin kesitleri, diğer gruplarda materyallerle birlikte dentin kesitleri test tüpleri içerisinde çıkartıldı. DPBS solüsyonunun pH'sı bir pH metre (HI 9321, Hanna Instrument, , Vila do Conde, Portekiz) (Resim 3.9.) kullanılarak ölçüldü. pH metrenin ucu, her ölçüm öncesinde pH'sı 9,21; 7,0 ve 4,01 olan solüsyonlar içerisinde daldırılarak kalibre edildi. Her ölçümden sonra elektrod distile su ile yıkanıp, kurutuldu.



Resim 3.9. pH metre cihazı

3.6. SEM, SEM-EDX Analizi

Çalışmamızda remineralizasyonu değerlendirmek için, her gruptan çalışma başlangıcında rastgele seçilmiş ve SEM, SEM-EDX analizi için ayrılmış 2'şer örnekten, yüzey değişikliklerinin incelenmesi ve mineral miktarındaki değişimin saptanması amacıyla çeşitli büyütmelerde SEM görüntüleri alındı. Bu iki örneğin mineral miktarını nicel olarak saptamak için SEM-EDX elemental analizi yapıldı. SEM ve SEM-EDX analizleri için Kontrol grubunda örneğin kendisi, diğer gruplarda materyaller yüzeyden uzaklaştırıldıktan sonra kalan dentin kesitleri kurutuldu ve vakum kaplama cihazı (Polaron SC502, Quorum Technologies, UK) kullanılarak altın-palladyum ile kaplandı (JSM- 6060 LV JEOL, Tokyo, Japonya) (Resim 3.10.(a)). Düşük vakum modunda (45 Pa), 25 kV'de çalışılarak SEM-EDX cihazı (SEM-JOEL 6060 LV EDS IXRF, ABD) (Resim 3.10.(b)) ile yüzeyler incelendi ve elemental analiz yapıldı.



Resim 3.10. (a) Altın kaplama cihazı, (b) SEM-EDX cihazı

SEM-EDX grafiklerinde, elementlere ait yoğunluklar ağırlık yüzdesi şeklinde verilmiştir. Ağırlık yüzdesi, ilgili elementin 100 gr'lık numunedeki miktarını göstermektedir. Ağırlık yüzdesi olarak elde edilen bu değerlerden, elementlerin atomik ağırlıkları ve Avogadro sabiti kullanılarak, bu ağırlık değerlerinde, ilgili elemente ait atom sayısı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

$n_{1,2,3,.....}(\text{Elementin ağırlık yüzdesindeki atom sayısı}) = (\text{Elementin ağırlık yüzdesi} \times \text{Avogadro Sabiti}) / \text{Elementin atomik ağırlığı}$

Bu formülde Avogadro Sabiti= $6,022 \times 10^{23}$ olarak alındı. EDX analizinde ağırlık yüzdeleri çıkan her bir elementin, atom sayıları bulunduktan sonra, bütün elementlerin atom sayıları toplamının %100 olduğu kabul edilerek, bu elementlerin atomik yüzdelik dilimleri hesaplanmıştır.

Örneklerin Ca/P oranları, Ca ve P için hesaplanan bu atomik yüzdeleri oranlanarak bulundu.

3.7. İstatistiksel Analiz

Shapiro Wilk's testi ($p>0.05$), bunların histogramları ve q-q plotlarının görsel incelemesinde Vickers sertlik değerleri, pH ve Ca^{+2} salım değerlerinin normal dağılım gösterdiği, Skewness ve Kurtosis Z-değerlerinin -1.96 ila +1.96 aralığında olduğu belirlendi. Bu nedenle grupların Vickers sertlik değerleri, pH ve Ca^{+2} salım değerlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve çoklu karşılaştırmalarda Tukey HSD testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında trikalsiyum silikat içerikli Biodentine, Theracal LC, Endocem MTA ve Retro MTA'nın demineralize dentinin remineralizasyonundaki etkinlikleri mikrosertlik, Ca^{+2} salım, pH değişimi ve SEM, SEM-EDX analizleri ile değerlendirilmiştir.

4.1. Vickers Mikrosertlik Bulguları

Gruplardan elde edilen Vickers sertlik verilerinin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1'de verilmiştir. Bu verilere göre dentin numuneleri hazırlandıktan sonra yapılan ilk sertlik ölçümleri sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p=0,088$)

Numunelere EDTA uygulandıktan sonra yapılan, demineralizasyon sonrası ikinci sertlik ölçümleri sonuçları incelendiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmektedir ($p=0,003$). Bu verilere göre en yüksek mikrosertlik değeri, Kontrol grubunda ($56,54 \pm 4,05$ VHN), en düşük mikrosertlik değeri ise Theracal grubunda ($50,60 \pm 4,91$ VHN) bulunmuştur (Şekil 4.2.)

Remineralize edici ajan uygulamasından sonra yapılan üçüncü sertlik ölçümleri sonuçları incelendiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğu ($p=0.000$), en yüksek mikrosertlik değerinin Biodentine grubunda ($73,52 \pm 8,42$ VHN), en düşük mikrosertlik değerinin ise Kontrol grubunda ($50,05 \pm 4,41$ VHN) olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3.).

Çizelge 4.1. Grupların başlangıç (v1), EDTA uygulaması sonrası (v2) ve remineralize edici ajan uygulaması sonrası (v3) Vickers mikrosertlik ölçüm değerleri (VHN)

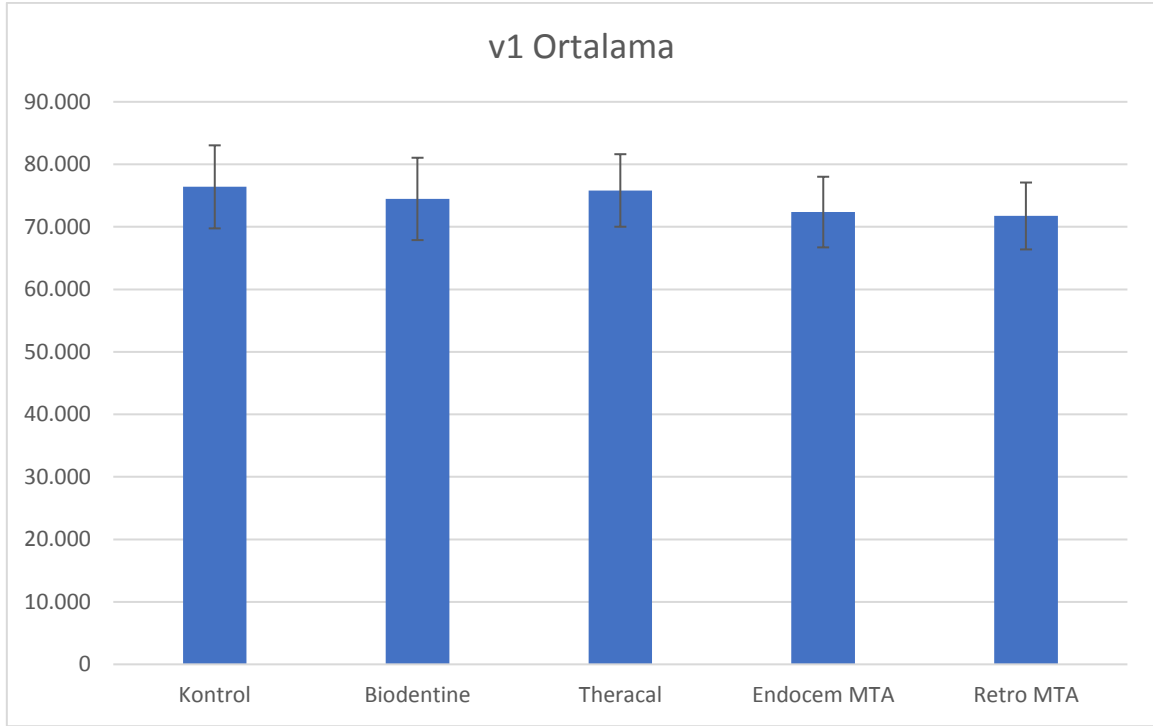
	v1 (VHN 1)	v2 (VHN 2)	v3 (VHN 3)
	Ortalama ± Standard Sapma	Ortalama±Standard Sapma	Ortalama±Standard Sapma
Kontrol	76,39a ± 6,64	56,54a±4,05	50,05a±4,41
Biodentine	74,46a ± 6,58	50,96b±6,51	73,52b±8,42
Theracal	75,82a±5,80	50,60b±4,91	70,97b±7,24
Endocem MTA	72,36a±5,65	52,26ab±5,02	69,56b±7,89
Retro MTA	71,73a±5,35	51,88b±2,93	69,36b±4,85
	P=0,088	P=0,003	P=0,000

*Yukarıdan aşağıya farklı harfler gruplar arasındaki farkı ifade etmektedir

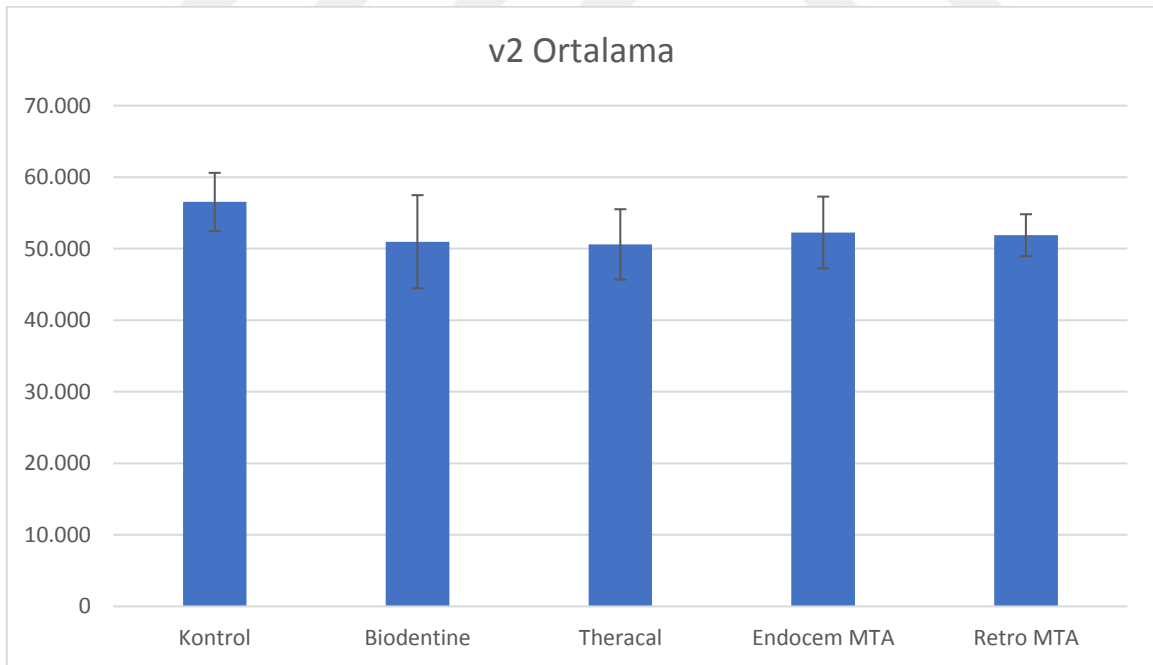
v1: Dentin kesitleri elde edildikten sonraki Vicker's sertlik değerleri

v2: 2 saat boyunca %17'lik EDTA solüsyonunda bekletildikten sonraki demineralize edilen dentin kesitlerinin Vickers sertlik değerleri

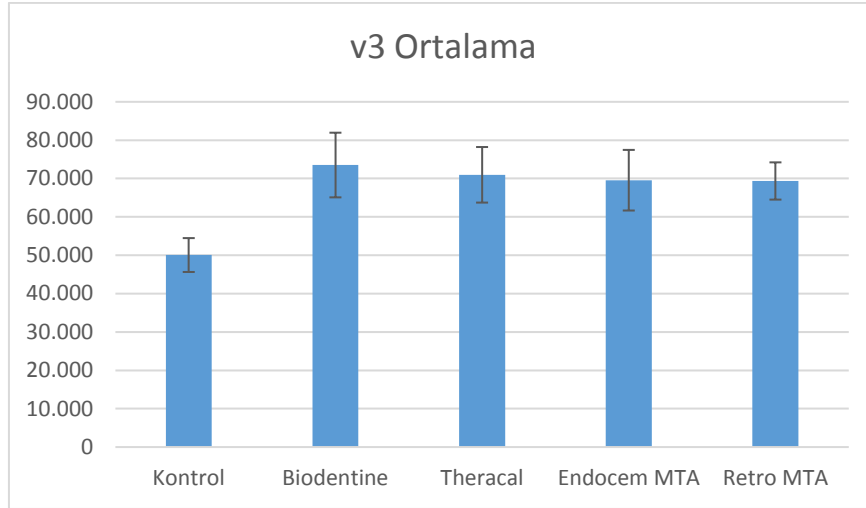
v3: 7 gün boyunca Dulbecco's fosfat tamponlama solüsyonunda remineralize edici ajanlarla bekletildikten sonraki Vicker's sertlik değerleri



Şekil 4.1. Dentin kesitleri elde edildikten hemen sonraki Vickers sertlik değerleri (v1)



Şekil 4.2. 2 saat boyunca %17'lik EDTA solüsyonunda bekletilerek demineralize edilen dentin kesitlerinin Vicker's sertlik değerleri (v2)



Şekil 4.3. 7 gün boyunca Dulbecco's fosfat tamponlama solüsyonunda remineralize edici ajanlarla bekletilen örneklerin Vickers sertlik değerleri (v3)

v1, v2 ve v3 ölçümleri sonuçlarının Tukey HSD çoklu karşılaştırma sonuçları sırasıyla Çizelge 4.2., Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Buna göre grupların v1 Vickers mikrosertlik ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. v1 ölçümlerinin Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları

v1	Kontrol	Biodentine	Theracal	Endocem MTA	Retro MTA
Kontrol	-	0,872	0,998	0,272	0,150
Biodentine	0,872	-	0,962	0,833	0,657
Theracal	0,998	0,962	-	0,428	0,261
Endocem MTA	0,272	0,833	0,428	-	0,998
Retro MTA	0,150	0,657	0,261	0,998	-

Grupların v2 Vickers mikrosertlik sonuçları karşılaştırıldığında Kontrol ve Biodentine ($p=0,007$), Kontrol ve Theracal ($p=0,004$), Kontrol ve Retro MTA ($p=0,038$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görülmektedir. Kontrol grubu ve Endocem MTA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p=0,069$) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. v2 ölçümlerinin Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları

v2	Kontrol	Biodentine	Theracal	Endocem MTA	Retro MTA
Kontrol	-	0,007*	0,004*	0,069	0,038*
Biodentine	0,007*	-	0,999	0,929	0,979
Theracal	0,004*	0,999	-	0,842	0,932
Endocem MTA	0,069	0,929	0,842	-	0,999
Retro MTA	0,038*	0,979	0,932	0,999	-

*Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

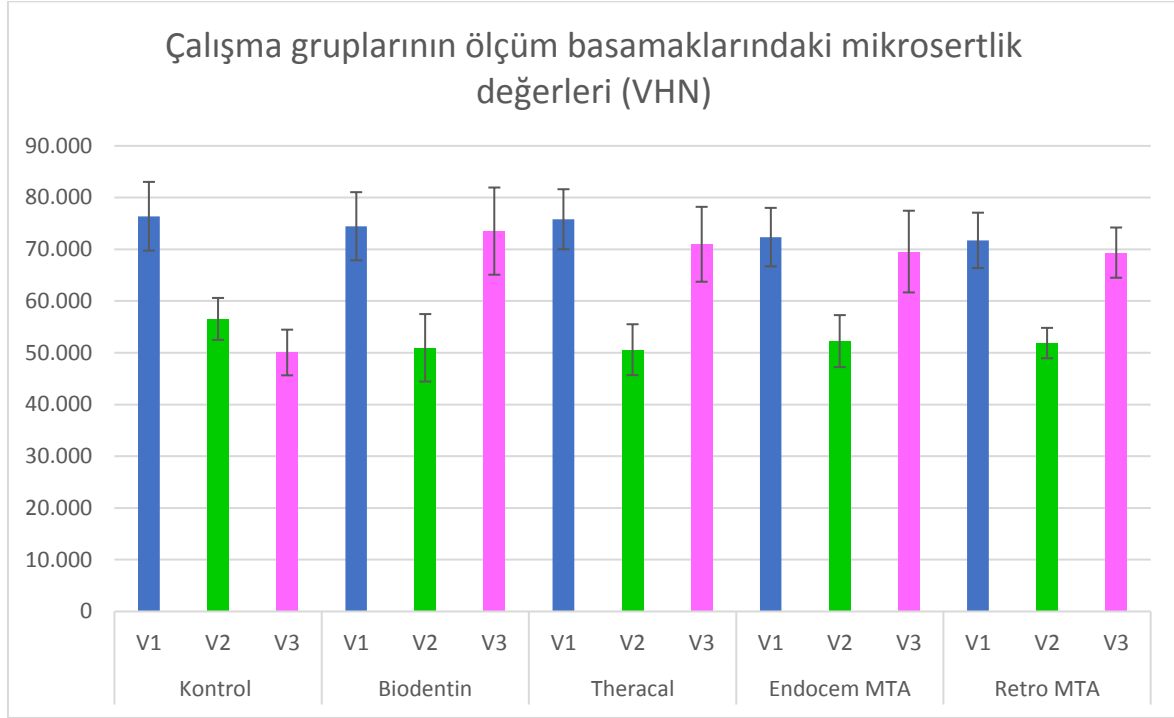
Grupların v3 Vickers mikrosertlik sonuçları karşılaştırıldığında Kontrol grubu ile tüm deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken ($p=0,000$), deney grupları birbirleriyle kıyaslandıklarında anlamlı farklılık bulunmadığı ($p>0,05$) gözlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. v3 ölçümlerinin Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları

v3	Kontrol	Biodentine	Theracal	Endocem MTA	Retro MTA
Kontrol	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Biodentine	0,000*	-	0,791	0,408	0,357
Theracal	0,000*	0,791	-	0,971	0,953
Endocem MTA	0,000*	0,408	0,971	-	1,000
Retro MTA	0,000*	0,357	0,953	1,000	-

* Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir

Tüm grupların başlangıç (v1), EDTA uygulaması sonrası (v2) ve remineralize edici ajan uygulaması sonrasındaki Vickers mikrosertlik değerleri Şekil 4.4'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Çalışma gruplarının demineralizasyon öncesi (v1), %17 EDTA ile demineralizasyonları sonrası (v2) ve 7 gün DPBS içerisinde bekletme sonrasındaki (v3) Vickers mikrosertlik sonuçları

Ölçüm basamaklarındaki Vickers mikrosertlik değerlerinin birbirleriyle karşılaştırılmasında eşleştirilmiş t-testi kullanılmıştır. Eşleştirilmiş t-testi sonuçları Çizelge 4.5.'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. v1, v2 ve v3 için eşleştirilmiş t-testi

	v1-v2		v1-v3		v2-v3	
Kontrol	76,39	56,54	76,39	50,05	56,54	50,05
	0,000*		0,000*		0,000*	
Biodentine	74,46	50,96	74,46	73,52	50,96	73,52
	0,000*		0,550		0,000*	
Theracal	75,82	50,60	75,82	70,97	50,60	70,97
	0,000*		0,008*		0,000*	
Endocem MTA	72,36	52,26	72,36	69,56	52,26	69,56 ^b
	0,000*		0,130		0,000*	
Retro MTA	71,73	51,88	71,73	69,36	51,88	69,36
	0,000*		0,083		0,000*	

*Ölçüm değerleri arasındaki istatistiksel anlamlı farkı ifade etmektedir

Kontrol grubunda tüm ölçüm zamanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$).

Biodentine grubunda ise v1-v2 ve v2-v3 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p = 0,000$) , v1-v3 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı ($p = 0,550$) gözlenmiştir. Theracal grubunda v1-v2, v1-v3 ve v2-v3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğu (sırasıyla $p = 0,000$; $0,008$; $0,000$) gözlenmiştir. Endocem MTA grubunda v1-v2 ve v2-v3 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p = 0,000$) , v1-v3 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı ($p = 0,130$) gözlenmiştir.

Retro MTA grubunda v1-v2 ve v2-v3 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p=0,000$), v1-v3 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı ($0,083$) gözlenmiştir.

4.2. Kalsiyum İyon Salım Miktarı

Grumlardan elde edilen Ca^{+2} salım ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.6. ve Şekil 4.5'de verilmiştir. Bu verilere göre grupların Ca^{+2} salım değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görülmektedir ($p=0,000$).

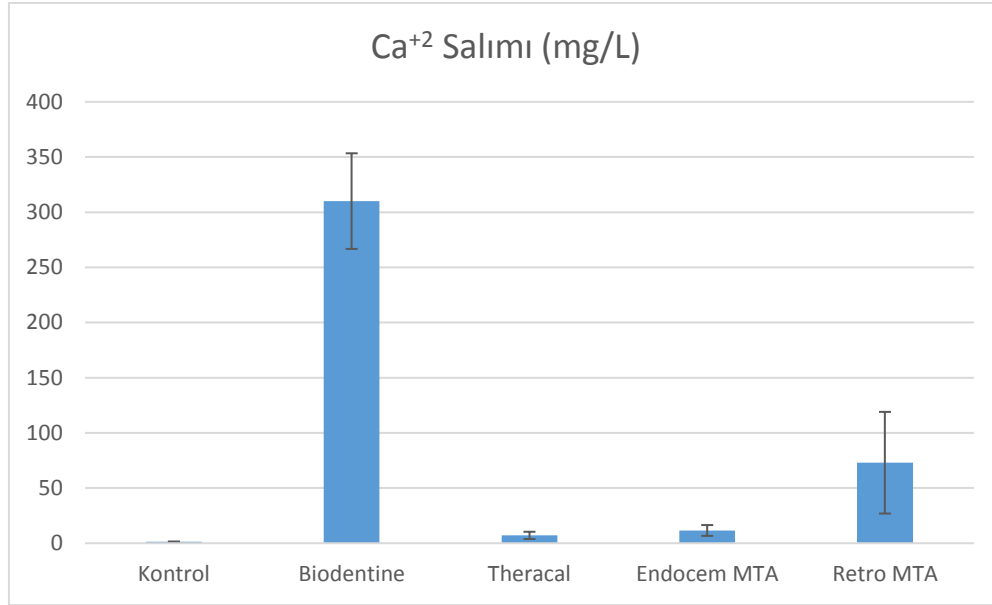
Çizelge 4.6. Grupların Ca^{+2} salım ölçümleri (mg/L)

	Ortalama±Standard Sapma (mg/L)
Kontrol	1,35 ^a ±0,26
Biodentine	310,03 ^b ±43,33
Theracal	7,12 ^a ±3,27
Endocem MTA	11,57 ^a ±4,89
Retro MTA	72,98 ^c ±46,06
	$p=0,000$

*Yukarıdan aşağıya farklı küçük harfler gruplar arası istatistiksel anlamlı farkı ifade etmektedir.

Gruplar arasında en düşük Ca^{+2} salım değeri Kontrol grubunda (1,35 mg/L), en yüksek Ca^{+2} salım değeri ise Biodentine grubunda (310,03 mg/L) gözlenmiştir. Bunu sırasıyla Retro MTA (72,94 mg/L), Endocem MTA (11,57 mg/L) ve Theracal (7,12 mg/L) grupları izlemektedir.

Grupların çoklu karşılaştırmalarında Kontrol-Theracal ($p=0,975$), Kontrol-Endocem MTA ($p=0,819$) ve Theracal-Endocem MTA ($p=0,991$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı, diğer grupların tümünün çoklu karşılaştırılmalarında anlamlı farklılık olduğu ($p=0,000$) bulunmuştur (Çizelge 4.7.).



Şekil 4.5. Ca²⁺ salım ortalama ve standart sapma değerleri (mg/L)

Çizelge 4.7. Çalışma gruplarının Ca²⁺ salım çoklu karşılaştırma sonuçları

	Kontrol	Biodentine	Theracal	Endocem MTA	Retro MTA
Kontrol	-	0,000*	0,975	0,819	0,000*
Biodentine	0,000*	-	0,000*	0,000*	0,000*
Theracal	0,975	0,000*	-	0,991	0,000*
Endocem MTA	0,819	0,000*	0,991	-	0,000*
Retro MTA	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-

*Gruplar arasında Ca²⁺ salım değerleri açısından istatistiksel anlamlı farklılığı ifade etmektedir

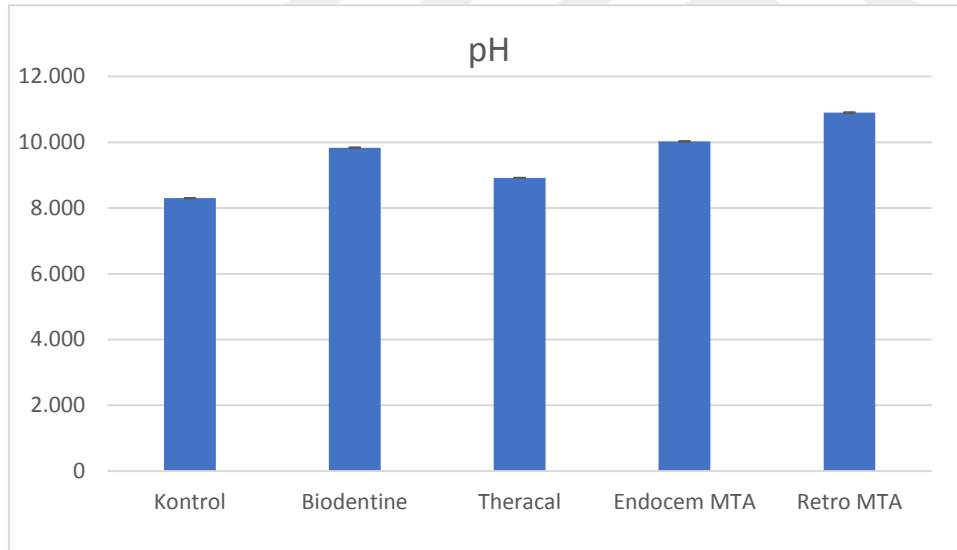
4.3. pH Ölçümleri

Kontrol ve deney grubundaki örneklerin, 7 gün süresince DPBS içerisinde bekletilmeleri sonrasında, bekletme solüsyonlarının pH değerlerinin ortalama ve standart sapma sonuçları Çizelge 4.8 ve Şekil 4.6'de verilmiştir. Bu değerlere göre grupların pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görülmüştür (p=0.000).

Çizelge 4.8. Grupların pH ölçüm değerleri (ortalama $\pm$ standart sapma)

	Ortalama $\pm$ Standard Sapma
Kontrol	8,29 ^a $\pm$ 0,11
Biodentine	9,83 ^c $\pm$ 0,25
Theracal	8,91 ^b $\pm$ 0,10
Endocem MTA	10,02 ^c $\pm$ 0,08
Retro MTA	10,90 ^d $\pm$ 0,35
	p=0,000

*Yukarıdan aşağıya farklı küçük harfler gruplar arası istatistiksel anlamlı farklılığı ifade etmektedir



Şekil 4.6. Çalışma gruplarının pH değerlerinin ortalama ve standart sapma verileri

Gruplar arasında en düşük pH değeri Kontrol grubunda (pH=8,29 $\pm$ 0,11), en yüksek pH değeri ise Retro MTA grubunda (pH=10,90 $\pm$ 0,35) gözlenmiştir. Bunu sırasıyla Endocem MTA (pH=10,02 $\pm$ 0,08), Biodentine (pH=9,83 $\pm$ 0,25) ve Theracal (pH=8,91 $\pm$ 0,10) grupları izlemektedir.

Grupların çoklu karşılaştırmalarında yalnızca Biodentine-Endocem MTA grupları arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı (p=0.068), diğer grupların tümünün

çoklu karşılaştırılmalarında anlamlı farklılık bulunduğu ($p=0.000$) gözlenmiştir (Çizelge 4.9.).

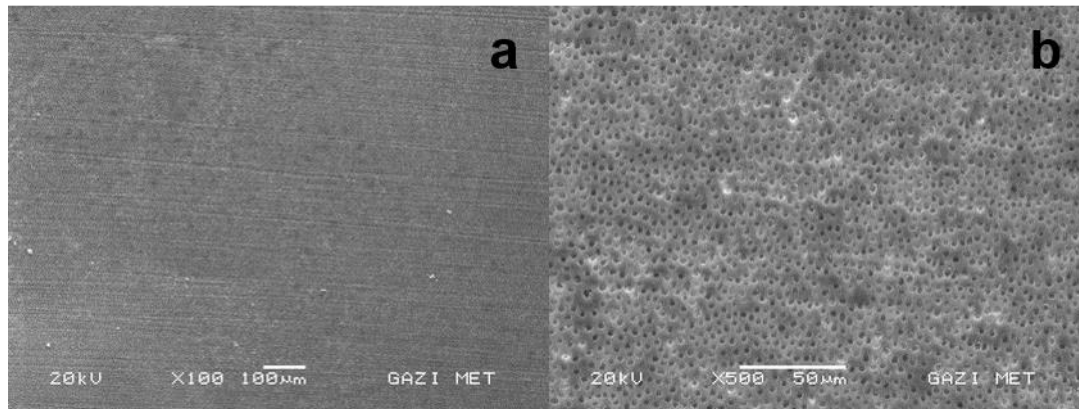
Çizelge 4.9. Çalışma gruplarının pH ölçümlerinin çoklu karşılaştırma sonuçları

	Kontrol	Biodentine	Theracal	Endocem MTA	Retro MTA
Kontrol	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Biodentine	0,000*	-	0,000*	0,068	0,000*
Theracal	0,000*	0,000*	-	0,000*	0,000*
Endocem MTA	0,000*	0,068	0,000*	-	0,000*
Retro MTA	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-

*Gruplar arasında pH değerleri açısından istatistiksel anlamlı farklılığı ifade etmektedir

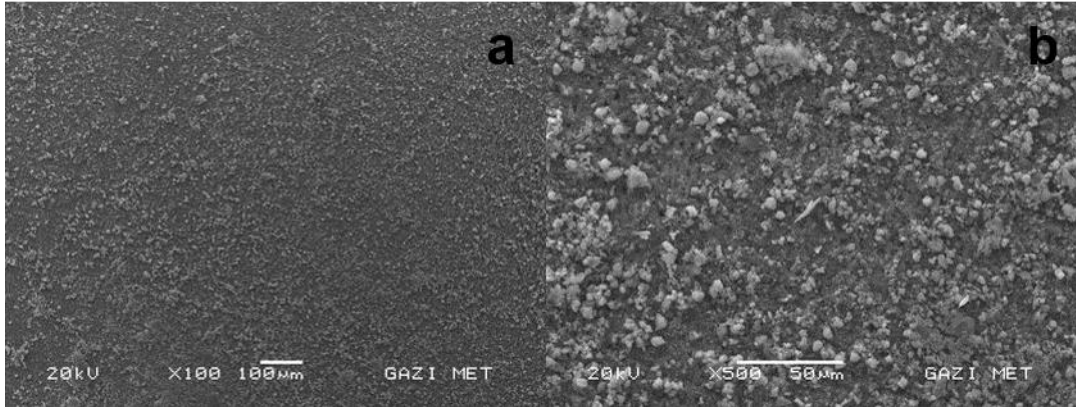
4.4. SEM Değerlendirmesi

Kontrol grubundan alınan X100 ve X500 büyütmeli SEM fotoğrafları Resim 4.1.'de verilmiştir. Elde edilen görüntüler incelendiğinde, %17'lik EDTA uygulamasından sonra herhangi bir materyal uygulaması yapılmadan, 7 gün boyunca DPBS'de bekletilen Kontrol grubu örneklerinin yüzeylerinde dentin tübül ağzlarının tamamen açık olduğu izlenmekte ve herhangi bir remineralizasyon belirtisi gözlenmemiştir (Resim 4.1).



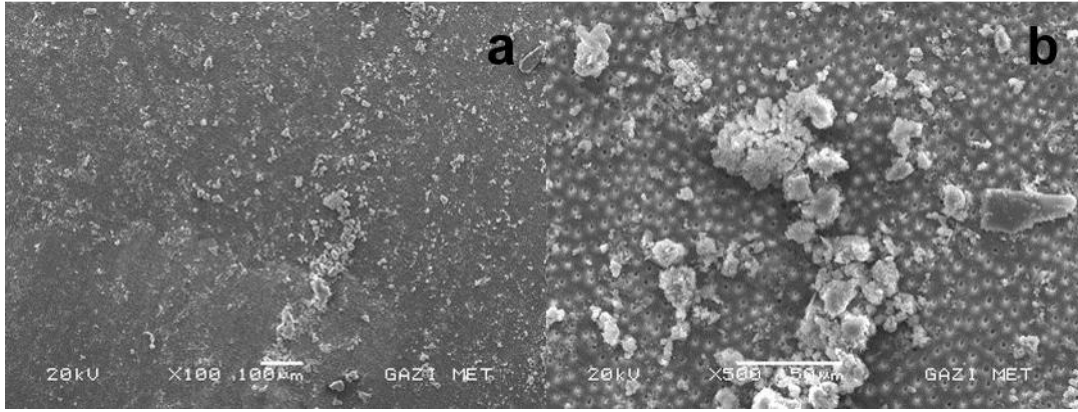
Resim 4.1. Kontrol grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları

Biodentine grubundan alınan X100 ve X500 büyütmeli SEM fotoğrafları Resim 4.2.'de verilmiştir. Biodentine grubundan elde edilen SEM görüntüleri incelendiğinde %17'lik EDTA uygulaması sonrasında, yüzeyine Biodentine yerleştirilerek 7 gün süreyle DPBS solüsyonunda bekletilen örneklerin, Biodentine uzaklaştırıldıktan sonra yüzeylerinin neredeyse tamamının küresel, asiküler, talaş formundaki farklı konfigürasyonlar içeren kalın bir tabaka çökeltiyle kaplı olduğu görülmüştür.



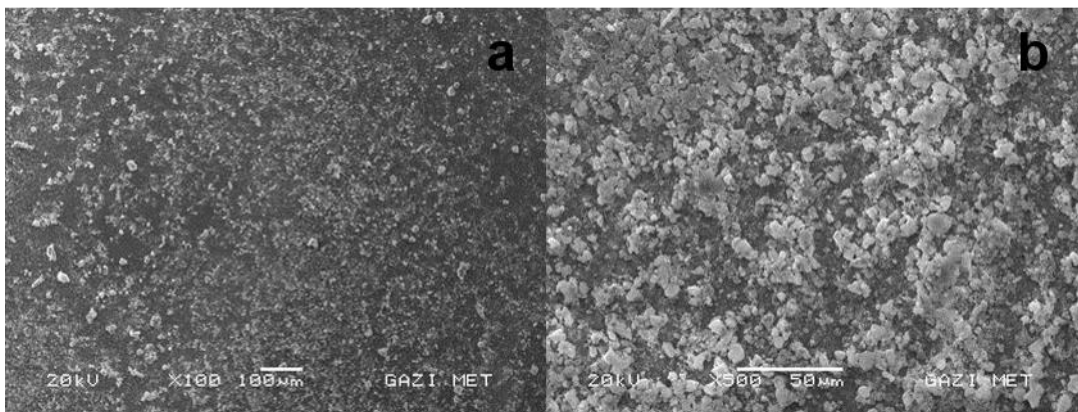
Resim 4.2. Biodentine grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları

Theracal grubundan alınan X100 ve X500 büyütmeli SEM fotoğrafları Resim 4.3.'de verilmiştir. Theracal grubundan elde edilen SEM görüntüleri incelendiğinde, %17'lik EDTA uygulaması sonrasında, yüzeyine Theracal uygulanarak 7 gün süreyle DPBS solüsyonunda bekletilen örneklerin, Theracal uzaklaştırıldıktan sonra yüzeylerinde Biodentine grubundaki görüntülere göre belirgin oranda az miktarda çökelti oluşumu gözlenmiştir. Dentin tübüllerinin bir kısmının ağızları kontrol grubunda izlenmiş olan görüntülere kıyasla tıkanmış olmasına karşın, dentin tübüllerinin pek çoğunun açık olduğu izlenmiştir. Yüzeyde oluşan çökeltinin, romboidal kümelerin kenarları boyunca, küresel, asiküler ve iğ benzeri yapıda olduğu gözlenmiştir.



Resim 4.3. Theracal grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları

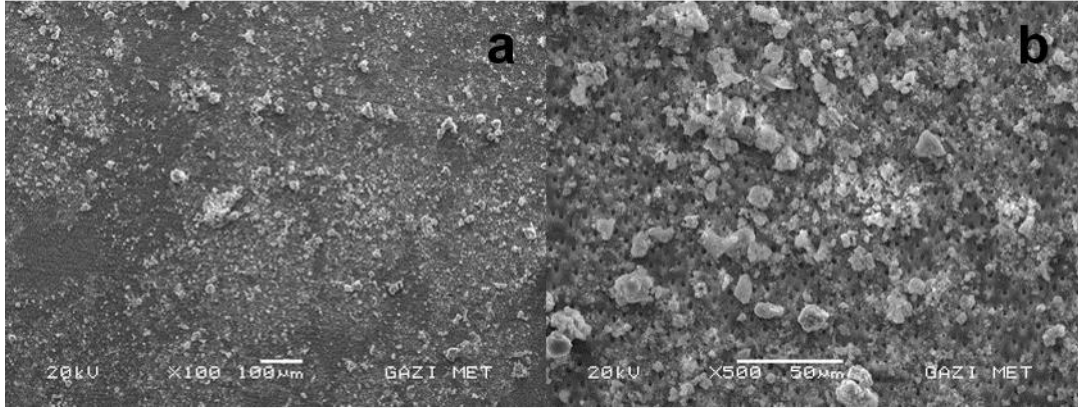
Endocem MTA grubundan alınan X100 ve X500 büyütmeli SEM fotoğrafları Resim 4.4.'de verilmiştir. Endocem MTA grubundan elde edilen SEM görüntüleri incelendiğinde, %17'lik EDTA uygulaması sonrasında yüzeyine Endocem MTA uygulanarak 7 gün süreyle DPBS solüsyonunda bekletilen örneklerin, Endocem MTA uzaklaştırıldıktan sonra yüzeylerdeki çökelti oluşumlarının, yüzeyin tamamında düzensiz şekilde dağıldığı görülmüştür. Bu numunelerin yüzeylerindeki dentin tübül ağzlarının kontrol grubunda izlenen dentin tübül ağzlarına göre daha dar olduğu ve çökeltilerin olduğu bölgelerde tübül ağzlarının mineral tıkaçlarıyla tıklandığı izlenmiştir. Çökeltilerin, mikro kürecikler, granüler, asiküler, talaş benzeri, romboidal ve daha başka pek çok farklı yapıda oluştuğu gözlenmiştir.



Resim 4.4. Endocem MTA grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları

Retro MTA grubundan alınan X100 ve X500 büyütmeli SEM fotoğrafları Resim 4.5.'de verilmiştir. Retro MTA grubundan elde edilen SEM görüntüleri incelendiğinde, %17'lik EDTA uygulaması sonrasında yüzeyine Retro MTA

uygulanarak 7 gün süreyle DPBS solüsyonunda bekletilen örneklerin, Retro MTA uzaklaştırıldıktan sonra, yüzeylerinde farklı konfigürasyonlarda, düzensiz dağılmış çökeltiler izlenmektedir. Çökeltilerin olduğu bölgelerde dentin tübüllerinin bazılarının, nispeten kalın; granüler, talaş tip, mikroküresel ve iç benzeri çökeltiler ile kaplı olduğu görülmektedir.



Resim 4.5. Retro MTA grubundan alınan (a) X100 büyütmede, (b) X500 büyütmedeki SEM fotoğrafları

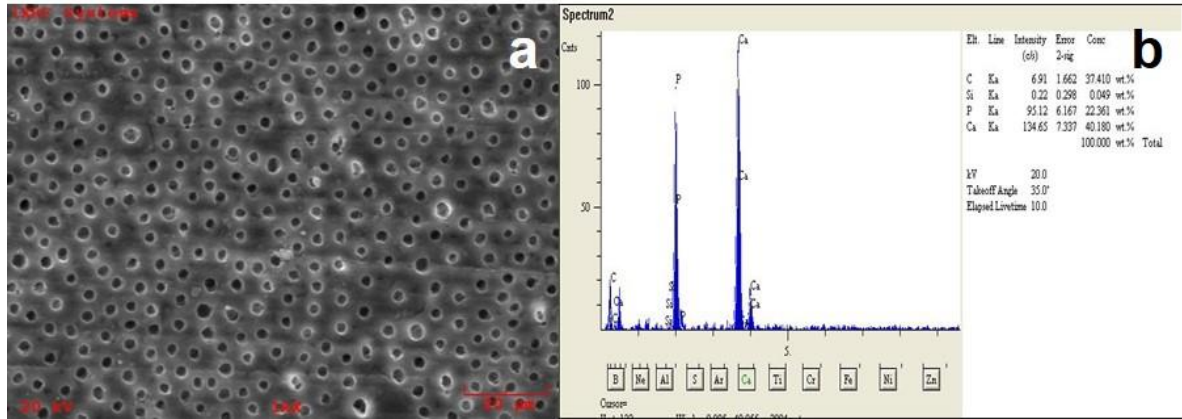
SEM-EDX Değerlendirmesi

SEM-EDX grafiklerinin incelenmesinde elementlere ait yoğunlukların ağırlık yüzdesi şeklinde verildiği görülmüştür. Ağırlık yüzdesi olarak elde edilen bu değerlerden, elementlerin atomik ağırlıkları ve Avogadro sabiti kullanılarak, bu ağırlık değerlerinde o elemente ait atom sayısı aşağıdaki formül kullanılarak atomik yüzdeleri hesaplanmıştır.

$$n_{1,2,3,.....}(\text{Elementin ağırlık yüzdesindeki atom sayısı}) = (\text{Elementin ağırlık yüzdesi} \times \text{Avogadro Sabiti}) / \text{Elementin atomik ağırlığı}$$

Her bir elementin atom sayıları bulunduktan sonra bu elementlerin atomik yüzdelik dilimleri hesaplanmıştır.

Kontrol grubunun mineral miktarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait görüntü ve grafik Resim 4.6.'da verilmiştir.



Resim 4.6. Kontrol grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a)SEM-EDX görüntüsü ve (b) EDX analiz sonuç grafiği

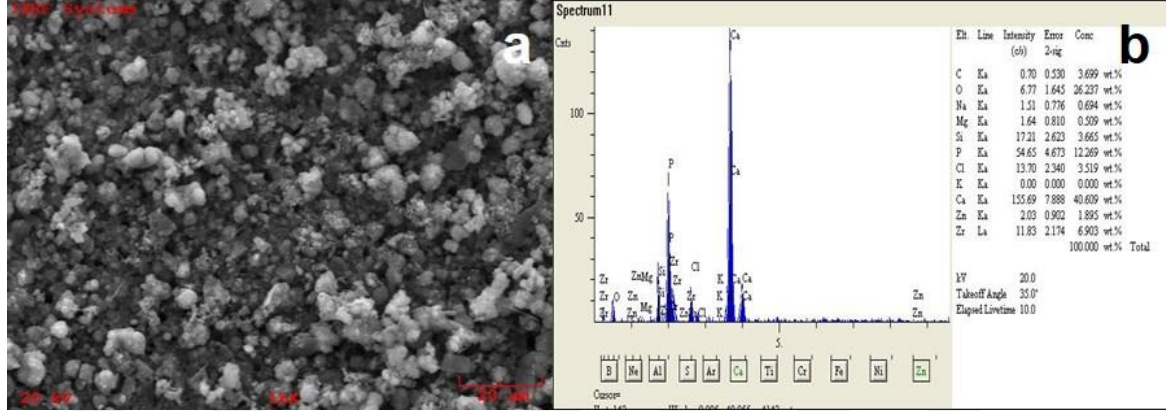
Kontrol grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Kontrol grubundaki numunelerin SEM-EDX değerlendirmeleri sonucunda elde edilen atomik yüzdelerine göre hesaplanan Ca/P oranları ortalama 1,38 olmak üzere, 1,18 –1,52 aralığında bulunmuştur.

Çizelge 4.10. Kontrol grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizi sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları

Kontrol Grubu						
Mineraller			Ağırlık %		Atomik %	
	Atom numarası	Atomik ağırlığı	En düşük	En yüksek	En düşük	En yüksek
Karbon (C)	6	12,0107	1,87	37,41	4,03	64,34
Oksijen (O)	8	15,9994	0	23,59	0	37,54
Sodyum (Na)	11	22,9898	0	7,58	0	7,81
Magnezyum (Mg)	12	24,3050	0	0,96	0	0,88
Silikon (Si)	14	28,0855	0,02	0,13	0,02	0,12
Fosfat (P)	15	30,9738	17,80	23,97	12,05	20,41
Klorür (Cl)	17	35,4530	0	7,30	0	5,13
Potasyum (K)	19	39,0983	0	1,20	0	0,11
Kalsiyum (Ca)	20	40,0780	26,68	43,73	16,58	24,13

Biodentine grubunun mineral miktarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait görüntü ve grafik Resim 4.7.'de verilmiştir.



Resim 4.7. Biodentine grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a) SEM-EDX görüntüsü ve (b) EDX analiz sonuç grafiği

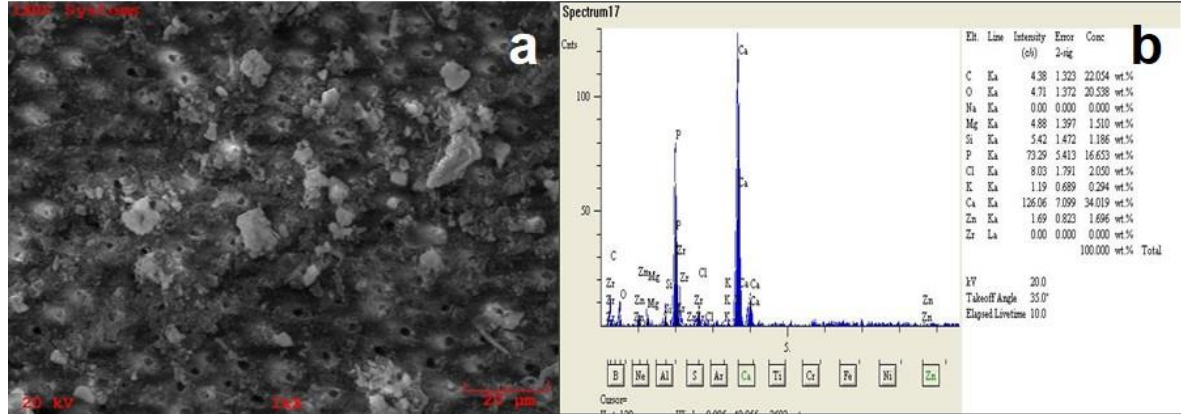
Biodentine grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları Çizelge 4.11.'de verilmiştir.

Biodentine grubundaki numunelerin SEM-EDX değerlendirmeleri sonucunda elde edilen atomik yüzdelerine göre hesaplanan Ca/P oranları ortalama 2,32 olmak üzere 2,01 - 2,64 aralığında bulunmuştur.

Çizelge 4.11. Biodentine grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizi sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelерinin aralıkları ve atomik yüzdelерinin aralıkları

Biodentine Grubu						
Mineraller			Ağırlık %		Atomik %	
	Atom numarası	Atomik ağırlığı	En düşük	En yüksek	En düşük	En yüksek
Karbon (C)	6	12,0107	0	12,35	0	2,94
Oksijen (O)	8	15,9994	22,94	26,24	35,31	44,81
Sodyum (Na)	11	22,9898	0,03	0,85	0,04	0,96
Magnezyum (Mg)	12	24,3050	0,14	0,51	0,16	0,56
Silisyum (Si)	14	28,0855	1,69	4,01	1,53	4,02
Fosfat (P)	15	30,9738	9,75	15,30	7,63	13,91
Klorür (Cl)	17	35,4530	3,52	9,85	2,65	7,82
Potasyum (K)	19	39,0983	0	0,51	0	0,36
Kalsiyum (Ca)	20	40,0780	33,38	42,21	20,19	29,69
Çinko (Zn)	30	65,3800	1,46	2,63	0,56	1,13
Zirkonyum (Zr)	40	91,2240	1,41	7,55	0,39	2,02

Theracal grubunun mineral miktarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait görüntü ve grafik Resim 4.8.'de verilmiştir.



Resim 4.8. Theracal grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a) SEM-EDX görüntüsü ve (b) EDX analiz sonuç grafiği

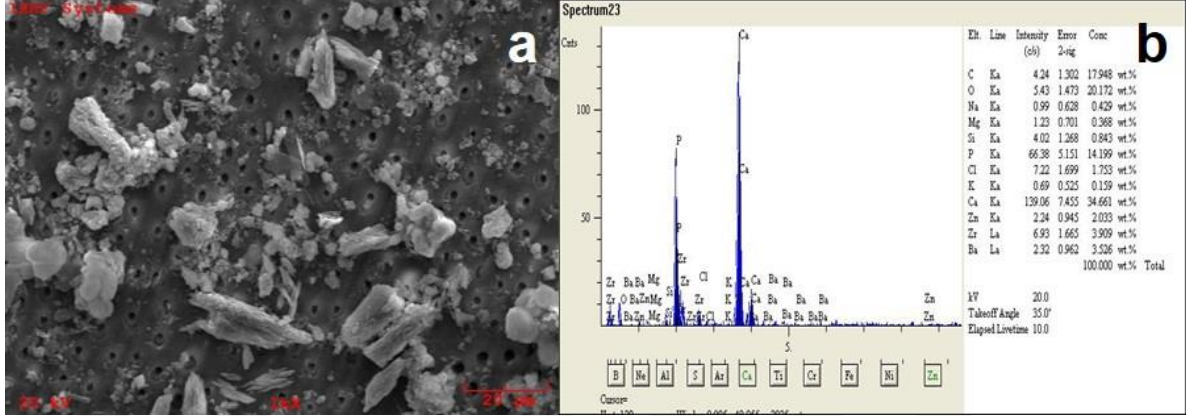
Theracal grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları Çizelge 4.12.'de verilmiştir.

Theracal grubundaki numunelerin SEM-EDX değerlendirmeleri sonucunda elde edilen atomik yüzdelerine göre hesaplanan Ca/P oranları oranları ortalama 1,75 olmak üzere 1,36 -2,13 aralığında bulunmuştur.

Çizelge 4.12. Theracal grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizin sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları.

Theracal Grubu						
Mineraller			Ağırlık %		Atomik %	
	Atom numarası	Atomik ağırlığı	En düşük	En yüksek	En düşük	En yüksek
Karbon (C)	6	12,0107	0	22,05	0	39,05
Oksijen (O)	8	15,9994	19,44	29,33	27,30	45,75
Sodyum (Na)	11	22,9898	0	2,28	0	2,69
Magnezyum (Mg)	12	24,3050	0,60	1,51	0,61	1,32
Silikon (Si)	14	28,0855	0,31	2,64	0,30	2,53
Fosfat (P)	15	30,9738	14,08	22,94	10,41	20,07
Klorür (Cl)	17	35,4530	1,68	4,59	1,09	3,51
Potasyum (K)	19	39,0983	0,17	0,43	0,13	0,27
Kalsiyum (Ca)	20	40,0780	34,02	46,93	18,05	34,15
Çinko (Zn)	30	65,3800	1,69	2,74	0,55	1,22
Zirkonyum (Zr)	40	91,2240	0	3,09	0	0,99

Endocem MTA grubunun mineral miktarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait görüntü ve grafik Resim 4.9.'da verilmiştir.



Resim 4.9. Endocem MTA grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a) SEM-EDX görüntüsü ve (b) EDX analiz sonuç grafiği

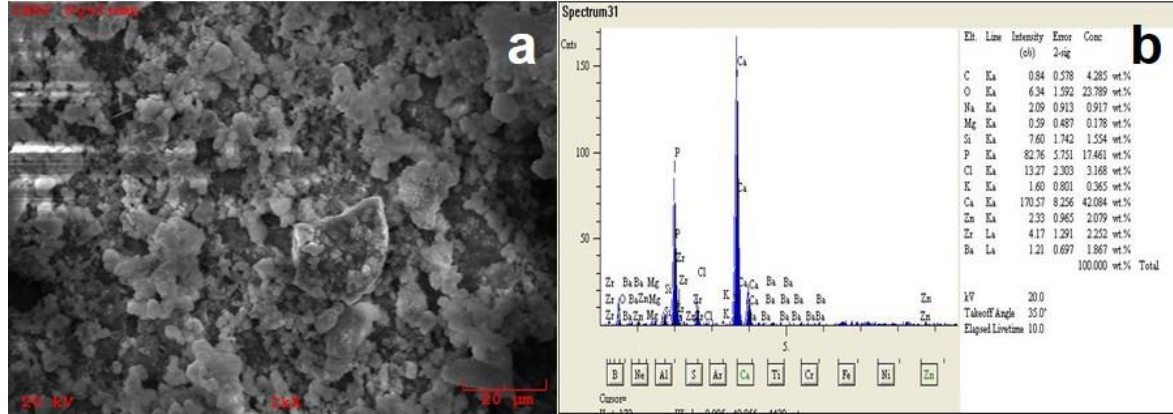
Endocem MTA grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait mineral ağılık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları Çizelge 4.13.'de verilmiştir.

Endocem MTA grubundaki numunelerin SEM-EDX değerlendirmeleri sonucunda elde edilen atomik yüzdelerine göre hesaplanan Ca/P oranları ortalama 1,82 olmak üzere 1,44 - 2,09 aralığında bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Endocem MTA grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizi sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları

Endocem MTA Grubu						
Mineraller			Ağırlık %		Atomik %	
	Atom numarası	Atomik ağırlığı	En düşük	En yüksek	En düşük	En yüksek
Karbon (C)	6	12,0107	10,45	17,95	15,92	34,79
Oksijen (O)	8	15,9994	19,70	27,83	29,35	41,04
Sodyum (Na)	11	22,9898	0	0,46	0	0,47
Magnezyum (Mg)	12	24,3050	0,37	0,97	0,35	0,94
Aliminyum (Al)	13	26,9815	0	0,36	0	0,34
Silikon (Si)	14	28,0855	0,84	5,50	0,70	4,56
Fosfat (P)	15	30,9737	11,78	19,79	8,86	16,47
Klorür (Cl)	17	35,4530	0,81	2,45	0,67	1,61
Potasyum (K)	19	39,0983	0,16	0,52	0,06	0,31
Kalsiyum (Ca)	20	40,0780	31,87	38,85	18,52	23,84
Çinko (Zn)	30	65,3800	1,66	2,38	0,62	0,92
Zirkonyum (Zr)	40	91,2240	0,93	5,45	0,39	1,54
Baryum (Ba)	56	137,3270	1,09	3,66	0,18	0,60

Retro MTA grubunun mineral miktarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait görüntü ve grafik Resim 4.10.'da verilmiştir.



Resim 4.10. Retro MTA grubunun mineral miktarının tayininde kullanılan (a) SEM-EDX görüntüsü ve (b) EDX analiz sonuç grafiği

Retro MTA grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizine ait mineral ağılık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları Çizelge 4.14'de verilmiştir.

Retro MTA grubundaki numunelerin SEM-EDX değerlendirmeleri sonucunda elde edilen atomik yüzdelerine göre hesaplanan Ca/P oranları ortalama 1,74 olmak üzere 1,41 – 2,32 aralığında bulunmuştur.

Çizelge 4.14. Retro MTA grubunun mineral miktarlarının tayini için yapılan SEM-EDX analizi sonucunda, örneklerde saptanan mineraller, bunların atom numaraları, atomik ağırlıkları, mineral ağırlık yüzdelerinin aralıkları ve atomik yüzdelerinin aralıkları

Retro MTA Grubu						
Mineraller			Ağırlık %		Atomik %	
	Atom numarası	Atomik ağırlığı	En düşük	En yüksek	En düşük	En yüksek
Karbon (C)	6	12,0107	0	21,17	0	38,97
Oksijen (O)	8	15,9994	13,84	25,36	21,57	43,9
Sodyum (Na)	11	22,9898	0	1,06	0	1,13
Magnezyum (Mg)	12	24,3050	0,18	1,37	0,20	1,41
Silikon (Si)	14	28,0855	0,23	5,18	0,20	5,14
Fosfat (P)	15	30,9738	12,55	23,35	10,99	20,90
Klorür (Cl)	17	35,4530	0,90	3,17	0,70	2,39
Potasyum (K)	19	39,0983	0,04	0,37	0,02	0,27
Kalsiyum (Ca)	20	40,0780	36,16	44,01	19,95	31
Çinko (Zn)	30	65,3800	1,69	2,32	0,57	0,98
Zirkonyum (Zr)	40	91,2240	0	9,41	0	2,87
Baryum (Ba)	56	137,3270	1,76	3,46	0,29	0,71



5. TARTIŞMA

Dentin çürüğünün, esas olarak hidroksiapatitten oluşan sağlam dokunun demineralizasyonu, kollajen lif ağının içerisinde boşluk ve gözeneklerin oluşmasından kaynaklandığı bilinmektedir (Taddei, Prati ve Gandolfi, 2017).

Çürük dentin, çürükten etkilenmiş bir iç katman ve çürük ile enfekte olmuş bir dış katman olmak üzere iki ayrı tabakadan oluşmaktadır (Fusayama, 1979). Çürük ile enfekte dentin yüksek oranda demineralizedir ve kollajen liflerinde çapraz bağlantı ortadan kalkmış ve kalıcı şekilde denatüre olmuştur (Nakajima, Kunawarote, Prasansuttiporn ve Tagami, 2011). Çürük ile enfekte dentinden farklı olarak çürükten etkilenmiş dentin kısmen demineralize olmuştur ve kollajen lifleri moleküller arası çapraz bağlarını koruduğundan ve belirgin çapraz bağlantı gösterdiğinden fizyolojik olarak remineralize olabilir durumdadır (Liu ve diğerleri, 2011).

Esas olarak trikalsiyum silikat simanlardan oluşan remineralizasyon ajanlarının geliştirilmesi, demineralize olmuş kollajen lifleri içerisindeki boşluk ve gözeneklerin içerisi ve çevresinde apatit birikimlerine neden olabilecek yeni bir tedavi yaklaşımı getirebilir (Taddei ve diğerleri, 2017).

Kalsiyum silikat simanların dentin remineralizasyonunda etkili olduğu görülmüş ve bunların mineralizasyon sağlayan restoratif materyallerde doldurucu olarak kullanılması gündeme gelmiştir. Ayrıca bu materyallerin kullanımı, araştırılmakta olan materyaller için çok geniş bir kullanım yelpazesi de sunmaktadır (Taddei ve diğerleri, 2017).

Kalsiyum silikat simanların suyla temas ettiklerinde kalsiyum salımı yaptıkları bilinmektedir. Kalsiyum silikat simanların kullanımıyla apatit birikimi bu şekilde açıklanabilir. Aslında silikat simanlar su ile birleştiğinde, kalsiyum hidroksit açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan bu kalsiyum hidroksit pH'yı arttırmakta, artan pH ile birlikte silanol içeren ince ve gözenekli matriks ise yaygın olarak protonlarından ayrılmış SiO^- grupları içermektedir (Nelson ve Featherstone, 1982). Si-OH ve SiO^- 'in her ikisi

de apatit birikimi için heterojen çekirdeklenme alanları meydana getirmektedir (Gandolfi ve diğerleri, 2011a).

Dentin remineralizasyonunda, kollajen matriksi, Ca^{+2} ve kollajene yüksek afinitelerinden dolayı mineral oluşumunda yer aldığı düşünülen kollajen olmayan proteinlerin varlığında, mineral birikimi için bir şablon olarak işlev görebilir (Glimcher, 1989). Kollajen liflerinin, apatit nanokristal birikimi ve oryantasyonu için birincil şablon olduğu bildirilmiştir. Mineralizasyon derecesi, amorf kalsiyum fosfatların kollajen lifleri içerisine sızma ve sonrasında daha olgun apatit fazına dönüşüm kabiliyetlerine bağlıdır (Taddei ve diğerleri, 2017).

MTA'nın etkinliği büyük ölçüde biyoaktivitesine, yani kalsiyum iyon salımı ve fosfat içeren fizyolojik sıvılarla temas ettiğinde apatit benzeri kristal çökeltileri oluşturma kapasitesine bağlanmaktadır (Sarkar ve diğerleri, 2005; Bozeman ve diğerleri, 2006; Reyes-Carmona ve diğerleri, 2009; Gandolfi, Taddei, Tinti ve Prati, 2010e; Han, Okiji ve Okawa, 2010; Han ve Okiji, 2013). Çökeltiler hidrasyon reaksiyonları sonucunda ortaya çıkan kalsiyum hidroksitin çözünmesi sonucu meydana gelir. pH ve Ca^{+2} konsantrasyonunda meydana gelen artış, fosfat içeren sıvının apatite göre süper doymun hale gelmesine neden olur ve dolayısıyla çökelmeyi artırır (Kokubo ve Takadama, 2006). Portland simanının oluşturduğu çökeltiler, amorf bir kalsiyum fosfat fazı ile üretilen kalsiyum eksik Tip B karbonatlı apatit olarak tanımlanmıştır (Tay ve diğerleri, 2007). Apatit oluşumu, cam seramikler gibi çeşitli inorganik biyomateryallerin biyouyumluluklarının temelini oluşturmaktadır (Kasuga, 2005; Kokubo ve Takadama, 2006).

Kalsiyum silikat simanların nem varlığında sertleşebilmeleri, biyoaktivitelerinin yüksek olması, genleşme özelliklerine bağlı olarak iyi bir tıkama etkinliğine sahip olmaları (Gandolfi ve diğerleri, 2009; Gandolfi ve Prati, 2010f; Torabinejad ve Parirokh, 2010; Prati ve diğerleri, 2014; Pelliccioni ve diğerleri, 2007) yanında saldıkları iyonlarla epigenetik sinyal gibi davranabilmeleri (Moghadame-Jafari, Botero, McDonald ve Nör, 2005; Paranjpe, Smoot, Zhang ve Johnson, 2011; Gandolfi ve diğerleri, 2011a; Gandolfi, Taddei, Modena, Siboni ve Prati, 2013a) bu simanların klinik kullanımda tercih edilmelerinin en önemli nedenlerindendir (Prati ve diğerleri, 2014).

Bu iyi özellikleri yanında orijinal simanların, uzun sertleşme süreleri, kullanımları ve manuplasyonlarının zor olması, kanama alanları gibi çok nemli ortamlarda ortamdan uzaklaşma riskleri, düşük radyoopasiteleri ve yüksek maliyetleri gibi bazı dezavantajları da mevcuttur (Parirokh ve Torabinejad, 2010b; Saghiri ve diğerleri, 2017). Bu nedenle MTA benzeri yeni kalsiyum silikat simanların geliştirilmesi önem kazanmıştır.

Bu alanda pek çok yeni deneysel materyalin etkinlikleri değerlendirilmiş, Biodentine, Theracal, Endocem MTA ve Retro MTA gibi daha yeni kalsiyum silikat esaslı simanlar geliştirilmiş ve pazarlanmıştır. Bu İkinci nesil kalsiyum silikat esaslı materyaller modifiye edilmiştir ve pek çoğu klinik kullanımlarını daha uygun hale getiren özellikler sergiler (Camilleri ve diğerleri, 2014).

Kalsiyum silikat esaslı simanların orijinal formülasyonları, remineralizasyon kabiliyetleri açısından büyük ölçüde araştırılmış olmasına karşın, yeni geliştirilen simanlar için daha ileri testlere ihtiyaç vardır. Bu tez çalışmasında, ikinci jenerasyon olarak da tabir edilen yeni geliştirilmiş trikalsiyum silikat esaslı materyallerin, yapay olarak demineralize edilmiş dentin dokusunu, remineralize etme etkinlikleri mikrosertlik, Ca^{+2} salımı, pH, yüzey özellikleri ve yüzeyde oluşan kristallerin elemental yapısı incelenerek *in vitro* olarak test edilmiştir.

Dentin mineralizasyonunun değerlendirilmesi için taramalı elektron mikroskobu, transmisyon elektron mikroskobu (Eisenmann ve Yaeger, 1972; Tay ve Pashley, 2008), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (Li ve Chang, 2008), Raman spektroskopisi (Sauro, Thompson, Watson, 2011), X-ışını difraksiyonu (Saito, Toyooka ve Crenshaw, 2003), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (Zhang, Neoh ve Kishen, 2012), mikroradyografi (Kawasaki, Ruben, Tsuda, Huysmans ve Takagi, 2000), bilgisayarlı mikrotomografi taraması (Liu ve diğerleri, 2011), mikrosertlik, nanoindentasyon (Bertassoni ve diğerleri, 2011) ve elektron prob mikroanalizi (Ngo, Mount, Mc Intyre, Tuisuva ve Von Doussa, 2006) gibi pek çok yöntem kullanılmıştır.

Mekanik özelliklerin saptanması, mikroyapı, mineral yoğunluğu ve organik matrikste minerallerin yerleri gibi faktörleri biraraya getirdiğinden mineralizasyonun derecesini belirlemek için uygun bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir (Bertassoni ve diğerleri,

2009) Kemik ve dentin gibi kollajen içeren sert dokulardaki mineral faz, kollajen molekülünün boşluk bölgelerinin içerisinde ya da hemen yanında biriken ve lif içindeki mikrofibril boşlukları boyunca uzanan lif içerisindeki apatitler ve kollajen liflerini ayıran kollajenler arası boşluklara yerleştirilmiş olan lifler arası apatitler olarak sınıflandırılır. Önceki çalışmalar, lif içi apatitlerin mineralize dokuların mekanik özelliklerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Toledano, Cabello, Vílchez, Fernández ve Osorio, 2014; Balooch, Habelitz, Kinney, Marshall, S. J. ve Marshall, G. W., 2008).

Mikrosertlik testleri, test edilen dental dokuların mekanik özelliklerini belirlemek için kullanılmaktadır ve demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında büyük öneme sahiptir (Gutiérrez-Salazar ve Reyes-Gasga, 2003). Bunun yanında sertlik değerleri Young modülüsü, kırılma dayanımı ve sünme gerilimi gibi diğer mekanik özelliklerle bağlantılı olabilir (Kielbassa, Wrbas, Schulte-Mönting ve Hellwig, 1999; Rodrigues, Cury ve dos Santos, 2004). Diş yapısı için önemli bölgesel farklılıklar rapor edildiğinden, mikro-scratch veya mikro-indentasyon yöntemlerinin kullanılması tercih edilmektedir. Çalışmamızda da benzer olarak, remineralizasyon materyallerin etkinliklerinin değerlendirilmesinde, dentinin mekanik yapısı ile doğrudan ilişkili olan mikrosertlik ölçümleri kullanılmıştır.

Dentinin mikrosertliğinin belirlenmesinde genellikle Knoop ve Vickers elmas intendörleri kullanılmaktadır. Vickers sertlik testinde, kare tabanlı piramit şeklindeki bir elmas uç, parlatılmış materyal yüzeyine belirli bir yük altında uygulanır. Bu test, diş dokuları gibi çok kırılğan dokuların sertliklerinin belirlenmesi için oldukça uygundur (Wang, D'Alpino, Lopes ve Pereira, 2003). Gutierraz-Salazar ve Reyes-Gasga (2003) ve Kielbassa ve diğerleri (1999) dişin mikrosertliğinin değerlendirildiği çalışmalarda, oluşan izlerdeki kare şeklinin her zaman korunması gerektiğini, diş yüzeylere ve mine-dentin birleşimine yakın bölgelerde hatalı sonuçlara neden olabilecek köşegenlerdeki küçük uzamaların kolaylıkla belirlenebilir olması sebebiyle Vickers intendörünün Knoop intendörüne göre daha kullanışlı olduğunu, bu nedenle, diş dokularında yapılan sertlik çalışmalarında mutlaka Vickers intendörü kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu nedenle çalışmamızda, demineralizasyon öncesi ve remineralizasyon sonrasında dentin mikrosertlik değerlendirmelerinde, Vickers intendörüne sahip bir sertlik cihazı kullanılmıştır.

Bu tez çalışmasında herhangi bir çatlak, kırık ya da başka bir defekti olmayan, çekilmiş gömülü üçüncü büyük azı dişlerinden elde edilen dentin kesitleri kullanılmıştır. Elde edilen kesitler, standart düzgün bir yüzey elde edebilmek için 1200 gride kadar incelen zımparalar ile aşındırılmış ve distile su ile yıkanmıştır. Elde edilen kesitler rastgele beş gruba ayrılmış ve başlangıç sertlik değerleri, çalışma sonrasındaki sertlik değerleriyle karşılaştırma yapılabilmesi için ölçülmüştür. Gutierrez-Salazar ve Reyes-Gasga (2003), yaptıkları in vitro mikrosertlik çalışmasında 10, 25 ve 50 gr indentasyon yüklerini farklı sürelerde uygulayarak Vickers mikrosertlik ölçümleri yapmışlardır. Çalışmalarında 50 gr yük uygulandığında neredeyse bütün indentasyonlarda çatlak ve materyal birikimi görüldüğünü, 10 gr yük uygulandığında ise oluşan izlerin okunmasının oldukça zor olduğunu bildirmişlerdir. 25 gr ve 50 gr yük uygulandığında elde edilen sertlik değerlerinin istatistiksel olarak benzer olduğunu ancak 25 gr yük uygulamasının daha az çatlak belirtisi ve daha düzgün indentasyon izleri oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu bulgulardan yola çıkarak Vickers mikrosertlik değerlendirmelerinde 25 gr indentasyon yükü ve 20 saniye yükleme süresinin önerilebilir olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle bu tez çalışmasında Vickers sertlik ölçümleri için 25 gr'lık indentasyon yükü ve 20 saniyelik yükleme süresi kullanılmıştır.

Grupların başlangıç sertlik değerleri ortalamaları 71,73 VHN ve 76,39 VHN arasında değişmektedir ve gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır. Elde ettiğimiz bu dentin sertlik değerleri, daha önceki çalışmalarda rapor edilen 50-70 VHN değerlerine (Gutiérrez-Salazar ve Reyes-Gasga, 2003; Craig ve Peyton, 1958) oldukça yakındır.

Çalışmamızda, başlangıç sertlik değerleri ölçümlerinden sonra dentin kesitleri, Gandolfi, Taddei, Siboni, Modena, De Stefano ve Prati (2011)'nin bildirdiği şekilde 2 saat %17'lik EDTA solüsyonu kullanılarak demineralize edilmiştir. EDTA, 4 karboksilik asit grubu içeren ve kalsiyuma şelasyon yapma özelliği olan bir moleküldür. Dentin proteinlerinde değişime neden olmadan ve dentindeki kollajenin doğal lifsel yapısında büyük değişiklikler meydana gelmeden dentinin mineral fazının çözünmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Sano, Takatsu, Ciucchi, Russell ve Pashley, 1995; Carvalho, Tay, Sano, Yoshiyama ve Pashley, 2000;

Habelitz, Balooch, Marshall, Balooch ve Marshall Jr, 2002; Fuentes ve diğerleri, 2004).

EDTA, formik asit/sodyum format, fosforik asit ve hidroklorik asit gibi daha önce kullanılan agresif ajanlardan farklıdır. EDTA'nın kemikte, kemik bir aydan uzun süre dahi EDTA içerisinde bırakıldığında bile, kollajen yapısını bozmadan kompleks oluşturarak mineral fazı çözme kapasitesine sahip en etkili şelasyon ajanı olduğu genel olarak kabul edilmektedir (Chen ve diğerleri, 2005). Biyokimyasal olarak EDTA uygulamasının, pek çok kollajen olmayan organik içeriği uzaklaştırabildiği bilinmektedir. Yukarıda bahsedilen ajanların kullanılmasıyla dentin demineralizasyonu, yalnızca dentindeki mineral fazı çözmemekte aynı zamanda kollajen yapısını bozacak olan kollajen matriksin hidrolizine de neden olmaktadır. Bu nedenle, asidik süreçler sonucunda kollajen matrikste meydana gelebilecek hasarı önlemek için, dentin demineralizasyonunda asidik işlemler yerine EDTA'nın kullanılması önerilmektedir (Thula ve diğerleri, 2011). Yapısal bozulmaya uğramamış kollajen liflerinin, intrafibriler minerallerini muhafaza ettiği, mineraller tarafından sağlanan yapısal destek devam ettiğinden dehidrasyondan daha az etkilendikleri düşünülmektedir (Habelitz ve diğerleri, 2002).

Chuenarrom ve diğerleri (2009) yaptıkları *in vitro* çalışmada farklı indentasyon süreleri ve farklı indentasyon yüklerinin mine ve dentinde elde edilen Knoop ve Vickers sertlikleri üzerinde herhangi bir etkisi olup olmadığını incelemişlerdir. Araştırmacılar, minenin mikrosertlik ölçümlerinde Knoop intendörü kullanıldığında farklı yükler uygulanmasının farklı sonuçlar verdiğini, dentinin mikrosertlik ölçümlerinde ise Vickers intendörü kullanıldığında farklı yükler uygulanmasının sonuçları değiştirdiğini, bu nedenle de farklı yük uygulanmış değerlerin birbirleriyle karşılaştırılamayacağını bildirmişlerdir. Ancak indentasyon süresinin farklı olmasının, her iki mikrosertlik testinde de herhangi bir fark yaratmadığını, aynı yükte farklı sürelerde uygulanan indentasyon ölçümlerinin karşılaştırılabilir olduğunu bildirmişlerdir.

Bu tez çalışmasında demineralizasyon sonrasında, EDTA ile demineralizasyonun etkilerinin saptanması amacıyla, sertlik ölçümleri tekrarlanmıştır. Ancak demineralizasyon sonrası yapılan mikrosertlik ölçümlerinde, dentin kesitleri elde

edildikten hemen sonra yapılan mikrosertlik ölçümleri için kullanılan 20 sn süre ve 25 gr yük kullanıldığında, elde edilen indentasyon izlerinin okunamayacak kadar silik olduğu ve kare şeklinin korunamadığı görülmüştür. Hatalı sonuçlar elde etmemek için, sürenin değiştirilmesinin Vickers ölçümlerinde fark yaratmadığı ve karşılaştırılabilir sonuçlar verdiği (Chuenarrom ve diğerleri, 2009) göz önünde bulundurularak, indentasyon yükü yine 25 gr olacak şekilde indentasyon süresi 30 sn'ye çıkarılmıştır.

EDTA ile demineralizasyon sonrasında, tüm grupların dentin örneklerinin sertlik değerlerinde belirgin bir düşüş olduğu ve sertlik değerlerinin ortalama 50,6 ila 56,54 VHN değerleri arasında olduğu bulunmuştur. Sertlik değerlerindeki bu düşüşün, EDTA'ya maruz bırakılma sonucu mineral içeriğindeki azalmaya bağlı olduğu düşünülmektedir (Gandolfi ve diğerleri, 2019).

EDTA uygulaması sonrasında dentin sertliğinde meydana gelen azalma, çürük sürecinin esas semptomlarından olan, kalsifiye dokuların mekanik özelliklerindeki azalmaya benzemektedir. Bakteriyel asitler mineral kaybı ve kollajen denaturasyonuna neden olduğundan, sertlikte meydana gelen bozulma, çürüğün erken işaretlerinden biridir (Fusayama, Okuse ve Hosoda, 1966; Silverstone, 1985). Sağlıklı dentinin Knoop sertlik değerleri 69 ila 72 KHN arasında olmasına karşın, çürük dentinin Knoop sertlik değerlerinin 3 ila 20 KHN arasında olduğu bildirilmiştir (Torii, 1986).

Elde edilen bu sonuçlar, dentinin tamamı demineralize edildiğinde elde edilen sertlik değerlerinden yüksek olduğundan, 2 saat süresince EDTA'ya maruz bırakmanın dentini kısmi olarak demineralize ettiğini göstermektedir. Klinik açıdan bakıldığında, kısmi olarak demineralize edilmiş dentin, çürük lezyonunun tabanında bulunan çürükten etkilenmiş dentin tabakasına tekabül etmektedir. Bresciani, Wagner, Navarro, Dickens ve Peters (2010), kendi kendini sınırlayan polimer frezler kullanılarak çürüğün uzaklaştırılması sonrasında herhangi bir tedavi uygulanmamış çürükten etkilenmiş dentinin sertliğinin, literatürde rapor edilmiş olan sertlik değerlerinden (Boston, 2003) biraz daha yüksek olabileceğini bildirmişlerdir.

Bu tez çalışmasında kontrol grubundaki dentin kesitlerine EDTA uygulaması sonrasında herhangi bir işlem uygulanmamış, yıkama sonrasında doğrudan DPBS içerisine yerleştirilmiştir. Çalışma gruplarındaki diğer dentin kesitleri ise, EDTA uygulaması sonrasında distile su ile yıkanmış ve ardından klinik uygulamaya benzerlik göstermesi için üzerlerine materyaller yerleştirilmiştir. Yine klinik uygulamaya benzer olması amacıyla, dentin ve materyalin sıkı kontakta olmasını sağlamak için ortodontik elastik bantlar kullanılmıştır.

Bu tez çalışmasında ağız ortamını taklit etmesi ve dentin remineralizasyona katılacak olan kalsiyum iyonlarının, bekletme solüsyonundan değil, yalnızca kullanılan deney materyallerinden kaynaklı olmasını garanti etmek maksadıyla, Gandolfi ve diğerlerinin (Gandolfi ve diğerleri, 2011c) çalışmalarında da kullanmış oldukları, pH'sı 7.4 olan, kalsiyum ve magnezyum içermeyen DPBS solüsyonu inkübasyon vasatı olarak kullanılmıştır. Li ve diğerleri (2017), yaptıkları çalışma sonucunda, kalsiyum silikat esaslı simanların dentin kesitleriyle birlikte bekletilme süresinin, kalsiyum silikat esaslı simanların remineralizasyon etkinlikleri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmadığını, belirgin remineralizasyonun 1 hafta bekletme sonrasında elde edildiğini, remineralizasyonun 1 haftadan sonra oldukça yavaş ilerlediğini bildirmişlerdir. Bu nedenle, bu tez çalışmasında son mikrosertlik değerlendirmeleri (remineralizasyon sonrası değerlendirme), dentin kesitleri üzerine trikalsiyum silikat siman uygulaması takiben, 1 hafta süreyle 37°C'de DPBS içerisinde bekletme sonrasında gerçekleştirilmiştir.

DPBS'de 1 hafta süreyle bekletme sonrasında, herhangi bir remineralizasyon materyali uygulanmamış olan Kontrol grubundaki dentin kesitlerinin mikro sertlik değerleri ortalamasının (50,05 VHN), kesitler edildikten hemen sonra ölçülen mikrosertlik değerleri (76,39 VHN) ve EDTA kullanılarak demineralizasyon işlemi sonrasındaki mikro sertlik değerlerinin (56,54 VHN) her ikisinden de anlamlı düzeyde düşük olduğu görülmüştür. Kontrol grubundaki numunelerin sertlik değerleri DPBS'de 1 haftalık bekletme sürecinde düşmeye devam etmiştir. Gandolfi ve diğerleri (2019), EDTA'nın şelasyon etkisinin yalnızca dentinin yüzeysel tabakalarını etkilemekle kalmayıp, dentinin daha derin tabakalarına nüfuz ederek daha yavaş olmakla birlikte etkinliğini devam ettirdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda, Kontrol grubuna ait örnekler EDTA ile demineralizasyonları

sonrasında distile suyla yıkanmış olmasına karşın, yıkamayla uzaklaştırılamamış olan dentin tübülleri içerisine nüfus etmiş olan EDTA'nın, 1 haftalık bekletme süresinde de etkinliğini devam ettirdiğini düşünüyoruz.

Remineralizasyon materyallerinin uygulanmasından 1 hafta sonra yapılan sertlik değerlendirmelerinde, deney gruplarının mikrosertlik değerlerinin, remineralizasyon işlemi sonrasındaki sertlik değerlerinden daha yüksek ve dentin kesitleri elde edildikten hemen sonrasındaki mikrosertlik değerlerine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Bu bulgunun, demineralizasyonla birlikte dentinde kaybedilmiş olan mekanik özelliklerin, bu materyallerin kullanımıyla yeniden kazandırılabilceğini gösterdiğini düşünüyoruz.

Biodentin grubunda remineralizasyon sonrasında elde edilen mikro sertlik değeri 73,52 VHN, demineralizasyon sonrası elde edilen mikrosertlik değeri ortalamasından (50,96 VHN) anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu değer dentin kesitleri elde edildikten hemen sonra yapılan mikrosertlik değerlendirmesi sonucuna (74,46 VHN) oldukça yakındır ve demineralizasyon öncesi ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik değerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Bu da Biodentine uygulamasının, dentinin demineralizasyonu ile birlikte kaybedilmiş olan mikrosertlik özelliğini, 1 hafta süre içerisinde tamamı ile geri kazandırabileceğini göstermektedir.

Theracal grubundaki dentin örnekleri incelendiğinde 1 hafta DPBS içerisinde bekletme sonucunda demineralizasyon sonrasında elde edilen mikrosertlik değerleri ortalamasının (50,60 VHN), anlamlı düzeyde yükselerek 70,97 VHN seviyesine çıktığı görülmektedir. Ancak bu grupta, remineralizasyon sonrası elde edilen sertlik değeri, demineralizasyon öncesi sertlik değeri olan 75,82 VHN değerinden anlamlı derecede düşüktür. Bu materyal ile 1 hafta süreyle DPBS içerisinde bekletmenin, demineralizasyon sonrasında meydana gelen sertlik değerlerindeki düşüşü bir miktar düzeltmekle birlikte, sertlik değerlerini ilk mikrosertlik değerlerine ulaştıramadığı söylenebilir.

Endocem MTA grubunda elde edilen mikrosertlik değerleri demineralizasyon öncesinde 72,36 VHN iken, demineralizasyondan sonra bu değer 52,26 VHN'ye

düşmüş ve Endocem MTA ile remineralizasyon sonrasında 69,56 VHN'ye çıkmıştır. Bu grupta remineralizasyon sonrası elde edilen değer, başlangıç mikrosertlik değerinden biraz düşük olmasına karşın, bu iki değer arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Bu da Endocem MTA uygulamasının, demineralizasyon ile kaybedilmiş olan mikrosertlik değerlerinin yeniden kazandırılmasında etkin bir materyal olduğunu gösterebilir.

Retro MTA grubunda, demineralizasyon sonrasında elde edilen değer (51,88 VHN), başlangıç (71,73 VHN) ve remineralizasyon sonrasındaki sertlik değerlerinden (69,36 VHN) anlamlı düzeyde düşüktür ancak başlangıç ve remineralizasyon sonrasındaki mikrosertlik değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Bu nedenle, demineralize edilmiş dentin yüzeylerine 1 hafta süreyle Retro MTA uygulanmasının, dentinin kaybedilmiş mikrosertlik değerlerinin yeniden kazandırılmasında etkin bir materyal olduğunu gösterebilir.

Daha önce de belirtildiği gibi mikrosertlikte meydana gelen değişiklikler, dentinin mineral içeriğindeki değişikliklerin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu tez çalışmasında kullanılan trikalsiyum silikat esaslı materyallerin tamamı, demineralizasyon sonrası sertlik değerlerine göre, 1 hafta DPBS'de bekleme süreci sonunda sertlikte anlamlı artışa sebep olmuşlardır. Bu nedenle demineralize edilmiş dentin kesitlerinde, bu dört materyalin hepsinin mikrosertlik değerlerinin yeniden kazandırılmasında yüksek potansiyele sahip oldukları söylenebilir. Ayrıca Theracal LC dışındaki diğer materyallerin kullanımı, dentin sertlik değerlerinin, demineralizasyon öncesindeki başlangıç sertlik değerlerine eşdeğer sertlik değerlerine dönmesini sağlamıştır.

Kalsiyum iyonları tüm diş sert dokularının ana bileşeni olduğundan ve remineralizasyon ve hücre farklılaşması süreçlerinde önemli rolü bulunduğundan, materyallerin remineralizasyon potansiyellerini doğrulamak için, 7 günlük bekletme süreci sonunda materyallerin kalsiyum iyon salımları değerlendirilmiştir. Trikalsiyum silikat esaslı materyallerin ana bileşeni olan kalsiyumun, BMP-2, Osteopontin gibi genlerin ekspresyonunu düzenleyerek, hatta alkalın fosfataz aktivitesini azaltarak osteo indüktif olduğu gösterilmiştir (Rashid ve diğerleri, 2007).

Tamir dokularında kalsiyum iyon salımının gerçekleştiği ve yara iyileşmesine katıldığı bilinmektedir (Schröder, 1985). Bazı kuafaj materyallerinin hücre dışı kalsiyum seviyelerini arttırarak, hücre çoğulmasını destekledikleri bilinmektedir (Schröder, 1985; Tada ve diğerleri, 2010). Trikalsiyum silikat ekstralarının pulpa hücrelerinin çoğalma ve farklılaşmasını teşvik ettikleri bilinmektedir (Chung ve diğerleri, 2016; Peng ve diğerleri, 2011; Du ve diğerleri, 2013). Kalsiyum gibi biyolojik olarak aktif olan iyonların salımı anlamına gelen bio-interaktivite, bir materyalin biyoaktif olması ve apatit oluşumunu tetiklemesi için ön koşuldur. Daha önce yapılmış çalışmalar, fosfat içeren sıvılarda bekletildiklerinde, kalsiyum silikat simanların yüzeyinde apatit oluşumunu göstermektedir (Gandolfi, Taddei, Tinti ve Prati, 2010e; Gandolfi ve diğerleri, 2010b; Gandolfi ve diğerleri, 2010a; Gandolfi ve diğerleri, 2011b; Gandolfi ve diğerleri, 2011a). Apatit oluşumunun, hücreler için uygun bir yüzey oluşması, odontoblast benzeri hücrelerin yeni dentin dokusu oluşturması ve komşu dentin yüzeyinin apatit kristalleri depozisyonuyla remineralize edilmesi gibi pek çok avantajları mevcuttur (Gandolfi, Ciapetti ve Taddei, 2010g; Gandolfi ve diğerleri, 2011b; Gandolfi ve diğerleri, 2011a; Tay ve Pashley, 2008; Prati, Parrilli, Fini, Dummer ve Gandolfi, 2011).

Bunun da ötesinde, trikalsiyum silikat esaslı simanlar, fosfat içeren sentetik doku sıvılarıyla temasta olduklarında bir hidroksiapatit kaynağı olarak tanımlanmaktadırlar (Tay, Pashley, Rueggeberg, Loushine ve Weller, 2007; Grech, Mallia ve Camilleri, 2013).

MTA'nın etkinliğinin, kalsiyum iyon salımı ve fosfat içeren fizyolojik sıvılar ile temasta olduğunda apatit benzeri kristal çökeltiler oluşturması nedeniyle biyoaktivitesine bağlı olduğu bildirilmiştir (Gandolfi ve diğerleri, 2010e; Reyes-Carmona ve diğerleri, 2009; Sarkar ve diğerleri, 2005; Bozeman, Lemon ve Eleazer, 2006; Han, Okiji ve Okawa, 2010; Han ve Okiji, 2013). Hidrasyon reaksiyonları sonucu kalsiyum hidroksit çözünür, pH ve Ca^{+2} konsantrasyonunda meydana gelen artış fosfat içeren sıvının apatite göre süper doymunluğuna neden olur ve bu durum apatit çökmesini teşvik eder (Kokubo ve Takadama, 2006). Tay ve diğerleri (Tay, Pashley, Rueggeberg, Loushine ve Weller, 2007), Portland simanı üzerinde bulunan çökeltilerin, amorf kalsiyum fosfat fazı aracılığıyla üretilmiş kalsiyum eksik Tip B karbonat apatit olduğunu göstermişlerdir. Cam seramikler gibi pek çok inorganik

materyal için, apatit oluşumu biyouyumluluk için esastır (Kokubo ve Takadama, 2006; Kasuga, 2005).

Trikalsiyum silikat esaslı simanlar, kalsiyum salımlarının yanında özellikle hidrasyonun erken safhalarında hidroksil iyon salımına bağlı olarak çevre dokuların ve ortamın pH'sında yükselmeye neden olmaktadır. Kalsiyum silikat partiküllerinin hidrasyonunu takiben katı-sıvı bir ara yüz oluşturmak için, sıvı karıştırma solüsyonundaki H^+ ve H_3O^+ ile Ca^{+2} 'un hızlı bir yer değiştirmesinin eşlik ettiği, hidroliz ve iyon değişimi gerçekleşir (Gandolfi ve diğerleri, 2010a). Ca^{+2} iyonlarının sudan kaynaklanan OH^- iyonlarının reaksiyonu, yüksek oranda alkali bir ortam oluşturacak olan kalsiyum hidroksit (portlandit) oluşumunu sağlar (Camilleri, 2007). Böyle bir katyon değişiminin devam etmesi, çözeltinin hidroksil konsantrasyonunu artırır. Kalsiyum silikat partiküllerinin yüzeylerinin, çözelti içerisindeki OH^- iyonları tarafından sarılması ve alkali ortamdaki SiO_4^{-4} gruplarının hidrolizine neden olur. Bu da mineral partiküllerinin yüzeylerinde, amorf kalsiyum silikat hidrat fazının oluşumuna neden olur. Kalsiyum silikat hidrat, su moleküllerinden ayrılmış OH^- ve siman partikülleri kaynaklı Ca^{+2} iyonlarından kaynaklanan fazla miktarda kalsiyum hidroksit/portlandit içermektedir. Bu nedenle, karıştırmadan sonraki ilk saatlerde, kalsiyum silikat hidrattan, kalsiyum hidroksit ve ortamın pH'sını ve kalsiyum konsantrasyonunu belirgin şekilde arttıran kalsiyum iyon salımı sürekli olarak devam eder. Portlandit (kalsiyum hidroksit) salımı doku sıvısı benzeri saklama koşullarında uzun süre devam eder (Niu ve diğerleri, 2014).

Diğer bir deyişle materyal bileşimindeki kalsiyum oksit, doku sıvılarıyla reaksiyona girmekte ve hidroksit ve kalsiyum iyonlarına ayrışacak olan kalsiyum hidroksit oluşturmaktadır. Hidroksit iyonları, yüksek pH ortamından ve sonuç olarak alkalik fosfatazin aktivasyonundan sorumlu olacaktır (de Vasconcelos ve diğerleri, 2009). Bu materyallerin güçlü alkaliniteleri sayesinde, klinik olarak uygulanan MTA, bakterisit etki gösterecektir (Che ve diğerleri, 2016).

Buna ilave olarak alkali pH'nın, reperatif dentin oluşumuyla birlikte enflamatuvar reaksiyona neden olduğu (Horsted-Bindslev ve Lovshall, 2002; Okiji ve Yoshida, 2009), ve ayrıca hidroksiapatit oluşumunu teşvik ettiği de bilinmektedir (Meyer ve Eanes 1978; Lazic, 1995).

Kalsiyum hidroksit salınımı ile ilişkili olarak alkalileştirici aktivite göstermeleri, bu maddelerin bildirilen antibakteriyel özelliklerini açıklayabilir (Al-Hezaimi ve diğerleri, 2005; Siqueira ve Lopes, 1999). $\text{Ca}(\text{OH})_2$ simanlar gibi kalsiyum silikat materyaller, alkalileştirici aktivitelerine bağlı olarak 15-30 güne kadar erken dönem antimikrobiyal/bakteriostatik etki gösterirler (McHugh, Zhang, Michalek ve Eleazer, 2004; Gandolfi ve diğerleri, 2015). Kalsiyum hidroksitin bakteri hücreleri üzerindeki ölümcül etkisi, protein denatürasyonu, DNA ve sitoplazmik membran hasarı oluşturmaya bağlıdır (Siqueira ve Lopes, 1999).

Kalsiyum hidroksit üzerine yapılmış önceki çalışmalar kalsiyum hidroksit kaynaklı hidroksil ve kalsiyum iyonlarının mineralizasyonda sinerjik yolla etki ettiğini göstermektedir. Hidroksil iyonları mineralizasyonu teşvik eden alkalen fosfatazi aktive ederken, kalsiyum iyonları pulpası amputé edilmiş dişlerde hücre içi sıvının miktarını azaltarak, granülasyon dokusunun yeni kılcal damarlarının geçirgenliğini azaltmakta, yüksek konsantrasyonda iken mineralizasyonda önemli bir faktör olan prefosfataz aktivitesini arttırmakta ve immünolojik reaksiyonların tamamlayıcı sistemlerinde rol almaktadır (Estrela ve diğerleri, 1995).

Bahsedilen bu bilgiler ışığında, bu tez çalışmasında hızlı sertleşen trikalsiyum silikat simanların (Biodentine, Theracal LC, Endocem MTA ve Retro MTA) kalsiyum iyon salımları Atomik Absorbsiyon Spektrometresi ve DPBS bekletme solüsyonunun pH'sı bir pH metre kullanılarak değerlendirilmiştir.

DPBS içerisinde 7 günlük bekletme süresi sonrasında, materyal diskleri bağlı bulundukları dentin kesitleriyle birlikte bekletme solüsyonlarından çıkartılmış ve hemen arkasından bekletme solüsyonunun pH'sı ve Ca^{+2} iyon konsantrasyonu değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, 310 mg/L ile Biodentine'in kalsiyum salımının en yüksek olduğunu göstermektedir. Bunu sırasıyla 72,98 mg/L ile Retro MTA, 11,57 mg/L ile Endocem MTA ve 7,12 mg/L ile Theracal LC takip etmektedir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında (1,35 mg/L) yalnızca Biodentine ve Retro MTA gruplarının Ca^{+2} salımları anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Ayrıca Biodentine grubunun Ca^{+2} salım değeri, Retro MTA grubunun Ca^{+2} salım değerinden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Bu bulgulara göre Biodentine'in diğer materyallere göre anlamlı düzeyde yüksek kalsiyum salımı yaptığı söylenebilir. Biodentine'de elde edilen bu değerler saf trikalsiyum silikat ve dikalsiyum silikat bileşenlerinden oluşmuş kalsiyum silikat varlığına bağlı olabilir, bu da yüksek apatit oluşturma aktivitesiyle, kalsiyum kloridle ve düşük çözünürlükle (%11,93) ilişkilidir ve benzer olarak karıştırma için gerekli su miktarını azaltan genel olarak kullanılan polikarboksilat gibi bir süperplastisizör (likit/toz oranı 0.257) içermektedir ve bu da akışkanlığını uygun hale getirerek simanın kendiliğinden yerleşmesini sağlamaktadır. Buna ilave olarak, trikalsiyum silikatlardaki hızlı hidrasyon reaksiyonu, düşük çözünürlükleri ve erken dönem yüksek kalsiyum salımlarıyla ilişkili olabilir. Gandolfi ve diğerleri, Biodentine'de belirgin şekilde gözlemlenen pörözitelerin iyon salımıyla ilgili olabileceğini, kalsiyum fosfat çökeltilerinin oluşumuna dahil olan kalsiyum ve hidroksil iyonlarının salımı için geniş açık por hacminin ve su emiliminin geniş ıslak bir bio-interaktif yüzey oluşturacağını bildirmişlerdir (Gandolfi ve diğerleri, 2013; Saghiri ve diğerleri, 2017).

İyon salımı, materyalin yapısı ve içerdiği mineral partikülleri gibi pek çok faktöre dayanmaktadır. Bu faktörlerin her ikisi de su emilimi ve pöröziteyi tetikleyen çözünürlükten sorumludur. Biodentine, daha kompakt bir yüzey tabakası oluşturan 1 mikrondan küçük kalsiyum fosfat partiküllerinden oluşmaktadır. Biodentinden salınan kalsiyum hidroksit miktarı ayrıca, doldurucu olarak kullanılan kalsiyum karbonat içeriğine de bağlıdır. Doğal ve sentetik kalsiyum karbonat mineralizasyon için en önemli materyaldir. Kalsiyum karbonat, mineralizasyon süreci sırasında doğal olarak kalsiyum fosfata maruz kalan osteoblastlar tarafından depolanır (Aprillia, Usman ve Asrianti, 2018).

Çalışmamıza benzer şekilde Zeid ve diğerleri (Zeid, Alothmani ve Yousef, 2015) ve Gandolfi ve diğerleri (Gandolfi ve diğerleri, 2013b) de Biodentine'den sırasıyla 242,8 mg/L ve 43,58 ppm gibi yüksek kalsiyum salım değerleri bildirmişlerdir.

Diğer çalışma gruplarına kıyasla Theracal LC daha düşük kalsiyum salım değerleri göstermiştir. Bu düşük kalsiyum salım değerleri materyal içeriğindeki rezine bağlı olabilir. Theracal LC içeriğinde bulunan rezin, materyalin çevre ortamla arasındaki iyon alış verişini engelleyebilir. Çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde, Yamamoto ve diğerleri (Yamamoto, Han, Noiri ve Okiji, 2017)de, ProROOT MTA ile

kıyaslandığında Theracal LC'nin düşük kalsiyum salım değerleri gösterdiğini bildirmişlerdir. Theracal LC'nin düşük çözünürlüğü de daha az miktarlarda Ca^{+2} ve OH^- salımını açıklayabilir (Gandolfi, Siboni ve Prati, 2012). Camilleri ve diğerleri (Camilleri 2014) tarafından yapılan bir başka çalışmada, Theracal LC'nin Ca^{+2} salımı yaptığı ve yüzeyinde Ca-P çökeltileri oluşturduğu halde, sertleşme sonrasında kalsiyum hidroksit oluşturmadığını bildirmişlerdir. Theracal LC'nin içeriğindeki rezin matriksin, çevreleyen ortamla sınırlı iyon değişimine izin verdiğini, bunun da su emilimini kısıtlayarak kalsiyum silikat bileşenlerinin hidrasyon derecesini ve sertleşmiş materyalin Ca^{+2} salım miktarını azalttığını bildirmişlerdir (Camilleri, 2014).

Çalışmamızda Endocem MTA grubunda da, Biodentine ve Retro MTA gruplarına kıyasla kalsiyum salımının düşük olduğu bulunmuştur. L. Han ve diğerleri (Han, Kodama ve Okiji, 2015) 14 gün süresince fosfat tamponlu salin içerisinde beklettikleri Endocem MTA'nın kalsiyum ve fosfor içeren apatit benzeri yüzey çökeltileri oluşturduğunu ve kalsiyum iyon salımının 6,95 mg/L olduğunu bildirmişlerdir. Düşük kalsiyum salımı, en azından kısmen, pozzolanik reaksiyon sırasında kalsiyum hidroksit tüketimine bağlanabilir, çünkü pozzolanik reaksiyon süreci hidrasyon sırasında üretilen serbest kalsiyum hidroksit miktarını azaltır (Snellings, Mertens ve Elsen, 2012).

Chung ve diğerleri (2016) pozzolan simanının majör bileşeni amorf ya da camsı silika olmasına karşın, Endocem MTA'nın kimyasal kompozisyonunun radyoopasite için %20 bizmut oksit ilavesiyle, hacimce %46,7 CaO, %5,43 Al_2O_3 , %12,8 SiO_2 , %3,03 MgO, %2,32 Fe_2O_3 , %2,36 SO_3 %0,21 TiO_2 , %14,5 $\text{H}_2\text{O}/\text{CO}_2$ ve %11,0 Bi_2O_3 içeren doğal saf siman yapısıyla MTA'ya çok benzer olduğunu bildirmişlerdir. Steril su ile karıştırıldığında, hidrasyon ısısını düşürecek, pH'yı nötralize edecek ve baskı dayanımını arttıracak olan serbest kalsiyum hidroksit miktarında kademeli bir azalma ve kalsiyum silikat hidrat ($\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) oluşumunda bir artış meydana gelir (Chung ve diğerleri, 2016).

Han ve diğerleri (Han, Kodama ve Okiji, 2015), Endocem MTA'nın kompozisyonunda alüminyum içerdiğini bulmuşlardır. Materyalin elde edildiği doğal Portland simanı, Portland simanı içerikleri içerisinde en hızlı hidrasyon oranına

sahip olan ana element olan trikalsiyum aluminat içerdiğinden, bu normal bir bulgudur. Bu trikalsiyum aluminat içeriği saf trikalsiyum silikatlar ile karşılaştırıldığında, trikalsiyum silikat/trikalsiyum aluminat kompozitlerin hidrasyon sürecini hızlandırmakta, sertleşme süresini kısaltmakta ve erken baskı dayanımını arttırmaktadır (Saghiri ve diğerleri, 2017; Black ve diğerleri, 2006). Bu tip etkiler tercih edilir olmasına karşın, trikalsiyum aluminat farklı hidratlar oluşturmak üzere çok hızlı bir şekilde su ile reaksiyona girer. Bu hidratlar bir difüzyon bariyeri yaratarak trikalsiyum silikat ve dikalsiyum silikatın hidrasyonunu önleyerek, 'flash-set' adı verilen ve materyal içeriği ve materyali çevreleyen sıvı arasındaki iyon değişimini azaltan hızlı bir sertleşmeye neden olur (Darvell ve Wu, 2011).

Retro MTA'dan salınan kalsiyum miktarı Endocem MTA ve Theracal LC'den yüksek ancak Biodentine seviyesinden anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Retro MTA'dan salınan kalsiyum miktarı materyal içeriğinden kaynaklı olabilir. Retro MTA'nın partikülleri ProRoot MTA'ya göre daha incedir. Küçük partiküller içermesi, karıştırma sıvısıyla temasa geçen yüzey alanını artırarak erken dönem dayanımının daha yüksek olmasına ve kullanımının daha rahat olmasına neden olmaktadır. Retro MTA, kalsiyum karbonat, alüminyum oksit, silikon dioksit gibi hidrofilik materyaller ile radyoopasite için ilave edilmiş hidrolik kalsiyum zirkonya karışımıdır. Trikalsiyum silikatların hidrasyonları sırasında çekirdeklenme için merkez olarak görev yapacak daha ince kalsiyum karbonat partikülleri içerdiğinden ve kalsiyum zirkonya içeriği nedeniyle, Retro MTA'dan salınan kalsiyum miktarının, Endocem MTA ve Theracal LC ile kıyaslandığında daha fazla olduğunu düşünmekteyiz (Che ve diğerleri, 2016).

İnkübasyon dönemi sonunda numuneler çıkartıldıktan sonra bekletme solüsyonlarının pH'ları değerlendirildiğinde, değerlerin kontrol grubunda 8,29; Retro MTA grubunda 10,9; Biodentine grubunda 9,83, Theracal LC grubunda 8,91 ve Endocem MTA grubunda 10,02 olduğu bulunmuştur.

Gandolfi ve diğerleri (Gandolfi ve diğerleri, 2013b) yaptıkları çalışmada, Biodentine için pH değerini, bulduğumuz değerden çok az yüksek olmak üzere 9,19 olarak bildirmiştir.

Gandolfi ve diğerlerinin (Gandolfi ve diğerleri, 2012) bir başka çalışmasında Theracal LC'nin 3 saat ile 3 günlük sürede bekletme solüsyonunu alkalize ederek pH 10-11 seviyesine çıkardığı ve bunu takiben 7 ile 14 günlük sürede pH'nın 8-8,5 olduğu bildirilmiştir. Bu bulgu, bu tez çalışmasında Theracal LC için elde edilen pH değeriyle uyumludur. Ayrıca, araştırmacılar materyalin çözünürlüğü düşük olmasına karşın, materyal içeriğindeki hidrofilik rezin nedeniyle, Portland simanı parçacıklarının hidrasyonunun başlamasını sağlayacak kadar su emilimine izin verdiğini bildirmişlerdir.

Che ve diğerleri (Che ve diğerleri, 2016), 24 saat sonunda Endocem MTA'ya ait bekletme solüsyonunun pH değerinin 10,14 olduğunu, benzer şekilde bir başka çalışma (Kim, M., Yang, Kim, H., ve Ko, 2014) 7 gün sonunda pH değerinin 11,33 olduğunu bildirmiştir.

Retro MTA'nın üretici firması, pH'nın başlangıçta 12,5 olduğunu 4 hafta sonra bu değer 8'e düştüğünü söylemektedir. Ancak Che ve diğerleri (2016) 24 saat sonunda Retro MTA'nın pH değerinin 11,36 olduğunu göstermişlerdir. Souza ve diğerleri (2015) 4 haftalık süreç boyunca daha düşük değerler olan 9,93 ile 7,9 arasında pH değerleri bildirmişler ve bunun sebebinin materyalin bekletme sıvısı ile temasta olan alanının daha küçük olmasına bağlı farklı metodolojik yaklaşımları olduğunu bildirmişlerdir.

Farklı araştırmacıların elde ettikleri pH değerleri arasındaki bu gibi farklılıklar, ölçüm sürecinde izlenen metodolojideki farklılıklara ve bekletme çözeltisinin tipi ve kullanılan pH ölçüm cihazı gibi laboratuvar koşullarına bağlı olabilir.

Günümüze kadar dentin demineralizasyon/remineralizasyonunu değerlendirmek amacıyla pek çok farklı yöntem kullanılmıştır. Çalışmamızda remineralizasyonun kalitatif özelliklerinin belirlenmesi için SEM görüntüleme yöntemi kullanılmıştır. Tarama elektron mikroskobu ve enerji dağılımlı X-ışını analizi (SEM-EDX) yüzey analizinde ve dentinin inorganik kısmının incelenmesinde sıklıkla kullanılan yüzey derinlik analizi ile birlikte yüzey topografisine ait yüksek çözünürlükte görüntüler elde edilmesini sağlayan oldukça kullanışlı kantitatif bir yöntemdir. SEM, yaklaşık 50 nm civarında noktasal çözünürlükte, numune yüzeylerinin sub-mikrometrik

morfolojilerinin değerlendirilmesine imkan veren bilgiler sunar. Elde edilen mikrografların siyah-beyaz olması sebebiyle insan gözü tarafından anlaşılması kolaydır (Goldstein ve diğerleri, 2003). EDX, kullanıcının incelenen numunenin yüzeyini oluşturan elementlerin varlığını ve göreceli miktarını belirlemesini sağlayan spektroskopik bir tekniktir (Olea-Mejia ve diğerleri, 2014).

Çalışmamızda remineralizasyon sürecinin görsel ve sayısal olarak değerlendirilmesi amacıyla her gruptan 2 numune SEM-EDX değerlendirilmesine tabi tutulmuştur. Bu incelemelerde, remineralizasyon amacıyla kullanılan materyaller uzaklaştırıldıktan sonra, bu materyallerle kontakta olan dentin yüzeyleri SEM ile incelenmiş ve EDX ile yüzeydeki elementlerin miktarları sayısal olarak tayin edilmiştir. Kontrol grubunda bulunan demineralize edildikten sonra remineralizasyon materyali kullanılmamış ve DPBS içerisinde bekletilmiş olan örneklerin SEM görüntüleri incelendiğinde, yüzeyde herhangi bir remineralizasyon belirtisi izlenmemiş, dentin tübüllerinin tamamının açık olduğu görülmüştür. Aynı örneklerin EDX analizlerinde, demineralizasyondan sonra bile kalsiyum ve fosfat pikleri izlenmektedir. Gandolfi ve diğerleri (2011e), Raman spektroskopisi kullanarak yaptıkları çalışmada, 2 saat %17 EDTA kullanımı ile 50 mikrometreye kadar bir demineralizasyon oluştuğunu bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda EDTA demineralizasyonunun sınırlı bir alanda kaldığını ve bu nedenle EDX analizlerinde demineralize örneklerde kalsiyum ve fosfat piklerinin görüldüğünü düşünüyoruz. Ayrıca, demineralizasyonun dentinde kollajen liflerinin arasındaki minerallerden başladığı ve demineralizasyonun ilerleyen evrelerinde kollajen lifleri içerisindeki minerallerin bu sürece dahil olduğu bilinmektedir (Balooch ve diğerleri, 2008). Bu nedenle, EDX analizinde saptanan kalsiyum ve fosfat pikleri, uyguladığımız demineralizasyon işleminin süresine ve kullanılan demineralizasyon solüsyonuna bağlı olarak dentin dokusu içerisinde kalan mineral kristallerini de gösteriyor olabilir (Balooch ve diğerleri, 2008; Bertassoni ve diğerleri, 2011).

Yalnızca demineralizasyon uygulanmış örneklerin kalsiyum değerleri 16,58-24,13 (atomik %) arasında iken fosfat değerleri 12,05-20,41(atomik %) arasında bulunmuştur. Bu grubun Ca/P oranı 1,18-1,52 aralığındadır. Ayrıca EDX analizi sonucunda bu grupta karbon, oksijen, eser miktarda sodyum ve önemsiz miktarlarda magnezyum, silisyum, klorin ve potasyum saptanmıştır. Bu grupta

belirlenmiş olan artmış karbon ve oksijen seviyeleri dentinin açığa çıkmış kollajen matriksine ve inorganik içeriğe bağlanabilir. Diğer elementlerin ise bekletme solüsyonu kaynaklı olduğunu düşünülmektedir.

Biodentine grubunda, SEM incelemesi örneklerin pek çok bölgesinde, dentin tübül ağızlarının tıklandığını, yüzeyin neredeyse tamamının, küresel, asiküler ve talaş tip kristal yapısında, kalın bir tabaka çökelti ile kaplı olduğunu göstermektedir. Bu örneklerin EDX analizleri yüksek oranlarda kalsiyum ve fosfat içeriğine ilaveten, materyal içeriğine bağlı olabilecek eser miktarda çinko ve zirkonyum ile birlikte klor ve silikon varlığını göstermektedir. Biodentine grubunda kalsiyum değerleri 20,19-29,69 (atomik %) arasında iken fosfat değerleri 7,63-13,91(atomik %) değerleri arasında bulunmuştur. Bu grubun Ca/P oranı 2,01-2,64 aralığındadır. Bu grupta, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş olan kalsiyum değerlerinin, Biodentine'in içeriğindeki elementlerin katkısına bağlı olduğu söylenebilir. Benzer şekilde, Grech ve diğerleri (Grech, Mallia ve Camilleri, 2013), Camilleri ve diğerleri (Camilleri, Sorrentino ve Damidot, 2013) ve Gandolfi ve diğerleri (Gandolfi ve diğerleri, 2013b) de fosfat tamponlu çözeltilerde bekletildiğinde, Biodentine'in hidrate olmuş yüzeylerinde artan kalsiyum miktarları bildirmişlerdir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında, Biodentine grubu daha yüksek oksijen seviyeleri gösterirken, fosfat ve klor miktarlarının daha düşük olduğu ve kontrol grubundan farklı olarak silikon, çinko ve zirkonyum elementlerine ait pikler gösterdiği bulunmuştur. Zirkonyum pikleri, Biodentine içerisine radyoopasite için ilave edilen zirkonyum oksit varlığıyla ilişkilidir. Camilleri ve diğerlerinin (Camilleri ve diğerleri, 2014) yaptıkları çalışmanın sonuçları bu bulgularımızı destekler niteliktedir.

Fosfatın atomik yüzdesinin düşük olması, Ca/P oranının artmasına neden olmaktadır. Bu bulgu, yüzeyde oluşan çökeltideki farklı kalsiyum fosfat fazları ile ilgili olabilir.

Theracal grubunda, dentin yüzeylerinde kontrol grubuna göre artmış bir çökelti oluşumu gözlenmekle birlikte, Biodentin grubuna kıyasla belirgin şekilde daha az çökelti oluşumu saptanmıştır. Dentin tübülleri nadiren tam olarak tıkalı olmasına ve bazı dentin tübülleri parsiyel olarak tıkanmasına karşın, Kontrol grubuna ait SEM görüntüleriyle kıyaslandığında dentin tübül ağızlarının bu grupta daha dar olduğu

söylenbilir. Oluşan çökelti, küresel, asiküler, iğ benzeri ve romboidal yapıdadır. Bu çökelti, EDX analizleri incelendiğinde, yüksek kalsiyum ve fosfat içeriği yanında, eser miktarda zirkonyum, çinko, silikon, klor ve magnezyum pikleri izlenmektedir. Kalsiyum değerleri 18,05-34,15 (atomik %) arasında iken fosfat değerleri 10,41-20,07 (atomik %) değerleri arasında bulunmuştur. Bu grubun Ca/P oranı 1,36-2,13 (atomik %) aralığındadır. Bunların yanında EDX analizinde, karbon, oksijen, eser miktarda sodyum, önemsiz miktarlarda magnezyum, silikon, klor, potasyum, çinko ve zirkonyum elementleri tespit edilmiştir. Bu grupta karbon miktarının Biodentine grubuna göre yüksek olması, Theracal grubundaki örneklerin yüzeylerinin daha az miktarda çökelti oluşumuyla tıkanmış olmasına ve açıkta kalan dentin yüzeylerinin daha fazla olmasına bağlı olabilir. Ayrıca, bu grupta gözlemlenen daha düşük Ca/P oranı, apatit yapı oluşturmak üzere bağlanmamış, serbest fosfat varlığına ve bu grupta oluşan çökelti,lerdeki kalsiyum fosfat fazlarının Biodentine’de oluşan kalsiyum fosfat fazlarından farklı olmasına bağlanabilir.

Endocem MTA grubunda, dentin örneklerinin yüzeylerinin tamamında çökelti,lerin düzensiz dağılımları söz konusudur. Dentin tübülleri kontrol grubuna göre daralmış izlenirken, çökelti,lerin olduğu bölgelerde mineral tıkaçları ile dentin tübülleri,nin tıkanmış izlenmiştir. Mikro-küreselden, granüler, talaş şeklinde ve romboidale kadar farklı şekil ve boyutlarda çökelti,ler gözlenmektedir. Daha büyük büyütmelerde, çökelti,lerden bazılarında asiküler görüntü de izlenebilmektedir. EDX analizi sonuçları, yüksek miktarda kalsiyum ve fosfat yanında, çinko, zirkonyum, klor, silikon, oksijen, karbon, potasyum ve magnezyum elementlerine ait pikler içermektedir ki bunlar materyalin Portland simanına benzer pozzolanik içeriği ile ilgili olabilir. Bu elementlerin bazılarının varlığı Sun-Jung Park ve diğerleri (2014) tarafından yapılan, Endocem MTA’nın biyouyumluluğunun ProRoot MTA ile karşılaştırıldığı çalışmada da gösterilmiştir. Çalışma sonucunda araştırmacılar, enerji dağılımlı X-ışını spektroskopi analizi sonuçlarına göre Endocem MTA ve ProRoot MTA’nın kalsiyum, oksijen ve silikon gibi benzer elemental içeriğe sahip olduğunu bildirmişlerdir

Bu grubun kalsiyum değerleri 18,52-23,84 (atomik %) arasında iken fosfat değerleri 8,86-16,47 (atomik %) değerleri arasında bulunmuştur. Bu grubun Ca/P oranı ise 1,44-2,09 (atomik %) aralığındadır. Ayrıca EDS analizi sonuçları, karbon, oksijen,

eser miktarda sodyum ve önemsiz miktarlarda magnezyum, silikon, klor, potasyum, çinko ve zirkonyum elementlerinin varlığını göstermektedir. Bu grupta izlenen en önemli değişiklik, çok düşük miktarlarda da olsa (0-0,34 atomik %), aliminyum elementine ait pikler göstermesidir. Çökeltilerdeki aliminyum elementinin varlığının, materyal içeriğindeki Al_2O varlığına bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Retro MTA grubunda benzer şekilde düzensiz olarak dağılmış, farklı konfigürasyonlarda çökelti izlenmiştir. Dentin tübüllerinin bazıları farklı kristal yapısında, nispeten kalın bir tabaka ile kaplanmış olarak izlenmektedir. Bu grubun kalsiyum değerleri 0-38,97 (atomik %) arasında iken fosfat değerleri 19,95-31 (atomik %) değerleri arasında bulunmuştur. Bu grubun Ca/P oranı ise 1,41-2,32 (atomik %) aralığındadır. Bu çökeltilerin elemental analizleri, yüksek kalsiyum fosfat içeriğine ilaveten, karbon, oksijen, eser miktarda sodyum ve önemsiz miktarlarda magnezyum, silikon, klor, potasyum, çinko, zirkonyum ve baryum elementlerine ait pikler de içermektedir. Baryum elementinin varlığı, üretici firma tarafından materyal içeriğinde bildirilmemiştir.

Materyallerle komşu dentin yüzeylerinde kalsiyum fosfat çökeltilerinin varlığının doğrulanması bu materyallerin mineralizasyon potansiyelleri olduğunu göstermektedir. Ayrıca SEM görüntülerinde izlenen ve EDX analizleriyle varlığı doğrulanan bu çökeltilerin varlığının elde edilmiş olan Ca^{+2} salım değerleri ve pH bulgularıyla birlikte ele alındığında, demineralize dentinin mikrosertlik mekanik özelliklerinin, bu materyallerin kullanılmasıyla nasıl artmış olabileceğini açıkladığını düşünüyoruz.

Çalışmamızda kullandığımız tüm materyallerin dentin yüzeylerinde oluşturdukları çökeltilerin elemental analizleri, silikon varlığını göstermektedir. Silikon, osteoklast aktivitesini inhibe ederek (Hung, Kao, Chen, Shie ve Huang, 2013), ve düşük dozlarda bile osteoblastik yolları stimüle ederek (Murphy, Wren, Towler ve Boyd, 2010) kemik oluşumunda rol oynamaktadır. Bunun yanında silikon alkalen fosfataz aktivitesini ve osteoblastlarda mineralize nodül oluşumunu arttırmaktadır (Kim, Bu, Sung ve Choi, 2013).

Kalsiyum sađlamalarının yanında bu simanlar temasta oldukları dentin dokusu ierisine silikon da salmaktadırlar (Han ve Okiji, 2011). Florür ile karşılaştırıldığında silikonun dentin matriks remineralizasyonu için güçlü bir uyarıcı olduđu bildirilmiştir (Saito, Toyooka, Ito ve Crenshaw, 2003). Bunun yanında kalsiyum silikat simanlar, apatit oluşumunu (Tay, Pashley, Rueggeberg, Loushine ve Weller, 2007) ve matriks fosforilasyonunu destekleyen güçlü bir alkaliniteye sahip olduklarından, dentin remineralizasyonunu arttırabilecek (Inaba, Ruben, Takagi, ve Arends, 1996) potansiyel kostik proteolitik ortam oluşturlar.

Kalsiyum silikat simanların hidrasyonları sonucu açığa çıkan kalsiyum silikat hidrat jel fazı, apatitlerin çekirdeklenmesinde önemli rol oynamaktadır. Kalsiyum silikat hidrat fazı, alkali ortamda sıklıkla SiO^- şeklinde protonlarından arınmış, Si-OH silanol grupları ieren ince pöröz matrikstir (Nelson, ve Featherstone, 1982). Daha önce bildirilmiş olduđu gibi hem Si-OH hem de SiO^- , apatit birikimi için heterojen çekirdeklenme bölgeleri olarak rol oynayabilirler (Gandolfi ve diğlerleri, 2011). Bu nedenle bu tez çalışmasında kullanılan remineralizasyon materyallerinin tamamının apatit heterojen çekirdeklenme bölgeleri oluşturabilme potansiyelleri olduğunu düşünöyoruz.

Remineralizasyon konsepti, mine ve dentin gibi diř sert dokularındaki apatit minerallerinin yeniden bu dokularla birleşmesi temeline dayanmaktadır. Demineralize dentinin remineralizasyonu, ağız sıvılarından veya bazı özel tedavilerle diř kaynaklardan gelen kalsiyum, fosfat, florür gibi mineral iyonlarının katılımıyla, yüzey altındaki kristal artıklarına ait olan mevcut apatit kristallerinin büyümesi ile gerçekleşmektedir (Featherstone, 1990; Ten Cate ve Featherstone, 1991). Çalışmamızda Kontrol grubunda Ca^{+2} ve fosfat pikleri bulunması, demineralizasyon sonrasında dentin yüzeylerinde kristal artıkları bulunduğunun bir kanıtıdır. Diğler gruplarda trikalsiyum silikat simanların kullanımı ile yüzeyde görölen kristal çökeltileri, Kontrol grubunda var olduđu düşünölen bu kristal artıklarının yüzeylerine diğler iyonların ilavesiyle kristal yapının büyüdüğünü gösteriyor olabilir.

Çökelen mineraller, çevresel mineral iyonları varlığında zaman ierisinde devamlı bir remineralizasyonu teşvik edecek, minerallerin daha ileri çekirdeklenmeleri için sabit bir alan gibi görev görürler (Gandolfi, 2011c).

Dentinin remineralizasyonu ya kollajen lifleri arasındaki gevşek demineralize dentin matriksine basit çökmesiyle (ağ remineralizasyonu) ya da mineralin dentin matriks yapısına sıkı kimyasal birleşimiyle (fonksiyonel remineralizasyon) gerçekleşmektedir. Minerallerin basit çökelmeleri, mineral içeriğinde bir artışa neden olmakla birlikte, dentin matriksinin organik bileşenleri ile gerekli olan ideal etkileşimi sağlamayabilir (Gandolfi, 2011c). Çalışmamızda kullanılan trikalsiyum silikat esaslı materyallerin tümü, DPBS solüsyonunun pH'sında bir artışa sebep olmuştur. Süper doymuş hale geçen ve alkali olan bu ortamda, materyallerden salınan Ca^{+2} , DPBS içerisindeki fosfat ile etkileşime geçerek kalsiyum fosfat tuzları olarak çökelmiş olabilir. SEM görüntülerinde, yüzeyde oluşan çökeltilerin gevşek bir tabaka halinde değil, dentin yüzeyleriyle sıkı temasta görünmelerinin sebebinin, çökelen bu kalsiyum fosfat tuzlarının, demineralize dentin yüzeylerinde bulunan kristal artıklarıyla kimyasal bağlar oluşturarak, mevcut apatit çekirdek alanlarının büyümesini sağlamaları olduğunu düşünüyoruz.

Dentinde bulunan kollajen olmayan proteinlerin varlığının remineralizasyon üzerindeki etkisinin değerlendirilmemiş olması bu çalışmanın kısıtlamalarından birisidir. Daha ileri çalışmalarda demineralizasyon ve remineralizasyonda etkinlikleri kanıtlanmış bu kollajen olmayan proteinlerin izole edilerek dentinin saflaştırılması ve sonrasında bu proteinlerin farklı miktar ve kombinasyonlarda ilavelerinin kristal çekirdeklenmesi ve büyümesi üzerindeki etkileri de incelenmelidir.

Ayrıca genel klinik uygulamalarda, enfekte dentinin uzaklaştırılmasından sonra, geriye kalan etkilenmiş dentin yüzeylerine kavite dezenfektanlarının uygulanması, pek çok avantajı nedeniyle kabul görmüş bir yöntemdir. Daha ileri çalışmalarda dentin yüzeylerine uygulanan bu kavite dezenfektanlarının kullanımları sonrasında trikalsiyum silikat siman uygulanmasının biyomimetik remineralizasyon etkinliği değerlendirilmelidir.

Çalışmamızda kullanılmış olan trikalsiyum silikat esaslı materyallerin tamamı, farklı oranlarda da olsa dentinin demineralizasyonla kaybedilmiş olan mikrosertliğini ilk dentin mikrosertlik değerlerine yaklaştırmış, yine farklı oranlarda Ca^{+2} salımı yapmış ve pH'yı yükseltmiş, dentin yüzeylerinde kristal benzeri çökelti oluşturmuş ve Kontrol grubuna kıyasla yüzeydeki Ca/P oranlarını arttırmıştır. Bu bulgular göz

önünde bulundurularak, bu materyallerin tamamının, materyale bağılı olarak farklı oranlarda biyomimetik remineralizasyon potansiyeline sahip olduğu söylenebilir. Bu bulgular ışığında, klinikte enfekte dentin uzaklaştırıldıktan sonra kalan etkilenmiş dentin yüzeylerine bu materyallerin uygulanmasının, kollojen lifler arasında kalan kristal artıklarının büyümesi/yerine konmasına, dolayısıyla dentinin kaybedilmiş mekanik özelliklerinin yeniden kazandırılmasına yardımcı olacağını düşünmekteyiz. Ancak bu *in vitro* tez çalışmasında, ağız ortamında biyomimetik remineralizasyonu önleyebilecek olan, pelikül ve biyofilm oluşumu dikkate alınmamıştır. Enfekte dentinde bulunan asidürik bakterilerin ve bunların metabolik ürünlerinin demineralizasyon sürecinde rol alması, remineralizasyon sürecini de değiştirebilir. Bu nedenle bakteri, pelikül ve biyofilm oluşumunun bu materyallerin remineralizasyon özelliklerine etkilerinin *in situ* çalışma modelleri ve *in vivo* klinik çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünüyoruz.

6. SONUÇLAR

Demineralize edilmiş dentin yüzeylerine uygulanan ikinci jenerasyon hızlı sertleşen trikalsiyum silikat esaslı simanların remineralizasyon etkinliklerinin *in vitro* olarak değerlendirildiği tez çalışmamızın sınırları dahilinde:

1. Demineralize edilmiş dentin yüzeylerine hiçbir uygulama yapılmadan 1 hafta süresince doku sıvısı benzeri solüsyonda bekletmenin, dentinin kaybedilmiş mikrosertlik değerlerini eski haline getirmediği,
2. Demineralize dentin yüzeylerine uygulanan tüm trikalsiyum silikat simanların, doku sıvısı benzeri solüsyonda bekletildiklerinde 1 hafta süre içerisinde Vickers sertlik değerlerini arttırdığı,
3. Theracal dışındaki tüm trikalsiyum silikat simanların uygulanmasının, demineralize dentin sertliğini başlangıç dentin sertlik değerlerine benzer hale getirdiği,
4. Materyaller arasında en yüksek Ca^{+2} salımının Biodentin'de en düşük kalsiyum salımının ise rezin içeren Theracal'de izlendiği,
5. Endocem MTA ve Theracal'in Ca^{+2} salım değerlerinin herhangi bir remineralizasyon materyali uygulanmamış olan Kontrol grubuna benzer olduğu,
6. Materyallerin tamamının doku sıvısı benzeri solüsyonun alkalinitesini arttırdığı,
7. Materyallerin tamamının demineralize dentin yüzeylerinde yüzeyin tamamını ya da bir kısmını kaplayan farklı Ca/P oranlarında kristal yapıda çökeltiler oluşturduğu,
8. Endocem MTA grubunun SEM-EDX analizinde, üretici firma tarafından varlığı belirtilmemiş olmasına karşın, Baryum elementine ait pikler olduğu söylenebilir.

Tüm bu bulgular ışığında, bu *in vitro* çalışmada etkinliği değerlendirilmiş olan tüm ikinci jenerasyon trikalsiyum silikat simanların, demineralize dentini remineralize etme potansiyeline sahip olduğu, ancak bu değerlendirmelerin remineralizasyon

sürecini deęiřtirebilecek olan bakteri, bakteri plaęı ve pelikıl varlıęında daha ileri *in situ* ve *in vivo* alıřmalarla desteklenmesi gerektięi söylenebilir.



KAYNAKLAR

- About, I., Bottero, M. J., de Denato, P., Camps, J., Franquin, J. C., and Mitsiadis, T. A. (2000). Human dentin production in vitro. *Experimental Cell Research*, 258(1), 33-41.
- Addadi, L., Berman, A., Oldak, J. M., and Weiner, S. (1989). Structural and stereochemical relations between acidic macromolecules of organic matrices and crystals. *Connective Tissue Research*, 21(1-4), 127-135.
- Al-Daafas, A., and Al-Nazhan, S. (2007). Histological evaluation of contaminated furcal perforation in dogs' teeth repaired by MTA with or without internal matrix. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 103(3), 92-99.
- Al-Hezaimi, K., Al-Hamdan, K., Naghshbandi, J., Oglesby, S., Simon, J. H., and Rotstein, I. (2005). Effect of white-colored mineral trioxide aggregate in different concentrations on *Candida albicans* in vitro. *Journal of Endodontics*, 31(9), 684-686.
- Anderson, H. C. (1967). Electron microscopic studies of induced cartilage development and calcification. *The Journal of Cell Biology*, 35(1), 81-101.
- Anderson, H. C., Matsuzawa, T., Sajdera, S. W., and Ali, S. Y. (1970). Membranous particles in calcifying cartilage matrix. *Transactions of the New York Academy of Sciences*, 32(5 Series II), 619-630.
- Aprillia, I., Usman, M., and Asrianti, D. (2018). Comparison of calcium ion release from MTA-Angelus® and Biodentine®. *Journal of Physics: Conference Series*, 1073(5), 052008.
- Arends, J., Ruben, J. L., Christoffersen, J., Jongebloed, W. L., and Zuidgeest, T. G. M. (1990). Remineralization of human dentine in vitro. *Caries research*, 24(6), 432-435.
- Arnold, S., Plate, U., Wiesmann, H. P., Stratmann, U., Kohl, H., and Höhling, H. J. (1999). Quantitative electron spectroscopic diffraction analyses of the crystal formation in dentine. *Journal of Microscopy*, 195(Pt 1), 58-63.
- Atmeh, A. R., Chong, E. Z., Richard, G., Boyde, A., Festy, F., and Watson, T. F. (2015). Calcium silicate cement-induced remineralisation of totally demineralised dentine in comparison with glass ionomer cement: tetracycline labelling and two-photon fluorescence microscopy. *Journal of Microscopy*, 257(2), 151-160.

- Attin, T., Meyer, K., Hellwig, E., Buchalla, W., and Lennon, A. M. (2003). Effect of mineral supplements to citric acid on enamel erosion. *Archives of Oral Biology*, 48(11), 753-759.
- Baht, G. S., O'Young, J., Borovina, A., Chen, H., Tye, C. E., Karttunen, M., Lajoie, G. A., Hunter, G. K., and Goldberg, H. A. (2010). Phosphorylation of Ser136 is critical for potent bone sialoprotein-mediated nucleation of hydroxyapatite crystals. *Biochemical Journal*, 428(3), 385-395.
- Balooch, M., Habelitz, S., Kinney, J. H., Marshall, S. J., and Marshall, G. W. (2008). Mechanical properties of mineralized collagen fibrils as influenced by demineralization. *Journal of Structural Biology*, 162(3), 404-410.
- Barbour, M., Finke, M., Parker, D. M., Hughes, J. A., Allen, G. C., and Addy, M. (2006). The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. *Journal of Dentistry*, 34(3), 207-213.
- Bertassoni, L. E., and Swain, M. V. (2012). Influence of hydration on nanoindentation induced energy expenditure of dentin. *Journal of Biomechanics*, 45(9), 1679-1683.
- Bertassoni, L. E., Habelitz, S., Kinney, J. H., Marshall, S. J., and Marshall, G. W. (2009). Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. *Caries Research*, 43(1), 70-77.
- Bertassoni, L. E., Habelitz, S., Marshall, S. J., and Marshall, G. W. (2011). Mechanical recovery of dentin following remineralization in vitro—an indentation study. *Journal of Biomechanics*, 44(1), 176-181.
- Bevelander, G., and Nakahara, H. (1966). The formation and mineralization of dentin. *The Anatomical Record*, 156(3), 303-323.
- Beyer-Olsen, E. M., and Ørstavik, D. (1981). Radiopacity of root canal sealers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 51(3), 320-328.
- Black, L., Breen, C., Yarwood, J., Deng, C. S., Phipps, J., and Maitland, G. (2006). Hydration of tricalcium aluminate (C 3 A) in the presence and absence of gypsum—studied by Raman spectroscopy and X-ray diffraction. *Journal of Materials Chemistry*, 16(13), 1263-1272.
- Bonucci, E. (1967). Fine structure of early cartilage calcification. *Journal of Ultrastructure Research*, 20(1-2), 33-50.
- Bonucci, E. (2009). Calcified tissue histochemistry: from microstructures to nanoparticles. *European Journal of Histochemistry*, 49(1), 1-10.

- Boonrungsiman, S., Gentleman, E., Carzaniga, R., Evans, N. D., McComb, D. W., Porter, A. E., and Stevens, M. M. (2012). The role of intracellular calcium phosphate in osteoblast-mediated bone apatite formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(35), 14170-14175.
- Bortoluzzi, E. A., Broon, N. J., Bramante, C. M., Felipe, W. T., Tanomaru Filho, M., and Esberard, R. M. (2009). The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with a radiopacifier. *Journal of Endodontics*, 35(4), 550-554.
- Bortoluzzi, E. A., Guerreiro-Tanomaru, J. M., Tanomaru-Filho, M., and Duarte, M. A. H. (2009). Radiographic effect of different radiopacifiers on a potential retrograde filling material. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 108(4), 628-632.
- Boskey, A. L., Boyan, B. D., and Schwartz, Z. (1997). Matrix vesicles promote mineralization in a gelatin gel. *Calcified Tissue International*, 60(3), 309-315.
- Boskey, A. L., Gadaleta, S., Gundberg, C., Doty, S. B., Ducky, P., and Karsenty, G. (1998). Fourier transform infrared microspectroscopic analysis of bones of osteocalcin-deficient mice provides insight into the function of osteocalcin. *Bone*, 23(3), 187-196.
- Boskey, A. L., Maresca, M., Doty, S., Sabsay, B., and Veis, A. (1990). Concentration-dependent effects of dentin phosphophoryn in the regulation of in vitro hydroxyapatite formation and growth. *Bone and Mineral*, 11(1), 55-65.
- Boskey, A. L., Maresca, M., Ullrich, W., Doty, S. B., Butler, W. T., and Prince, C. W. (1993). Osteopontin-hydroxyapatite interactions in vitro: inhibition of hydroxyapatite formation and growth in a gelatin-gel. *Bone and Mineral*, 22(2), 147-159.
- Boskey, A. L., Paschalis, E. P., Binderman, I., and Doty, S. B. (2002). BMP-6 accelerates both chondrogenesis and mineral maturation in differentiating chick limb-bud mesenchymal cell cultures. *Journal of Cellular Biochemistry*, 84(3), 509-519.
- Boskey, A. L., Spevak, L., Doty, S. B., and Rosenberg, L. (1997). Effects of bone CS-proteoglycans, DS-decorin, and DS-biglycan on hydroxyapatite formation in a gelatin gel. *Calcified Tissue International*, 61(4), 298-305.
- Boskey, A. L., Spevak, L., Paschalis, E., Doty, S. B., and McKee, M. D. (2002). Osteopontin deficiency increases mineral content and mineral crystallinity in mouse bone. *Calcified Tissue International*, 71(2), 145-154.

- Boskey, A. L., Young, M. F., Kilts, T., and Verdelis, K. (2005). Variation in mineral properties in normal and mutant bones and teeth. *Cells Tissues Organs*, 181(3-4), 144-153.
- Boston, D. W. (2003). New device for selective dentin caries removal. *Quintessence international*, 34(9), 678-685.
- Bourd-Boittin, K., Fridman, R., Fanchon, S., Septier, D., Goldberg, M., and Menashi, S. (2005). Matrix metalloproteinase inhibition impairs the processing, formation and mineralization of dental tissues during mouse molar development. *Experimental Cell Research*, 304(2), 493-505.
- Bozeman, T. B., Lemon, R. R., and Eleazer, P. D. (2006). Elemental analysis of crystal precipitate from gray and white MTA. *Journal of Endodontics*, 32(5), 425-428.
- Bresciani, E., Wagner, W. C., Navarro, M. F. L., Dickens, S. H., and Peters, M. C. (2010). In vivo dentin microhardness beneath a calcium-phosphate cement. *Journal of Dental Research*, 89(8), 836-841.
- Bronckers, A. L., Gay, S., Finkelman, R. D., and Butler, W. T. (1987). Immunolocalization of Gla proteins (osteocalcin) in rat tooth germs: comparison between indirect immunofluorescence, peroxidase-antiperoxidase, avidin-biotin-peroxidase complex, and avidin-biotin-gold complex with silver enhancement. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 35(8), 825-830.
- Burr, D. B. (2004). Anatomy and physiology of the mineralized tissues: role in the pathogenesis of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 12 (Suppl A), S20-30.
- Butler, W. T. (1989). The nature and significance of osteopontin. *Connective Tissue Research*, 23(2-3), 123-136.
- Butler, W. T. (1998). Dentin matrix proteins. *European Journal of Oral Sciences*, 106(S1), 204-210.
- Butler, W. T., and Ritchie, H. (2003). The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. *International Journal of Developmental Biology*, 39(1), 169-179.
- Butler, W. T., Bhowan, M., Brunn, J. C., D'Souza, R. N., Farach-Carson, M. C., Happonen, R. P., Schrohenloher, R. E., Seyer, J. M., Somerman, M. J., and Foster, R. A. (1992). Isolation, characterization and immunolocalization of a 53-kDa dentin sialoprotein (DSP). *Matrix*, 12(5), 343-351.

- Caldwell, R. C., Muntz, M. L., Gilmore, R. W., and Pigman, W. (1957). Microhardness studies of intact surface enamel. *Journal of Dental Research*, 36(5), 732-738.
- Calzada, M. J., Kuznetsova, S. A., Sipes, J. M., Rodrigues, R. G., Cashel, J. A., Annis, D. S., Mosher, D. F., and Roberts, D. D. (2008). Calcium indirectly regulates immunochemical reactivity and functional activities of the N-domain of thrombospondin-1. *Matrix Biology*, 27(4), 339-351.
- Camilleri, J. (2007). Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *International Endodontic Journal*, 40(6), 462-470.
- Camilleri, J. (2011). Characterization and hydration kinetics of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Dental Materials*, 27(8), 836-844.
- Camilleri, J. (2014). Hydration characteristics of Biodentine and Theracal used as pulp capping materials. *Dental Materials*, 30(7), 709-715.
- Camilleri, J., and Gandolfi, M. G. (2010). Evaluation of the radiopacity of calcium silicate cements containing different radiopacifiers. *International Endodontic Journal*, 43(1), 21-30.
- Camilleri, J., Laurent, P., and About, I. (2014). Hydration of biodentine, Theracal LC, and a prototype tricalcium silicate-based dentin replacement material after pulp capping in entire tooth cultures. *Journal of Endodontics*, 40(11), 1846-1854.
- Camilleri, J., Laurent, P., and About, I. (2014). Hydration of biodentine, Theracal LC, and a prototype tricalcium silicate-based dentin replacement material after pulp capping in entire tooth cultures. *Journal of endodontics*, 40(11), 1846-1854.
- Camilleri, J., Montesin, F. E., Brady, K., Sweeney, R., Curtis, R. V., and Ford, T. R. P. (2005). The constitution of mineral trioxide aggregate. *Dental Materials*, 21(4), 297-303.
- Camilleri, J., Sorrentino, F., and Damidot, D. (2013). Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dental Materials*, 29(5), 580-593.
- Cao, C., Mei, M., Li, Q. L., Lo, E., and Chu, C. (2015). Methods for biomimetic remineralization of human dentine: a systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 4615-4627.
- Cao, Y., Liu, W., Ning, T., Mei, M. L., Li, Q. L., Lo, E. C., and Chu, C. H. (2014). A novel oligopeptide simulating dentine matrix protein 1 for biomimetic mineralization of dentine. *Clinical Oral Investigations*, 18(3), 873-881.

- Carvalho, R. M., Tay, F., Sano, H., Yoshiyama, M., and Pashley, D. H. (2000). Long-term mechanical properties of EDTA-demineralized dentin matrix. *Journal of Adhesive Dentistry*, 2(3), 193-199.
- Cassidy, N., Fahey, M., Prime, S. S., and Smith, A. J. (1997). Comparative analysis of transforming growth factor- β isoforms 1–3 in human and rabbit dentine matrices. *Archives of Oral Biology*, 42(3), 219-223.
- Cazalbou, S., Combes, C., Eichert, D., Rey, C., and Glimcher, M. J. (2004). Poorly crystalline apatites: evolution and maturation in vitro and in vivo. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 22(4), 310-317.
- Che, J. L., Kim, J. H., Kim, S. M., Choi, N. K., Moon, H. J., Hwang, M. J., Song, H. J., and Park, Y. J. (2016). Comparison of setting time, compressive strength, solubility, and pH of four kinds of MTA. *Korean Journal of Dental Materials* 43(1), 61-71.
- Chen, C. C., Ho, C. C., Chen, C. H. D., and Ding, S. J. (2009). Physicochemical properties of calcium silicate cements for endodontic treatment. *Journal of Endodontics*, 35(9), 1288-1291.
- Chen, J., Burger, C., Krishnan, C. V., Chu, B., Hsiao, B. S., and Glimcher, M. J. (2005). In vitro mineralization of collagen in demineralized fish bone. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 206(1), 43-51.
- Chen, J., McCulloch, C. A., and Sodek, J. (1993). Bone sialoprotein in developing porcine dental tissues: cellular expression and comparison of tissue localization with osteopontin and osteonectin. *Archives of Oral Biology*, 38(3), 241-249.
- Chenu, C., Ibaraki, K., Robey, P. G., Delmas, P. D., and Young, M. F. (1994). Cloning and sequence analysis of bovine bone sialoprotein cDNA: conservation of acidic domains, tyrosine sulfation consensus repeats, and RGD cell attachment domain. *Journal of Bone and Mineral Research*, 9(3), 417-421.
- Chiang, T. Y., and Ding, S. J. (2013). Physicochemical properties of radiopaque dicalcium silicate cement as a root-end filling material in an acidic environment. *International Endodontic Journal*, 46(3), 234-241.
- Chien, Y. C., Burwell, A. K., Saeki, K., Fernandez-Martinez, A., Pugach, M. K., Nonomura, G., Habelitz, S., Ho, S. P., Rapozo-Hilo, M., Featherstone, J. D., Marshall, G. W., and Marshall, S. J. (2016). Distinct decalcification process of dentin by different cariogenic organic acids: Kinetics, ultrastructure and mechanical properties. *Archives of Oral Biology*, 100(63), 93-105.

- Chuenarrom, C., Benjakul, P., and Daosodsai, P. (2009). Effect of indentation load and time on knoop and vickers microhardness tests for enamel and dentin. *Materials Research*, 12(4), 473-476.
- Chun, Y. H. P., Yamakoshi, Y., Kim, J. W., Iwata, T., Hu, J. C. C., and Simmer, J. P. (2006). Porcine SPARC: isolation from dentin, cDNA sequence, and computer model. *European Journal of Oral Sciences*, 114, 78-85.
- Chung, C. J., Kim, E., Song, M., Park, J. W., and Shin, S. J. (2016). Effects of two fast-setting calcium-silicate cements on cell viability and angiogenic factor release in human pulp-derived cells. *Odontology*, 104(2), 143-151.
- Chunmuang, S., Jitpukdeebodintr, S., Chuenarrom, C., and Benjakul, P. (2007). Effect of xylitol and fluoride on enamel erosion in vitro. *Journal of Oral Science*, 49(4), 293-297.
- Cocking-Johnson, D., and Sauk, J. J. (1983). The interaction of bovine dentine phosphophoryn and collagen during fibrillogenesis of collagen in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 742(1), 49-53.
- Cohen, S. R., Apter, N., Jesse, S., Kalinin, S., Barlam, D., Peretz, A. I., Ziskind, D., and Wagner, H. D. (2008). AFM investigation of mechanical properties of dentin. *Israel Journal of Chemistry*, 48(2), 65-72.
- Cölfen, H., and Antonietti, M. (2005). Mesocrystals: inorganic superstructures made by highly parallel crystallization and controlled alignment. *Angewandte Chemie International Edition*, 44(35), 5576-5591.
- Collys, K., Slop, D., Cleymaet, R., Coomans, D., and Michotte, Y. (1992). Load dependency and reliability of microhardness measurements on acid-etched enamel surfaces. *Dental Materials*, 8(5), 332-335.
- Craig, R. G., and Peyton, F. A. (1958). Elastic and mechanical properties of human dentin. *Journal of Dental Research*, 37(4), 710-718.
- Craig, R. G., and Peyton, F. A. (1958). The microhardness of enamel and dentin. *Journal of Dental Research*, 37(4), 661-668.
- Dahl, T., and Veis, A. (2003). Electrostatic interactions lead to the formation of asymmetric collagen-phosphophoryn aggregates. *Connective Tissue Research*, 44(1), 206-213.
- Dahl, T., Sabsay, B., and Veis, A. (1998). Type I collagen-phosphophoryn interactions: specificity of the monomer-monomer binding. *Journal of Structural Biology*, 123(2), 162-168.

- Dammaschke, T., Gerth, H. U., Züchner, H., and Schäfer, E. (2005). Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. *Dental Materials*, 21(8), 731-738.
- Darvell, B. W., and Wu, R. C. T. (2011). "MTA"—an hydraulic silicate cement: review update and setting reaction. *Dental Materials*, 27(5), 407-422.
- de Vasconcelos, B. C., Bernardes, R. A., Cruz, S. M. L., Duarte, M. A. H., de Magalhães Padilha, P., Bernardineli, N., Garcia, R. B., Bramante, C. M., and de Moraes, I. G. (2009). Evaluation of pH and calcium ion release of new root-end filling materials. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 108(1), 135-139.
- de Vries, I. G., Quartier, E., Van Steirteghem, A., Boute, P., Coomans, D., and Wisse, E. (1986). Characterization and immunocytochemical localization of dentine phosphoprotein in rat and bovine teeth. *Archives of Oral Biology*, 31(1), 57-66.
- Dey, A., Bomans, P. H., Müller, F. A., Will, J., Frederik, P. M., de With, G., and Sommerdijk, N. A. (2010). The role of prenucleation clusters in surface-induced calcium phosphate crystallization. *Nature Materials*, 9(12), 1010-1014.
- Dimuzio, M. T., and Veis, A. (1978a). Phosphophoryns—major noncollagenous proteins of rat incisor dentin. *Calcified Tissue Research*, 25(1), 169-178.
- Dimuzio, M. T., and Veis, A. (1978b). The biosynthesis of phosphophoryns and dentin collagen in the continuously erupting rat incisor. *Journal of Biological Chemistry*, 253(19), 6845-6852.
- Du, R., Wu, T., Liu, W., Li, L., Jiang, L., Peng, W., Chang, J., and Zhu, Y. (2013). Role of the Extracellular Signal-regulated Kinase 1/2 Pathway in Driving Tricalcium Silicate-induced Proliferation and Biomineralization of Human Dental Pulp Cells In Vitro. *Journal of Endodontics*, 39(8), 1023-1029.
- Duarte, M. A. H., Minotti, P. G., Rodrigues, C. T., Zapata, R. O., Bramante, C. M., Tanomaru Filho, M., Vivan, R. R., de Moraes, I. G., Bombarda, F., and de Andrade, F. B. (2012). Effect of different radiopacifying agents on the physicochemical properties of white Portland cement and white mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 38(3), 394-397.
- Ehrlich, H., Koutsoukos, P. G., Demadis, K. D., and Pokrovsky, O. S. (2009). Principles of demineralization: Modern strategies for the isolation of organic frameworks: Part II. Decalcification. *Micron*, 40(2), 169-193.
- Eisenmann, D. R., and Yaeger, J. A. (1972). In-vitro mineralization of hypomineralized dentine induced by strontium and fluoride in the rat. *Archives of Oral Biology*, 17(6), 987-999.

- Embery, G., Hall, R., Waddington, R., Septier, D., and Goldberg, M. (2001). Proteoglycans in dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 12(4), 331-349.
- Ericson, D., Kidd, E., McComb, D., Mjör, I., and Noack, M. J. (2003). Minimally invasive dentistry—concepts and techniques in cariology. *Oral Health and Preventive Dentistry*, 1(1), 59-72.
- Estrela, C., Sydney, G. B., Bammann, L. L., and Felipe, J. O. (1995). Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Brazilian Dental Journal*, 6(2), 85- 90.
- Fanchon, S., Bourd, K., Septier, D., Everts, V., Beertsen, W., Menashi, S., and Goldberg, M. (2004). Involvement of matrix metalloproteinases in the onset of dentin mineralization. *European Journal of Oral Sciences*, 112(2), 171-176.
- Featherstone, J. D. (1990). An updated understanding of the mechanism of dental decay and its prevention. *Nutr Q*, 14, 5-11.
- Featherstone, J. D. B. (2008). Dental caries: a dynamic disease process. *Australian dental journal*, 53(3), 286-291.
- Featherstone, J., and Lussi, A. (2006). Understanding the Chemistry of Dental Erosion. *Monographs in Oral Science Dental Erosion*, 66-76
- Finkelman, R. D., Mohan, S., Jennings, J. C., Taylor, A. K., Jepsen, S., and Baylink, D. J. (1990). Quantitation of growth factors IGF-I, SGF/IGF-II, and TGF- β in human dentin. *Journal of Bone and Mineral Research*, 5(7), 717-723.
- Fisher, L. W., Torchia, D. A., Fohr, B., Young, M. F., and Fedarko, N. S. (2001). Flexible structures of SIBLING proteins, bone sialoprotein, and osteopontin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 280(2), 460-465.
- Fleming, G. J., Farooq, A. A., and Barralet, J. E. (2003). Influence of powder/liquid mixing ratio on the performance of a restorative glass-ionomer dental cement. *Biomaterials*, 24(23), 4173-4179.
- Formosa, L. M., Mallia, B., Bull, T., and Camilleri, J. (2012). The microstructure and surface morphology of radiopaque tricalcium silicate cement exposed to different curing conditions. *Dental Materials*, 28(5), 584-595.
- Forsback, A. P., Areva, S., and Salonen, J. (2004). Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. *Acta Odontologica Scandinavica*, 62(1), 14-20.

- Fratzl, P., Fratzl-Zelman, N., Klaushofer, K., Vogl, G., and Koller, K. (1991). Nucleation and growth of mineral crystals in bone studied by small-angle X-ray scattering. *Calcified tissue international*, 48(6), 407-413.
- Fuentes, V., Ceballos, L., Osorio, R., Toledano, M., Carvalho, R. M., and Pashley, D. H. (2004). Tensile strength and microhardness of treated human dentin. *Dental Materials*, 20(6), 522-529.
- Fujisawa, R., and Kuboki, Y. (1991). Preferential adsorption of dentin and bone acidic proteins on the (100) face of hydroxyapatite crystals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1075(1), 56-60.
- Fusayama, T. (1979). Two layers of carious dentin; diagnosis and treatment. *Operative Dentistry*, 4(2), 63-70.
- Fusayama, T., Okuse, K., and Hosoda, H. (1966). Relationship between hardness, discoloration, and microbial invasion in carious dentin. *Journal of Dental Research*, 45(4), 1033-1046.
- Gafni, G., Septier, D., and Goldberg, M. (1999). Effect of chondroitin sulfate and biglycan on the crystallization of hydroxyapatite under physiological conditions. *Journal of Crystal Growth*, 205(4), 618-623.
- Gandolfi, M. G. (2012). A new method for evaluating the diffusion of Ca^{2+} and OH^- ions through coronal dentin into the pulp. *Iranian Endodontic Journal*, 7(4), 189-197.
- Gandolfi, M. G., and Prati, C. (2010f). MTA and F-doped MTA cements used as sealers with warm gutta-percha. Long-term study of sealing ability. *International Endodontic Journal*, 43(10), 889-901.
- Gandolfi, M. G., Ciapetti, G., and Taddei, P. (2010g). Effect of ageing on bioactivity and in vitro biological properties of calcium-silicate cements for dentistry. *Dental Materials*, 26, 974-92.
- Gandolfi, M. G., Ciapetti, G., Taddei, P., Perut, F., Tinti, A., Cardoso, M. V., Meerbeek, B. V., and Prati, C. (2010c). Apatite formation on bioactive calcium-silicate cements for dentistry affects surface topography and human marrow stromal cells proliferation. *Dental Materials*, 26(10), 974-992.
- Gandolfi, M. G., Iacono, F., Agee, K., Siboni, F., Tay, F., Pashley, D. H., and Prati, C. (2009). Setting time and expansion in different soaking media of experimental accelerated calcium-silicate cements and ProRoot MTA. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 108(6), e39-e45.

- Gandolfi, M. G., Shah, S. N., Feng, R., Prati, C., and Akintoye, S. O. (2011b). Biomimetic calcium-silicate cements support differentiation of human orofacial mesenchymal stem cells. *Journal of Endodontics*, 37(8), 1102-1108.
- Gandolfi, M. G., Siboni, F., and Prati, C. (2012). Chemical–physical properties of TheraCal, a novel light-curable MTA-like material for pulp capping. *International Endodontic Journal*, 45(6), 571-579.
- Gandolfi, M. G., Siboni, F., Botero, T., Bossù, M., Riccitiello, F., and Prati, C. (2015). Calcium silicate and calcium hydroxide materials for pulp capping: biointeractivity, porosity, solubility and bioactivity of current formulations. *Journal of Applied Biomaterials and Functional Materials*, 13(1), 43-60.
- Gandolfi, M. G., Taddei, P., Modena, E., Siboni, F., and Prati, C. (2013a). Biointeractivity-related versus chemi/physisorption-related apatite precursor-forming ability of current root end filling materials. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 101(7), 1107-1123.
- Gandolfi, M. G., Taddei, P., Siboni, F., Modena, E., Ciapetti, G., and Prati, C. (2011a). Development of the foremost light-curable calcium-silicate MTA cement as root-end in oral surgery. Chemical–physical properties, bioactivity and biological behavior. *Dental Materials*, 27(7), e134-e157.
- Gandolfi, M. G., Taddei, P., Siboni, F., Modena, E., De Stefano, E. D., and Prati, C. (2011c). Biomimetic remineralization of human dentin using promising innovative calcium-silicate hybrid “smart” materials. *Dental Materials*, 27(11), 1055-1069.
- Gandolfi, M. G., Taddei, P., Tinti, A., and Prati, C. (2010e). Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. *International Endodontic Journal*, 43(10), 917-929.
- Gandolfi, M. G., Taddei, P., Tinti, A., Dorigo, E. D. S., Rossi, P. L., and Prati, C. (2010a). Kinetics of apatite formation on a calcium-silicate cement for root-end filling during ageing in physiological-like phosphate solutions. *Clinical Oral Investigations*, 14(6), 659-668.
- Gandolfi, M. G., Van Landuyt, K., Taddei, P., Modena, E., Van Meerbeek, B., and Prati, C. (2010b). Environmental scanning electron microscopy connected with energy dispersive x-ray analysis and Raman techniques to study ProRoot mineral trioxide aggregate and calcium silicate cements in wet conditions and in real time. *Journal of Endodontics*, 36(5), 851-857.

- Gandolfi, M., Siboni, F., Polimeni, A., Bossù, M., Riccitiello, F., Rengo, S., and Prati, C. (2013b). In vitro screening of the apatite-forming ability, biointeractivity and physical properties of a tricalcium silicate material for endodontics and restorative dentistry. *Dentistry Journal*, 1(4), 41-60.
- Gandolfi, M., Taddei, P., Pondrelli, A., Zamparini, F., Prati, C., and Spagnuolo, G. (2019). Demineralization, Collagen Modification and Remineralization Degree of Human Dentin after EDTA and Citric Acid Treatments. *Materials*, 12(1), 25.
- Ganss, B., Kim, R. H., and Sodek, J. (1999). Bone sialoprotein. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 10(1), 79-98.
- Gao, W., Smales, R. J., and Yip, H. K. (2000). Demineralisation and remineralisation of dentine caries, and the role of glass-ionomer cements. *International Dental Journal*, 50(1), 51-56.
- George, A., Bannon, L., Sabsay, B., Dillon, J. W., Malone, J., Veis, A., Jenkins, N. A., Gilbert, D. J., and Copeland, N. G. (1996). The carboxyl-terminal domain of phosphophoryn contains unique extended triplet amino acid repeat sequences forming ordered carboxyl-phosphate interaction ridges that may be essential in the biomineralization process. *Journal of Biological Chemistry*, 271(51), 32869-32873.
- Gericke, A., Qin, C., Spevak, L., Fujimoto, Y., Butler, W. T., Sørensen, E. S., and Boskey, A. L. (2005). Importance of phosphorylation for osteopontin regulation of biomineralization. *Calcified Tissue International*, 77(1), 45-54.
- Glimcher, M. J. (1998). The Nature of the Mineral Phase in Bone: Biological and Clinical Implications. In L. V. Avioli and S. M. Krane (Eds.), *Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders* (3rd edition, pp. 23-52e). Cambridge: Academic Press.
- Glimcher, M.J. (1989). Mechanism of Calcification - Role of Collagen Fibrils and Collagen Phosphoprotein Complexes Invitro and Invivo. *The Anatomical Record*, 224(2), 139-153.
- Glowacki, J., and Lian, J. B. (1987). Impaired recruitment and differentiation of osteoclast progenitors by osteocalcin-deplete bone implants. *Cell Differentiation*, 21(4), 247-254.
- Goldberg, M., and Boskey, A. L. (1996). Lipids and biomineralizations. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, 31(2), III-187.
- Goldberg, M., and Septier, D. (1996). A comparative study of the transition between predentin and dentin, using various preparative procedures in the rat. *European Journal of Oral Sciences*, 104(3), 269-277.

- Goldberg, M., and Septier, D. (2002). Phospholipids in amelogenesis and dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 13(3), 276-290.
- Goldberg, M., Feinberg, J., Lecolle, S., Kaetzel, M. A., Rainteau, D., Lessard, J. L., Dedman, J.R., and Weinman, S. (1991). Co-distribution of annexin VI and actin in secretory ameloblasts and odontoblasts of rat incisor. *Cell and Tissue Research*, 263(1), 81-89.
- Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., and Boskey, A. (2011). Dentin: structure, composition and mineralization: The role of dentin ECM in dentin formation and mineralization. *Frontiers in Bioscience (Elite edition)*, 3, 711–735.
- Goldberg, M., Molon, M. N., and Septier, D. (1980). Effect of 2 methods of demineralization on the on the preservation of glycoproteins and proteoglycans in the intertubular and peritubular dentin in the horse. *Journal de Biologie Buccale*, 8(4), 315-330.
- Goldberg, M., Septier, D., and Escaig-Haye, F. (1987). Glycoconjugates in dentinogenesis and dentine. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, 17(2), III-112.
- Goldberg, M., Septier, D., Oldberg, Å., Young, M. F., and Ameye, L. G. (2006). Fibromodulin-deficient mice display impaired collagen fibrillogenesis in predentin as well as altered dentin mineralization and enamel formation. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 54(5), 525-537.
- Goldberg, M., Septier, D., Rapoport, O., Iozzo, R. V., Young, M. F., and Ameye, L. G. (2005). Targeted disruption of two small leucine-rich proteoglycans, biglycan and decorin, exerts divergent effects on enamel and dentin formation. *Calcified Tissue International*, 77(5), 297-310.
- Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Echlin, P., Joy, D. C., Lyman, C. E., Lifshin, E., Sawyer, L., and Michael, J. R. (2003). Special topics in scanning electron microscopy. In *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis* (pp.195-270). Boston, MA: Springer.
- Gotliv, B. A., and Veis, A. (2007). Peritubular dentin, a vertebrate apatitic mineralized tissue without collagen: role of a phospholipid-proteolipid complex. *Calcified Tissue International*, 81(3), 191-205.
- Gotliv, B. A., Robach, J. S., and Veis, A. (2006). The composition and structure of bovine peritubular dentin: mapping by time of flight secondary ion mass spectroscopy. *Journal of Structural Biology*, 156(2), 320-333.

- Gou, Z., Chang, J., Zhai, W., and Wang, J. (2005). Study on the self-setting property and the in vitro bioactivity of β -Ca₂SiO₄. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 73(2), 244-251.
- Graham, L., Cooper, P. R., Cassidy, N., Nor, J. E., Sloan, A. J., and Smith, A. J. (2006). The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials*, 27(14), 2865-2873.
- Grech, L., Mallia, B., and Camilleri, J. (2013). Characterization of set Intermediate Restorative Material, Biodentine, Bioaggregate and a prototype calcium silicate cement for use as root-end filling materials. *International Endodontic Journal*, 46(7), 632-641.
- Greenawalt, J. W., Rossi, C. S., and Lehninger, A. L. (1964). Effect of active accumulation of calcium and phosphate ions on the structure of rat liver mitochondria. *The Journal of Cell Biology*, 23(1), 21-38.
- Greenberg, S. A., and Chang, T. N. (1965). The hydration of tricalcium silicate. *The Journal of Physical Chemistry*, 69(2), 553-561.
- Guidoni, G., Denkmayr, J., Schöberl, T., and Jäger, I. (2006). Nanoindentation in teeth: influence of experimental conditions on local mechanical properties. *Philosophical Magazine*, 86(33-35), 5705-5714.
- Gutiérrez-Salazar, M. D. P., and Reyes-Gasga, J. (2003). Microhardness and chemical composition of human tooth. *Materials Research*, 6(3), 367-373.
- Habelitz, S., Balooch, M., Marshall, S. J., Balooch, G., and Marshall Jr, G. W. (2002). In situ atomic force microscopy of partially demineralized human dentin collagen fibrils. *Journal of Structural Biology*, 138(3), 227-236.
- Hall, R., Septier, D., Embery, G., and Goldberg, M. (1999). Stromelysin-1 (MMP-3) in forming enamel and predentine in rat incisor—coordinated distribution with proteoglycans suggests a functional role. *The Histochemical Journal*, 31(12), 761-770.
- Han, L., and Okiji, T. (2011). Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate-based endodontic materials into root canal dentine. *International Endodontic Journal*, 44(12), 1081-1087.
- Han, L., and Okiji, T. (2013). Bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials. *International Endodontic Journal*, 46(9), 808-814.

- Han, L., Kodama, S., and Okiji, T. (2015). Evaluation of calcium-releasing and apatite-forming abilities of fast-setting calcium silicate-based endodontic materials. *International Endodontic Journal*, 48(2), 124-130.
- Han, L., Okiji, T., and Okawa, S. (2010). Morphological and chemical analysis of different precipitates on mineral trioxide aggregate immersed in different fluids. *Dental Materials Journal*, 29(5), 512-517.
- Hara, A. T., Carvalho, J. C., and Zero, D. T. (2015). Causes of Dental Erosion: Extrinsic Factors. *Dental Erosion and Its Clinical Management*, 69-96
- He, G., Ramachandran, A., Dahl, T., George, S., Schultz, D., Cookson, D., Veis, A. and George, A. (2005). Phosphorylation of phosphophoryn is crucial for its function as a mediator of biomineralization. *Journal of Biological Chemistry*, 280(39), 33109-33114.
- Hicks, J., Garcia-Godoy, F., and Flaitz, C. (2004). Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 28(3), 203-214.
- Hicks, M. J., Flaitz, C. M., and Silverstone, L. M. (1985). Initiation and progression of caries-like lesions of enamel: effect of periodic treatment with synthetic saliva and sodium fluoride. *Caries Research*, 19(6), 481-489.
- Hicks, M. J., Flaitz, C. M., and Silverstone, L. M. (1986). Fluoride uptake in vitro of sound enamel and caries-like lesions of enamel from fluoride solutions of relatively low concentration. *The Journal of Pedodontics*, 11(1), 47-61.
- Holland, P. W., Harper, S. J., McVey, J. H., and Hogan, B. L. (1987). In vivo expression of mRNA for the Ca^{++} -binding protein SPARC (osteonectin) revealed by in situ hybridization. *The Journal of Cell Biology*, 105(1), 473-482.
- Hørsted-Bindslev, P., and Løvschall, H. (2002). Treatment outcome of vital pulp treatment. *Endodontic Topics*, 2(1), 24-34.
- Huan, Z., and Chang, J. (2007). Novel tricalcium silicate/monocalcium phosphate monohydrate composite bone cement. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 82(2), 352-359.
- Huan, Z., and Chang, J. (2008). Study on physicochemical properties and in vitro bioactivity of tricalcium silicate-calcium carbonate composite bone cement. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19(8), 2913-2918.

- Hung, C. J., Kao, C. T., Chen, Y. J., Shie, M. Y., and Huang, T. H. (2013). Antiosteoclastogenic activity of silicate-based materials antagonizing receptor activator for nuclear factor kappaB ligand-induced osteoclast differentiation of murine macrophages. *Journal of Endodontics*, 39(12), 1557-1561.
- Hunter, G. K., and Szigety, S. K. (1992). Effects of proteoglycan on hydroxyapatite formation under non-steady-state and pseudo-steady-state conditions. *Matrix*, 12(5), 362-368.
- Hunter, G. K., Kyle, C. L., and Goldberg, H. A. (1994). Modulation of crystal formation by bone phosphoproteins: structural specificity of the osteopontin-mediated inhibition of hydroxyapatite formation. *Biochemical Journal*, 300(3), 723-728.
- Ichijo, T., Yamashita, Y., and Terashima, T. (1993). Observations on structural features and characteristics of biological apatite crystals. 5. Three-dimensional observation on ultrastructure of human enamel crystals. *The Bulletin of Tokyo Medical and Dental University*, 40(3), 135-146.
- Iijima, Y., Takagi, O., Ruben, J., and Arends, J. (1999). In vitro remineralization of in vivo and in vitro formed enamel lesions. *Caries Research*, 33(3), 206-213.
- Inaba, D., Ruben, J., Takagi, O., and Arends, J. (1996). Effect of sodium hypochlorite treatment on remineralization of human root dentine in vitro. *Caries Research*, 30(3), 218-224.
- Islam, I., Chng, H. K., and Yap, A. U. J. (2006). Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and Portland cement. *Journal of Endodontics*, 32(3), 193-197.
- Jadlowiec, J., Koch, H., Zhang, X., Campbell, P. G., Seyedain, M., and Sfeir, C. (2004). Phosphoryn regulates the gene expression and differentiation of NIH3T3, MC3T3-E1, and human mesenchymal stem cells via the integrin/MAPK signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 279(51), 53323-53330.
- Ji, W., Yang, F., Ma, J., Bouma, M. J., Boerman, O. C., Chen, Z., van den Beucken, J.J., and Jansen, J. A. (2013). Incorporation of stromal cell-derived factor-1 α in PCL/gelatin electrospun membranes for guided bone regeneration. *Biomaterials*, 34(3), 735-745.
- Juenger, M. C. G., Monteiro, P. J. M., Gartner, E. M., and Denbeaux, G. P. (2005). A soft X-ray microscope investigation into the effects of calcium chloride on tricalcium silicate hydration. *Cement and Concrete Research*, 35(1), 19-25.

- Kagayama, M., Sasano, Y., Tsuchiya, M., Watanabe, M., Mizoguchi, I., Kamakura, S., and Motegi, K. (2000). Confocal microscopy of Tomes' granular layer in dog premolar teeth. *Anatomy and Embryology*, 201(2), 131-137.
- Kasuga, T. (2005). Bioactive calcium pyrophosphate glasses and glass-ceramics. *Acta Biomaterialia*, 1(1), 55-64.
- Kawasaki, K., Ruben, J., Stokroos, I., Takagi, O., and Arends, J. (1999). The remineralization of EDTA-treated human dentine. *Caries Research*, 33(4), 275-280.
- Kawasaki, K., Ruben, J., Tsuda, H., Huysmans, M. C. D. N. J. M., and Takagi, O. (2000). Relationship between mineral distributions in dentine lesions and subsequent remineralization in vitro. *Caries Research*, 34(5), 395-403.
- Keene, D. R., San Antonio, J. D., Mayne, R., McQuillan, D. J., Sarris, G., Santoro, S. A., and Iozzo, R. V. (2000). Decorin binds near the C terminus of type I collagen. *Journal of Biological Chemistry*, 275(29), 21801-21804.
- Kielbassa, A. M., Wrbas, K. T., Schulte-Mönting, J., and Hellwig, E. (1999). Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. *Archives of Oral Biology*, 44(3), 243-251.
- Kim, E. C., Lee, B. C., Chang, H. S., Lee, W., Hong, C. U., and Min, K. S. (2008). Evaluation of the radiopacity and cytotoxicity of Portland cements containing bismuth oxide. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 105(1), e54-e57.
- Kim, E. J., Bu, S. Y., Sung, M. K., and Choi, M. K. (2013). Effects of silicon on osteoblast activity and bone mineralization of MC3T3-E1 cells. *Biological Trace Element Research*, 152(1), 105-112.
- Kim, H. W., Koh, Y. H., Kong, Y. M., Kang, J. G., and Kim, H. E. (2004). Strontium substituted calcium phosphate biphasic ceramics obtained by a powder precipitation method. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 15(10), 1129-1134.
- Kim, M., Yang, W., Kim, H., and Ko, H. (2014). Comparison of the biological properties of ProRoot MTA, OrthoMTA, and Endocem MTA cements. *Journal of Endodontics*, 40(10), 1649-1653.
- Kinney, J. H., Balooch, M., Marshall, S. J., Marshall Jr, G. W., and Weihs, T. P. (1996). Hardness and Young's modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Archives of Oral Biology*, 41(1), 9-13.

- Kinney, J. H., Gladden, J. R., Marshall, G. E. A., Marshall, S. J., So, J. H., and Maynard, J. D. (2004). Resonant ultrasound spectroscopy measurements of the elastic constants of human dentin. *Journal of Biomechanics*, 37(4), 437-441.
- Kinney, J. H., Habelitz, S., Marshall, S. J., and Marshall, G. W. (2003). The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *Journal of Dental Research*, 82(12), 957-961.
- Kokubo, T., and Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials*, 27(15), 2907-2915.
- Koubi, G., Colon, P., Franquin, J. C., Hartmann, A., Richard, G., Faure, M. O., and Lambert, G. (2013). Clinical evaluation of the performance and safety of a new dentine substitute, Biodentine, in the restoration of posterior teeth—a prospective study. *Clinical Oral Investigations*, 17(1), 243-249.
- Kuboki, Y., Fujisawa, R., Aoyama, K., and Sasaki, S. (1979). Calcium-specific precipitation of dentin phosphoprotein: a new method of purification and the significance for the mechanism of calcification. *Journal of Dental Research*, 58(9), 1926-1932.
- Kwang, S., and Abbott, P. (2014). The presence and distribution of bacteria in dentinal tubules of root filled teeth. *International Endodontic Journal*, 47(6), 600-610.
- Laurent, P., Camps, J., and About, I. (2012). Biodentine™ induces TGF- β 1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *International Endodontic Journal*, 45(5), 439-448.
- Laurent, P., Camps, J., De Méo, M., Déjou, J., and About, I. (2008). Induction of specific cell responses to a Ca₃SiO₅-based posterior restorative material. *Dental Materials*, 24(11), 1486-1494.
- Lazić, S. (1995). Microcrystalline hydroxyapatite formation from alkaline solutions. *Journal of Crystal Growth*, 147(1-2), 147-154.
- Lehninger, A. L. (1970). Mitochondria and calcium ion transport. *Biochemical Journal*, 119(2), 129.
- Lester, K. S., and Boyde, A. (1968). The surface morphology of some crystalline components of dentine. *Dentine and pulp: their structure and reactions*. Thomson and co LTD, 197-219.
- Leventouri, T. (2006). Synthetic and biological hydroxyapatites: crystal structure questions. *Biomaterials*, 27(18), 3339-3342.

- Li, X., and Chang, J. (2008). Preparation of bone-like apatite–collagen nanocomposites by a biomimetic process with phosphorylated collagen. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 85(2), 293-300.
- Li, X., De Munck, J., Van Landuyt, K., Pedano, M., Chen, Z., and Van Meerbeek, B. (2017). How effectively do hydraulic calcium-silicate cements re-mineralize demineralized dentin. *Dental Materials*, 33(4), 434-445.
- Liangjiao, C., Ping, Z., Ruoyu, L., Yanli, Z., Ting, S., Yanjun, L., and Longquan, S. (2015). Potential proinflammatory and osteogenic effects of dicalcium silicate particles in vitro. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 44, 10-22.
- Linde, A., and Goldberg, M. (1993). Dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 4(5), 679-728.
- Liu, Y., Li, N., Qi, Y., Niu, L. N., Elshafiy, S., Mao, J., Breschi, L., Pashley, D.H., and Tay, F. R. (2011). The use of sodium trimetaphosphate as a biomimetic analog of matrix phosphoproteins for remineralization of artificial caries-like dentin. *Dental Materials*, 27(5), 465-477.
- Liu, Y., Mai, S., Li, N., Yiu, C. K., Mao, J., Pashley, D. H., and Tay, F. R. (2011). Differences between top-down and bottom-up approaches in mineralizing thick, partially demineralized collagen scaffolds. *Acta Biomaterialia*, 7(4), 1742-1751.
- Lormée, P., Septier, D., Lecolle, S., Baudoin, C., and Goldberg, M. (1996). Dual incorporation of (35 S) sulfate into dentin proteoglycans acting as mineralization promoters in rat molars and predentin proteoglycans. *Calcified Tissue International*, 58(5), 368-375.
- Lovschall, H., Kjaergaard, P., and Thomsen, J. S. (2014). U.S. Patent No. US8722100B2. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Low, I. M. (1998). Effects of load and time on the hardness of a viscoelastic polymer. *Materials Research Bulletin*, 33(12), 1753-1758.
- Lussi, A., Crenshaw, M. A., and Linde, A. (1988). Induction and inhibition of hydroxyapatite formation by rat dentine phosphoprotein in vitro. *Archives of Oral Biology*, 33(9), 685-691.

- MacDougall, M., Simmons, D., Luan, X., Nydegger, J., Feng, J., and Gu, T. T. (1997). Dentin phosphoprotein and dentin sialoprotein are cleavage products expressed from a single transcript coded by a gene on human chromosome 4 Dentin phosphoprotein DNA sequence determination. *Journal of Biological Chemistry*, 272(2), 835-842.
- MacDougall, M., Slavkin, H. C., and Zeichner-David, M. (1992). Characteristics of phosphorylated and non-phosphorylated dentine phosphoprotein. *Biochemical Journal*, 287(2), 651-655.
- MACDOUGALL, M., Zeichner-David, M., and Slavkin, H. C. (1985). Production and characterization of antibodies against murine dentine phosphoprotein. *Biochemical Journal*, 232(2), 493-500.
- Maier, G. D., Lechner, J. H., and Veis, A. (1983). The dynamics of formation of a collagen-phosphoryn conjugate in relation to the passage of the mineralization front in rat incisor dentin. *Journal of Biological Chemistry*, 258(3), 1450-1455.
- Malkondu, Ö., Kazandağ, M. K., and Kazazoğlu, E. (2014). A review on biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. *BioMed Research International*, 2014, 160951-160961.
- Marchand, J., Bentz, D. P., Samson, E., and Maltais, Y. (2001). Influence of calcium hydroxide dissolution on the transport properties of hydrated cement systems. *Reactions of calcium hydroxide in concrete*. Westerville, OH: American Ceramic Society, 113-129.
- Marsh, M. E. (1989). Binding of calcium and phosphate ions to dentin phosphoryn. *Biochemistry*, 28(1), 346-352.
- Martinez, E. F., Silva, L., Furuse, C., Araújo, N., and Araújo, V. (2009). Dentin matrix protein 1 (DMP1) expression in developing human teeth. *Brazilian Dental Journal*, 20(5), 365-369.
- McHugh, C. P., Zhang, P., Michalek, S., and Eleazer, P. D. (2004). pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *Journal of Endodontics*, 30(4), 218-219.
- McKnight, D. A., Simmer, J. P., Hart, P. S., Hart, T. C., and Fisher, L. W. (2008). Overlapping DSPP mutations cause dentin dysplasia and dentinogenesis imperfecta. *Journal of Dental Research*, 87(12), 1108-1111.
- Mente, J., Geletneky, B., Ohle, M., Koch, M. J., Ding, P. G. F., Wolff, D., Dreyhaupt, J., Martin, N., Staehle, H. J., and Pfefferle, T. (2010). Mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide direct pulp capping: an analysis of the clinical treatment outcome. *Journal of Endodontics*, 36(5), 806-813.

- Meredith, N., Sherriff, M., Setchell, D. J., and Swanson, S. A. V. (1996). Measurement of the microhardness and Young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. *Archives of Oral Biology*, 41(6), 539-545.
- Meyer, J. L., and Eanes, E. D. (1978). A thermodynamic analysis of the amorphous to crystalline calcium phosphate transformation. *Calcified Tissue Research*, 25(1), 59-68.
- Moghaddame-Jafari, S., Mantellini, M. G., Botero, T. M., McDonald, N. J., and Nör, J. E. (2005). Effect of ProRoot MTA on pulp cell apoptosis and proliferation in vitro. *Journal of Endodontics*, 31(5), 387-391.
- Moradian-Oldak, J., Frolow, F., Addadi, L., and Weiner, S. (1992). Interactions between acidic matrix macromolecules and calcium phosphate ester crystals: relevance to carbonate apatite formation in biomineralization. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 247(1318), 47-55.
- Murphy, S., Wren, A. W., Towler, M. R., and Boyd, D. (2010). The effect of ionic dissolution products of Ca–Sr–Na–Zn–Si bioactive glass on in vitro cytocompatibility. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(10), 2827-2834.
- Nakajima, M., Kunawarote, S., Prasansuttiorn, T., and Tagami, J. (2011). Bonding to caries-affected dentin. *Japanese Dental Science Review*, 47(2), 102-114.
- Nanci, A. (2012). *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, and Function*, (8th edition). Montreal: ELSEVIER MOSBY, 165-201.
- Narayanan, K., Gajjeraman, S., Ramachandran, A., Hao, J., and George, A. (2006). Dentin matrix protein 1 regulates dentin sialophosphoprotein gene transcription during early odontoblast differentiation. *Journal of Biological Chemistry*, 281(28), 19064-19071.
- Narayanan, K., Srinivas, R., Ramachandran, A., Hao, J., Quinn, B., and George, A. (2001). Differentiation of embryonic mesenchymal cells to odontoblast-like cells by overexpression of dentin matrix protein 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(8), 4516-4521.
- Nawy, E. G. (2008). *Concrete construction engineering handbook*, (2nd edition). New York: CRC press, 3-14.
- Neame, P. J., Kay, C. J., McQuillan, D. J., Beales, M. P., and Hassell, J. R. (2000). Independent modulation of collagen fibrillogenesis by decorin and lumican. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 57(5), 859-863.

- Neel, E., Aljabo, A., Strange, A., Ibrahim, S., Coathup, M., Young, A. M., Bozec, L., and Mudera, V. (2016). Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 4743-4763.
- Nelson, D. G., and Featherstone, J. D. (1982). Preparation, analysis, and characterization of carbonated apatites. *Calcified Tissue International*, 34, S69-81.
- Ngo, H. C., Mount, G., Mc Intyre, J., Tuisuva, J., and Von Doussa, R. J. (2006). Chemical exchange between glass-ionomer restorations and residual carious dentine in permanent molars: an in vivo study. *Journal of Dentistry*, 34(8), 608-613.
- Ning, T. Y., Xu, X. H., Zhu, L. F., Zhu, X. P., Chu, C. H., Liu, L. K., and Li, Q. L. (2012). Biomimetic mineralization of dentin induced by agarose gel loaded with calcium phosphate. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 100(1), 138-144.
- Niu, L. N., Jiao, K., Zhang, W., Camilleri, J., Bergeron, B. E., Feng, H. L., Mao, J., Chen, J. H., Pashley, D. H., and Tay, F. R. (2014). A review of the bioactivity of hydraulic calcium silicate cements. *Journal of Dentistry*, 42(5), 517-533.
- Niu, L. N., Zhang, W., Pashley, D. H., Breschi, L., Mao, J., Chen, J. H., and Tay, F. R. (2014). Biomimetic remineralization of dentin. *Dental Materials*, 30(1), 77-96.
- Nudelman, F., Pieterse, K., George, A., Bomans, P. H., Friedrich, H., Brylka, L. J., Hilbers, P. A., de With, G., and Sommerdijk, N. A. (2010). The role of collagen in bone apatite formation in the presence of hydroxyapatite nucleation inhibitors. *Nature Materials*, 9(12), 1004-1009.
- Okiji, T., and Yoshida, K. (2009). Reparative dentinogenesis induced by mineral trioxide aggregate: a review from the biological and physicochemical points of view. *International journal of dentistry*, 2009(464280), 10-22.
- Olea-Mejia, O., Contreras-Bulnes, R., Zamudio-Ortega, C.M., Morales-Luckie, R.A., Olea-Cardoso, O., and López-Castañares, R. (2014). Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive Spectroscopy microanalysis applied to human dental specimens under laser irradiation for caries prevention. In Méndez-Vilas, A. (Eds), *Microscopy: advances in scientific research and education* (Vol. 1, pp 70-77) Badajoz: Formatex Research Center.
- Orimo, H. (2010). The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease. *Journal of Nippon Medical School*, 77(1), 4-12.

- Osorio, R., Osorio, E., Cabello, I., and Toledano, M. (2014). Zinc induces apatite and scholizite formation during dentin remineralization. *Caries Research*, 48(4), 276-290.
- Pampena, D. A., Robertson, K. A., Litvinova, O., Lajoie, G., Goldberg, H. A., and Hunter, G. K. (2004). Inhibition of hydroxyapatite formation by osteopontin phosphopeptides. *Biochemical Journal*, 378(3), 1083-1087.
- Paranjpe, A., Smoot, T., Zhang, H., and Johnson, J. D. (2011). Direct contact with mineral trioxide aggregate activates and differentiates human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*, 37(12), 1691-1695.
- Parirokh, M., and Torabinejad, M. (2010a). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *Journal of Endodontics*, 36(1), 16-27.
- Parirokh, M., and Torabinejad, M. (2010b). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *Journal of Endodontics*, 36(3), 400-413.
- Park, S. J., Heo, S. M., Hong, S. O., Hwang, Y. C., Lee, K. W., and Min, K. S. (2014). Odontogenic effect of a fast-setting pozzolan-based pulp capping material. *Journal of Endodontics*, 40(8), 1124-1131.
- Pelliccioni, G. A., Vellani, C. P., Gatto, M. R. A., Gandolfi, M. G., Marchetti, C., and Prati, C. (2007). Proroot mineral trioxide aggregate cement used as a retrograde filling without addition of water: an in vitro evaluation of its microleakage. *Journal of Endodontics*, 33(9), 1082-1085.
- Peng, S., Liu, X. S., Wang, T., Li, Z., Zhou, G., Luk, K. D., Guo, X. E., and Lu, W. W. (2010). In vivo anabolic effect of strontium on trabecular bone was associated with increased osteoblastogenesis of bone marrow stromal cells. *Journal of Orthopaedic Research*, 28(9), 1208-1214.
- Peng, W., Liu, W., Zhai, W., Jiang, L., Li, L., Chang, J., and Zhu, Y. (2011). Effect of tricalcium silicate on the proliferation and odontogenic differentiation of human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*, 37(9), 1240-1246.
- Prati, C., and Gandolfi, M. G. (2015). Calcium silicate bioactive cements: biological perspectives and clinical applications. *Dental Materials*, 31(4), 351-370.
- Prati, C., Parrilli, A. P., Fini, M., Dummer, P. M. H., and Gandolfi, M. G. (2011). interface porosity of human root canals sealed with a new flowable Mta-based sealer: a high-resolution micro-computed tomography study: r80. *International Endodontic Journal*, 44(12), 1203-1209.

- Prati, C., Siboni, F., Polimeni, A., Bossu', M., and Gandolfi, M. G. (2014). Use of calcium-containing endodontic sealers as apical barrier in fluid-contaminated wide-open apices. *Journal of Applied Biomaterials and Functional Materials*, 12(3), 263-270.
- Qin, C., Baba, O., and Butler, W. T. (2004). Post-translational modifications of sibling proteins and their roles in osteogenesis and dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 15(3), 126-136.
- Quinn, J. B., and D QUINN, G. (1997). Indentation brittleness of ceramics: a fresh approach. *Journal of Materials Science*, 32(16), 4331-4346.
- Rahima, M. Tsay, T., Andujar, M., and Veis, A. (1988). Localization of phosphophoryn in rat incisor dentin using immunocytochemical techniques. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 36(2), 153-157.
- Ramachandran, V. S., Paroli, R. M., Beaudoin, J. J., and Delgado, A. H. (2002). *Handbook of thermal analysis of construction materials*, (1st edition). New York: NOYES PUBLICATIONS, 146-149.
- Rashid, F., Shiba, H., Mizuno, N., Mouri, Y., Fujita, T., Shinohara, H., Ogawa, T., Kawaguchi, H., and Kurihara, H. (2003). The effect of extracellular calcium ion on gene expression of bone-related proteins in human pulp cells. *Journal of Endodontics*, 29(2), 104-107.
- Reichert, T., Störkel, S., Becker, K., and Fisher, L. W. (1992). The role of osteonectin in human tooth development: an immunohistological study. *Calcified Tissue International*, 50(5), 468-472.
- Ren, Y. (2011). Dental Erosion: Etiology, Diagnosis and Prevention. *ADA: The Academy of Dental Therapeutic and Stomatology*. 76.
- Reyes-Carmona, J. F., Felipe, M. S., and Felipe, W. T. (2009). Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white portland cement with dentin in a phosphate-containing fluid. *Journal of Endodontics*, 35(5), 731-736.
- Ricketts, D. N., Kidd, E. A., and Beighton, D. (1995). Operative and microbiological validation of visual, radiographic and electronic diagnosis of occlusal caries in non-cavitated teeth judged to be in need of operative care. *British Dental Journal*, 179(6), 214-220.
- Ridi, F., Fratini, E., Mannelli, F., and Baglioni, P. (2005). Hydration process of cement in the presence of a cellulosic additive. A calorimetric investigation. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(30), 14727-14734.

- Ritchie, H. H., and Wang, L. H. (1996). Sequence determination of an extremely acidic rat dentin phosphoprotein. *Journal of Biological Chemistry*, 271(36), 21695-21698.
- Ritchie, H. H., Hou, H., Veis, A., and Butler, W. T. (1994). Cloning and sequence determination of rat dentin sialoprotein, a novel dentin protein. *Journal of Biological Chemistry*, 269(5), 3698-3702.
- Rodrigues, L. K. A., Cury, J. A., and dos Santos, M. N. (2004). The effect of gamma radiation on enamel hardness and its resistance to demineralization in vitro. *Journal of Oral Science*, 46(4), 215-220.
- Ruch, J. V., Lesot, H., Peterkova, R., and Peterka, M. (1997). Evolving rodent dentition. *BioEssays*, 19(11), 1041-1041.
- Ryge, G., Foley, D. E., and Fairhurst, C. W. (1961). Micro-indentation hardness. *Journal of Dental Research*, 40(6), 1116-1126.
- Saghiri, M. A., Orangi, J., Asatourian, A., Gutmann, J. L., Garcia-Godoy, F., Lotfi, M., and Sheibani, N. (2017). Calcium silicate-based cements and functional impacts of various constituents. *Dental Materials Journal*, 36(1), 8-18.
- Saint-Jean, S. J., Camire, C. L., Nevsten, P., Hansen, S., and Ginebra, M. P. (2005). Study of the reactivity and in vitro bioactivity of Sr-substituted α -TCP cements. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16(11), 993.
- Saito, T., Arsenault, A. L., Yamauchi, M., Kuboki, Y., and Crenshaw, M. A. (1997). Mineral induction by immobilized phosphoproteins. *Bone*, 21(4), 305-311.
- Saito, T., Toyooka, H., Ito, S., and Crenshaw, M. A. (2003). In vitro study of remineralization of dentin: effects of ions on mineral induction by decalcified dentin matrix. *Caries Research*, 37(6), 445-449.
- Saito, T., Yamauchi, M., Abiko, Y., Matsuda, K., and Crenshaw, M. A. (2000). In vitro apatite induction by phosphophoryn immobilized on modified collagen fibrils. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15(8), 1615-1619.
- Şakar-Deliormanli, A., and Güden, M. (2006). Microhardness and fracture toughness of dental materials by indentation method. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 76(2), 257-264.

- Saliba, E., Abbassi-Ghadi, S., Vowles, R., Camilleri, J., Hooper, S., and Camilleri, J. (2009). Evaluation of the strength and radiopacity of Portland cement with varying additions of bismuth oxide. *International Endodontic Journal*, 42(4), 322-328.
- Sangwal, K., Surowska, B., and Błaziak, P. (2003). Analysis of the indentation size effect in the microhardness measurement of some cobalt-based alloys. *Materials Chemistry and Physics*, 77(2), 511-520.
- Sano, H., Takatsu, T., Ciucchi, B., Russell, C. M., and Pashley, D. H. (1995). Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. *Journal of Dental Research*, 74(4), 1093-1102.
- Sarkar, N. K., Caicedo, R., Ritwik, P., Moiseyeva, R., and Kawashima, I. (2005). Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 31(2), 97-100.
- Sauro, S., Osorio, R., Watson, T. F., and Toledano, M. (2012). Therapeutic effects of novel resin bonding systems containing bioactive glasses on mineral-depleted areas within the bonded-dentine interface. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 23(6), 1521-1532.
- Sauro, S., Thompson, I., and Watson, T. F. (2011). Effects of common dental materials used in preventive or operative dentistry on dentin permeability and remineralization. *Operative Dentistry*, 36(2), 222-230.
- Sauro, S., Toledano, M., Aguilera, F. S., Mannocci, F., Pashley, D. H., Tay, F. R., Watson T. F, and Osorio, R. (2010). Resin–dentin bonds to EDTA-treated vs. acid-etched dentin using ethanol wet-bonding. *Dental Materials*, 26(4), 368-379.
- Scaramucci, T., Carvalho, J. C., Hara, A. T., and Zero, D. T. (2015). Causes of dental erosion: intrinsic factors. In Amaechi, B. T. (Eds.), *Dental erosion and its clinical management* (pp. 35-67). Cham: Springer.
- Schilke, R., Lisson, J. A., Bauss, O., and Geurtsen, W. (2000). Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Archives of Oral Biology*, 45(5), 355-361.
- Schröder, U. (1985). Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *Journal of Dental Research*, 64(4), 541-548.
- Schroeder, L., and Frank, R. M. (1985). High-resolution transmission electron microscopy of adult human peritubular dentine. *Cell and Tissue Research*, 242(2), 449-451.

- Setbon, H. M., Devaux, J., Iserentant, A., Leloup, G., and Leprince, J. G. (2014). Influence of composition on setting kinetics of new injectable and/or fast setting tricalcium silicate cements. *Dental Materials*, 30(12), 1291-1303.
- Sfeir, C., Lee, D., Li, J., Zhang, X., Boskey, A. L., and Kumta, P. N. (2011). Expression of phosphophoryn is sufficient for the induction of matrix mineralization by mammalian cells. *Journal of Biological Chemistry*, 286(23), 20228-20238.
- Shen, C., Zhang, N. Z., and Anusavice, K. J. (2010). Fluoride and chlorhexidine release from filled resins. *Journal of Dental Research*, 89(9), 1002-1006.
- Shepherd, T. J., Dirks, W., Manmee, C., Hodgson, S., Banks, D. A., Averley, P., and Pless-Mulloli, T. (2012). Reconstructing the life-time lead exposure in children using dentine in deciduous teeth. *Science of The Total Environment*, 425, 214-222.
- Silva, G. A. (2006). Neuroscience nanotechnology: progress, opportunities and challenges. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(1), 65.
- Silver, F. H., and Landis, W. J. (2011). Deposition of apatite in mineralizing vertebrate extracellular matrices: A model of possible nucleation sites on type I collagen. *Connective Tissue Research*, 52(3), 242-254.
- Silver, F. H., Langley, K. H., and Trelstad, R. L. (1979). Type I collagen fibrillogenesis: initiation via reversible linear and lateral growth steps. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 18(10), 2523-2535.
- Silverstone, L. M. (1985). The structure and ultrastructure of the carious lesion in human dentin. *Gerodontology*, 1 (4), 185-195.
- Siqueira Jr, J. F., and Lopes, H. P. (1999). Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal*, 32(5), 361-369.
- SLAVKIN, H. C., CROISSANT, R. D., BRINGAS, P., MATOSIAN, P., WILSON, P., MINO, W., and GUENTHER, H. (1976, February). Matrix vesicle heterogeneity: possible morphogenetic functions. In *Federation proceedings*, 35(2), 128.
- Smallman, R. E., and Ngan, A. H. W. (2014). *Modern Physical Metallurgy*, (8th edition). Oxford: Elsevier Ltd, Butterworth-Heinemann, 165-178.
- Snellings, R., Mertens, G., and Elsen, J. (2012). Supplementary cementitious materials. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 74(1), 211-278.

- Sodek, J., Ganss, B., and McKee, M. D. (2000). Osteopontin. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 11(3), 279-303.
- Sodek, K. L., Tupy, J. H., Sodek, J., and Grynpas, M. D. (2000). Relationships between bone protein and mineral in developing porcine long bone and calvaria. *Bone*, 26(2), 189-198.
- Somogyi, E., Petersson, U., Sugars, R. V., Hultenby, K., and Wendel, M. (2004). Nucleobindin—a Ca²⁺-binding protein present in the cells and mineralized tissues of the tooth. *Calcified Tissue International*, 74(4), 366-376.
- SOUZA, L. C. D., Yadlapati, M., Dorn, S. O., Silva, R., and Letra, A. (2015). Analysis of radiopacity, pH and cytotoxicity of a new bioceramic material. *Journal of Applied Oral Science*, 23(4), 383-389.
- Sreenath, T., Thyagarajan, T., Hall, B., Longenecker, G., D'Souza, R., Hong, S., Wright, J. T., MacDougall, M., Sauk, J., and Kulkarni, A. B. (2003). Dentin sialophosphoprotein knockout mouse teeth display widened predentin zone and develop defective dentin mineralization similar to human dentinogenesis imperfecta type III. *Journal of Biological Chemistry*, 278(27), 24874-24880.
- Steinfort, J., Van de Stadt, R., and Beertsen, W. (1994). Identification of new rat dentin proteoglycans utilizing C18 chromatography. *Journal of Biological Chemistry*, 269(35), 22397-22404.
- Stetler-Stevenson, W. G., and Veis, A. (1986). Type I collagen shows a specific binding affinity for bovine dentin phosphophoryn. *Calcified Tissue International*, 38(3), 135-141.
- Tada, H., Nemoto, E., Kanaya, S., Hamaji, N., Sato, H., and Shimauchi, H. (2010). Elevated extracellular calcium increases expression of bone morphogenetic protein-2 gene via a calcium channel and ERK pathway in human dental pulp cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394(4), 1093-1097.
- Taddei, P., Prati, C., and Gandolfi, M. G. (2017). A poly (2-hydroxyethyl methacrylate)-based resin improves the dentin remineralizing ability of calcium silicates. *Materials Science and Engineering: C*, 77, 755-764.
- Takagi, Y., and Sasaki, S. (1986). Histological distribution of phosphophoryn in normal and pathological human dentins. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 15(9), 463-467.
- Taketa, F., Perdue, H. S., O'Rourke, W. F., Sievert, H. W., and Phillips, P. H. (1957). An Abrasion Method for Determining the Wear Resistance of Teeth: I. Description of Apparatus and Variables. *Journal of Dental Research*, 36(5), 739-744.

- Talanquer, V., and Oxtoby, D. W. (1998). Crystal nucleation in the presence of a metastable critical point. *The Journal of Chemical Physics*, 109(1), 223-227.
- Tartaix, P. H., Doulaverakis, M., George, A., Fisher, L. W., Butler, W. T., Qin, C., Salih, E., Tan, M., Fujimoto, Y., Spevak, L., and Boskey, A. L. (2004). In vitro effects of dentin matrix protein-1 on hydroxyapatite formation provide insights into in vivo functions. *Journal of Biological Chemistry*, 279(18), 18115-18120.
- Tay, F. R., and Pashley, D. H. (2008). Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine. *Biomaterials*, 29(8), 1127-1137.
- Tay, F. R., Pashley, D. H., Rueggeberg, F. A., Loushine, R. J., and Weller, R. N. (2007). Calcium phosphate phase transformation produced by the interaction of the Portland cement component of white mineral trioxide aggregate with a phosphate-containing fluid. *Journal of Endodontics*, 33(11), 1347-1351.
- Taylor, H. F. (1997). *Cement chemistry*, (2nd edition) London: Thomas Telford, 295-310.
- Ten Cate, J. M. (2001). Remineralization of caries lesions extending into dentin. *Journal of Dental Research*, 80(5), 1407-1411.
- Ten Cate, J. M., and Featherstone, J. D. B. (1991). Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 2(3), 283-296.
- ten Wolde, P. R., and Frenkel, D. (1997). Enhancement of protein crystal nucleation by critical density fluctuations. *Science*, 277(5334), 1975-1978.
- Thula, T. T., Rodriguez, D. E., Lee, M. H., Pendi, L., Podschun, J., and Gower, L. B. (2011). In vitro mineralization of dense collagen substrates: a biomimetic approach toward the development of bone-graft materials. *Acta Biomaterialia*, 7(8), 3158-3169.
- Toledano, M., Cabello, I., Vílchez, M. A. C., Fernández, M. A., and Osorio, R. (2014). Surface microanalysis and chemical imaging of early dentin remineralization. *Microscopy and Microanalysis*, 20(1), 245-256.
- Toledano, M., Osorio, E., Cabello, I., and Osorio, R. (2014). Early dentine remineralisation: Morpho-mechanical assessment. *Journal of Dentistry*, 42(4), 384-394.
- Tomson, P. L., Grover, L. M., Lumley, P. J., Sloan, A. J., Smith, A. J., and Cooper, P. R. (2007). Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate. *Journal of Dentistry*, 35(8), 636-642.

- Torabinejad, M., and Parirokh, M. (2010). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part II: leakage and biocompatibility investigations. *Journal of Endodontics*, 36(2), 190-202.
- Torabinejad, M., and White, D. J. (1998). *U.S. Patent No. 5,769,638*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Torii, Y. (1986). The relationship between hardness and infection rate of caries dentin. *J Osaka Univ Dent Sch*, 26, 139-143.
- Totah, V. P. (1942). Increase in hardness of dentin on drying. *Journal of Dental Research*, 21(1), 99-101.
- Traub, W., Jodaikin, A., Arad, T., Veis, A., and Sabsay, B. (1992). Dentin phosphophoryn binding to collagen fibrils. *Matrix*, 12(3), 197-201.
- Tyas, M. J., Anusavice, K. J., Frencken, J. E., and Mount, G. J. (2000). Minimal intervention dentistry—a review* FDI Commission Project 1–97. *International Dental Journal*, 50(1), 1-12.
- Ueno, A., Yamashita, K., Nagata, T., Tsurumi, C., Miwa, Y., Kitamura, S., and Inoue, H. (1998). cDNA cloning of bovine thrombospondin 1 and its expression in odontoblasts and predentin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1382(1), 17-22.
- Urry, D. W. (1974). On the molecular basis for vascular calcification. *Perspectives in Biology and Medicine*, 18(1), 68-85.
- Uversky, V. N. (2002). What does it mean to be natively unfolded?. *European Journal of Biochemistry*, 269(1), 2-12.
- Van der Rest, M., and Garrone, R. (1991). Collagen family of proteins. *The FASEB Journal*, 5(13), 2814-2823.
- Vanderby, R., and Provenzano, P. P. (2003). Collagen in connective tissue: from tendon to bone. *Journal of Biomechanics*, 36(10), 1523-1527.
- Veis, A. (1993). Mineral-matrix interactions in bone and dentin. *Journal of Bone and Mineral Research*, 8(S2), 493-S497.
- Veis, A. (2003). Mineralization in organic matrix frameworks. *Reviews in Mineralogy and geochemistry*, 54(1), 249-289.
- Veis, A., and Dorvee, J. R. (2013). Biomineralization mechanisms: a new paradigm for crystal nucleation in organic matrices. *Calcified Tissue International*, 93(4), 307-315.

- Vollenweider, M., Brunner, T. J., Knecht, S., Grass, R. N., Zehnder, M., Imfeld, T., and Stark, W. J. (2007). Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomaterialia*, 3(6), 936-943.
- Walters, C., and Eyre, D. R. (1983). Collagen crosslinks in human dentin: increasing content of hydroxypyridinium residues with age. *Calcified Tissue International*, 35(1), 401-405.
- Wang, L., D'Alpino, P. H. P., Lopes, L. G., and Pereira, J. C. (2003). Mechanical properties of dental restorative materials: relative contribution of laboratory tests. *Journal of Applied Oral Science*, 11(3), 162-167.
- Wang, Q., Wang, X. M., Tian, L. L., Cheng, Z. J., and Cui, F. Z. (2011). In situ remineralization of partially demineralized human dentine mediated by a biomimetic non-collagen peptide. *Soft Matter*, 7(20), 9673-9680.
- Wang, R. Z., and Weiner, S. (1997). Strain–structure relations in human teeth using Moiré fringes. *Journal of Biomechanics*, 31(2), 135-141.
- Wang, R., and Weiner, S. (1998). Human root dentin: structural anisotropy and Vickers microhardness isotropy. *Connective Tissue Research*, 39(4), 269-279.
- Wang, X., Sun, H., and Chang, J. (2008). Characterization of Ca₃SiO₅/CaCl₂ composite cement for dental application. *Dental Materials*, 24(1), 74-82.
- Wang, Y., Azaïs, T., Robin, M., Vallée, A., Catania, C., Legriel, P., Pehau-Arnaudet, G., Babonneau, F., Giraud-Guille, M. M., and Nassif, N. (2012). The predominant role of collagen in the nucleation, growth, structure and orientation of bone apatite. *Nature Materials*, 11(8), 724-733.
- Wei, S. H., and Koulourides, T. (1972). Electron microprobe and microhardness studies of enamel remineralization. *Journal of Dental Research*, 51(2), 648-651.
- Weiner, S., Veis, A., Beniash, E., Arad, T., Dillon, J. W., Sabsay, B., and Siddiqui, F. (1999). Peritubular dentin formation: crystal organization and the macromolecular constituents in human teeth. *Journal of Structural Biology*, 126(1), 27-41.
- Weinstock, M., and Leblond, C. P. (1973). Radioautographic visualization of the deposition of a phosphoprotein at the mineralization front in the dentin of the rat incisor. *The Journal of Cell Biology*, 56(3), 838-845.
- Westenfeld, R., Schäfer, C., Krüger, T., Haarmann, C., Schurgers, L. J., Reutelingsperger, C., Ivanovski, O., Druke, T., Massy, Z. A., Ketteler, M., and Floege, J. (2009). Fetuin-A protects against atherosclerotic calcification in CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20(6), 1264-1274.

- White, S. W., Hulmes, D. J., Miller, A., and Timmins, P. A. (1977). Collagen–mineral axial relationship in calcified turkey leg tendon by X-ray and neutron diffraction. *Nature*, 266(5601), 421.
- Wongkhantee, S., Patanapiradej, V., Maneenut, C., and Tantbirojn, D. (2006). Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials. *Journal of Dentistry*, 34(3), 214-220.
- Wu, X. T., Mei, M., Li, Q. L., Cao, C., Chen, J. L., Xia, R., Zhang, Z. H., and Chu, C. (2015). A direct electric field-aided biomimetic mineralization system for inducing the remineralization of dentin collagen matrix. *Materials*, 8(11), 7889-7899.
- Xiao, S., Yu, C., Chou, X., Yuan, W., Wang, Y., Bu, L., Fu, G., Qian, M., Yang, J., Shi, Y., and Hu, L. (2001). Dentinogenesis imperfecta 1 with or without progressive hearing loss is associated with distinct mutations in DSPP. *Nature Genetics*, 27(2), 201-204.
- Xu, H. H., Moreau, J. L., Sun, L., and Chow, L. C. (2011). Nanocomposite containing amorphous calcium phosphate nanoparticles for caries inhibition. *Dental Materials*, 27(8), 762-769.
- Xu, T., Bianco, P., Fisher, L. W., Longenecker, G., Smith, E., Goldstein, S., Bonadio, J., Boskey, A., Heegaard, A.M., Sommer, B., and Satomura, K. (1998). Targeted disruption of the biglycan gene leads to an osteoporosis-like phenotype in mice. *Nature genetics*, 20(1), 78-82.
- Xuli, F., and Chung, D. D. L. (1996). Effect of methylcellulose admixture on the mechanical properties of cement. *Cement and Concrete Research*, 26(4), 535-538.
- Yamakoshi, Y., Hu, J. C. C., Fukae, M., Zhang, H., and Simmer, J. P. (2005). Dentin Glycoprotein The Protein in the middle of the dentin sialophosphoprotein chimera. *Journal of Biological Chemistry*, 280(17), 17472-17479.
- Yamamoto, S., Han, L., Noiri, Y., and Okiji, T. (2017). Evaluation of the Ca ion release, pH and surface apatite formation of a prototype tricalcium silicate cement. *International Endodontic Journal*, 2(50), 73-82.
- Yang, F., Yang, D., Tu, J., Zheng, Q., Cai, L., and Wang, L. (2011). Strontium enhances osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and in vivo bone formation by activating Wnt/catenin signaling. *Stem Cells*, 29(6), 981-991.

- Ye, L., MacDougall, M., Zhang, S., Xie, Y., Zhang, J., Li, Z., Lu, Y., Mishina, Y., and Feng, J. Q. (2004). Deletion of dentin matrix protein-1 leads to a partial failure of maturation of predentin into dentin, hypomineralization, and expanded cavities of pulp and root canal during postnatal tooth development. *Journal of Biological Chemistry*, 279(18), 19141-19148.
- Zeid, S. T. H. A., Alothmani, O. S., and Yousef, M. K. (2015). Biodentine and Mineral trioxide aggregate: An analysis of solubility, pH changes and leaching elements. *Life Science Journal*, 12(4), 18-23.
- Zero, D. T. (1996). Etiology of dental erosion—extrinsic factors. *European Journal of Oral Sciences*, 104(2), 162-177.
- Zhang, X., Neoh, K. G., Lin, C. C., and Kishen, A. (2012). Remineralization of partially demineralized dentine substrate based on a biomimetic strategy. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 23(3), 733-742.
- Zhang, Y. R., Du, W., Zhou, X. D., and Yu, H. Y. (2014). Review of research on the mechanical properties of the human tooth. *International Journal of Oral Science*, 6(2), 61-69.
- Zhao, I. S., Mei, M. L., Zhou, Z. L., Burrow, M. F., Lo, E. C. M., and Chu, C. H. (2017). Shear Bond Strength and Remineralisation Effect of a Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate-Modified Glass Ionomer Cement on Artificial “Caries-Affected” Dentine. *International journal of molecular sciences*, 18(8), 1723-1733.
- Zhao, W., Chang, J., and Zhai, W. (2008). Self-setting properties and in vitro bioactivity of $\text{Ca}_3\text{SiO}_5/\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ composite cement. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 85(2), 336-344.
- Zhao, W., Wang, J., Zhai, W., Wang, Z., and Chang, J. (2005). The self-setting properties and in vitro bioactivity of tricalcium silicate. *Biomaterials*, 26(31), 6113-6121.





EK-1. Etik Kurul Raporu



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



15.12.2016

Konu : Etik Kurul Hk.
Sayı : 36290600/107

Sayın Doç. Dr. Hacer Deniz ARISU
G.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi
Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Doç. Dr. Hacer Deniz ARISU tarafından gönderilen "Trikalsiyum Silikat Bazlı Kaide Materyallerinin Dentinde Remineralizasyon Etkinliğinin İn Vitro Değerlendirilmesi" konulu çalışma, Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve araştırma etiği açısından uygun bulunmuştur. Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

Prof. Dr. Murat AKKAYA
Ankara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurul
Başkanı

Eki: 3 sayfa

EK-1. (devam) Etik Kurul Raporu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Trikalsiyum Silikat Bazlı Kaide Materyallerinin Dentinde Remineralizasyon Etkinliğinin İn Vitro Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

+ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	ANKARA ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
	AÇIK ADRESİ:	A.Ü. DİŞ HEK. FAKÜLTESİ BEŞEVLER / ANKARA
	TELEFON	296 57 37
	FAKS	
	E-POSTA	disetik@ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	DOÇ. DR. HACER DENİZ ARISU			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	G.Ü. DİŞ HEK. FAK. DİŞ HESTALIKLARI VE TEDAVİSİ ANABİLİM DALI			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	ANKARA			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1			
		FAZ 2			
		FAZ 3			
		FAZ 4			
		Gözlemsel ilaç çalışması			
		Tıbbi cihaz klinik araştırması			
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları			
		İlaç dışı klinik araştırma		X	
		Diğer ise belirtiniz			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ X	ÇOK MERKEZLİ	ULUSAL	ULUSLARARASI

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mural AKKAYA
İmza:

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

EK-1. (devam) Etik Kurul Raporu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Trikalsiyum Silikat Bazlı Kaide Materyallerinin Dentinde Remineralizasyon Etkinliğinin İn Vitro Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	05.10.2016		Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	EĞİRTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	ILAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GUVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER:	☐				
	Karar No: 18/1	Tarihi: 30.11.2016				
KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel açıdanca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

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

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi		Katılım *		İmza
Prof.Hv.Diş Tbp.Kd.Alb Yavuz S. AYDINTUĞ	Ağız, Diş, Çene Cerrahisi	Gülhane Ask. Tıp Akadem. Diş H.F.	E ☐ K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Ayşegül KÖKLÜ	Ortodonti	A.Ü.Diş H.F.	E ☐ K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Fatma Gül ZIRAMAN	Endodonti	A.Ü.Diş H.F.	E ☐ K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Serpil ALTUNDOĞAN	Ağız, Diş, Çene Cerrahisi	A.Ü.Diş H.F.	E ☐ K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Sadullah ÜÇTAŞLI	Protetik Diş Ted.	A.Ü.Diş H.F.	E ☐ K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Şaziye SARI	Pedodonti	A.Ü.Diş H.F.	E ☐ K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Hatice GÖKALP	Ortodonti	A.Ü.Diş H.F.	E ☐ K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Adil NALÇACI	Diş Hast. Ve Tedavisi	A.Ü.Diş H.F.	E ☐ K ☐	E ☐	H ☐	E ☐	H ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Murat AKKAYA
İmza:

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

EK-1. (devam) Etik Kurul Raporu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Trikalsiyum Silikat Bazlı Kaide Materyallerinin Dentinde Remineralizasyon Etkinliğinin İn Vitro Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Prof. Dr. Kaan ORHAN	Ağız, Diş ve Çene Rady.	A.Ü.Diş H.F.	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Doç. Dr. Bilge PEHLİVANOĞLU	Fizyoloji	H.Ü. Tıp F.	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Av. Mehmet Tefvik GÖKSEYİTOĞLU	Hukuk	Serbest	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Yrd. Doç. Dr. Sevil Özger İLHAN	Farmakoloji	G.Ü. Tıp F.	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Dr. Sevilay KARAHAN	Bioistatistik	H.Ü. Tıp F.	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Kim. Müh. Orhan YILMAZ	Bilgisayar	A.Ü.Diş H.F.	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof. Dr. Murat AKKAYA
İmza:

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

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AMER, Mohammad

Uyruğu

Doğum tarihi ve yeri

Medeni hali

İletişim adresi

Telefon

e-mail

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	Arab Amerikan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2009
Lise	Tubas lisesi	2004

Yabancı Dil

İngilizce, Türkçe

Yayınlar

AMER M, DENİZ ARISU H, YALÇINKAYA Ö. Hızlı Sertleşen Trikalsiyum Silikat Esaslı Simanların Kalsiyum Salımlarının *In Vitro* Değerlendirilmesi. Restoratif Diş hekimliği Derneği 22. Uluslararası Bilimsel Kongresi, 30 Kasım-02 Aralık 2018, Antalya.

YURDAGÜL SZ, AMER M, DENİZ ARISU H. Farklı Kompozit Rezinler Ve Farklı Adeziv Uygulamaların Kompozit Tamir Makaslama Bağlanma Dayanımına Etkisi Restoratif Diş hekimliği Derneği 22. Uluslararası Bilimsel Kongresi, 30 Kasım-02 Aralık 2018, Antalya.

YURDAGÜL SZE, SURADI R, AMER M, DENİZ ARISU H. Ön Bölge Dişlerinin Biyomimetik Rehabilitasyonu: Vaka Raporu Restoratif Diş hekimliği Derneği 22. Uluslararası Bilimsel Kongresi, 30 Kasım-02 Aralık 2018, Antalya.

Projelerde Yaptığı Görevler:

03/2017-17 Trikalsiyum Silikat Esaslı Kaide Materyallerinin Dentin Remineralizasyonu Üzerine Etkinliğinin *In Vitro* Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, **Araştırmacı.**





GAZİ'Lİ OLMAK AYRICALIKTIR..