



MATRİKS METALOPROTEİNAZ (MMPS) ENZİMLERİNİN ADEZİVLERİN BAĞLANMA ETKİNLİĞİ ÜZERİNDEKİ ROLÜ

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES (MMPS) ENZYMES IN BONDING EFFECTIVENESS OF ADHESIVES

Dr. Neslihan TEKCE*

Makale Kodu/Article code: 1211
Makale Gönderilme tarihi: 06.06.2013
Kabul Tarihi: 26.08.2013

ÖZET

Demineralize dentin, matriks metalloproteinaz -2, -3, -8, -9, -20 (MMPS) enzimlerini içerir. Bu enzimler, asidik ortamda aktif hale gelirler ve hibrit tabakasında bulunan kollajen matriksin yavaşça yıkımına sebep olurlar. Günümüz adeziv sistemlerinin mineye bağlanma dayanımları oldukça stabil iken, dentine bağlanma dayanım değerleri süreye bağlı olarak azalır. Bu azalmada, hibrit tabakasındaki kollajen matriksin hidrolizisinin önemli rolü vardır. Kollajen matriks bütünlüğünün korunması, bağlanma dayanıklılığını geliştirmenin en önemli yoludur. Dolayısı ile kollajen matriksin çeşitli sebepler ile yıkımına neden olan enzimlerin inaktif hale getirilmesi ya da fonksiyonlarının inhibe edilmesi gereklidir. Bu makalede, matriks metalloproteinaz enzimlerinin fonksiyonu, bu enzimlerin günümüzde yaygın olarak kullanılan inhibitörleri ve bu inhibitörlerin etkinliğini inceleyen güncel çalışmalar derlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Dentin Bağlayıcı, Matriks Metalloproteinaz, Enzim İnhibitörleri, Bağlayıcı Yıkımı

ABSTRACT

Demineralized dentin contains bound matrix metalloproteinases -2, -3, -8, -9, and -20 (MMPS). These enzymes were activated by acids and can slowly degrade the collagen fibrils of hybrid layer. The contemporary dentin adhesives are very stable at the enamel surface, whereas lose their bond strength to dentin over time. This loss relates to the hydrolysis of collagen matrix of the hybrid layers. The preservation of the collagen matrix integrity is a key issue in the attempts to improve the dentin bonding durability. For this reason, MMPs that breakdown collagen fibrils must be inactivated or inhibited. The aim of this review was to evaluate functions of the matrix metalloproteinases enzymes, common MMPs inhibitors and current studies that evaluate of the inhibitory effect of these agents using this method.

Keywords: Dentin Bonding, Matrix Metalloproteinases (MMPS), Enzymes Inhibitors, Bond Degradation

GİRİŞ

Enzimlerin biyolojik ve patolojik rolleri

MMPS enzimleri, çinko ve kalsiyuma bağlı olarak, kollajen dokusu ve bütün bağ dokusu yapısında bulunan enzimlerdir. Bu enzimler prepro-MMPs olarak sentez edilir, inaktif pro-MMPs (nötral pH'da) olarak salgılanırlar.¹ Bu enzimler, ağız ortamının birçok normal biyolojik gelişim ve yıkım sürecinde yer alırlar.²24 farklı çeşidi olmakla birlikte bunların 23'ü insanlarda doğuştan bulunmaktadır.^{1,3} Ağız ortamında çoğu MMPs enzimi odontoblastlar tarafından sentez edilir ve serbest bırakılır. MMPs enzimleri, mineralize

dentin matriksine tutunan, demineralize dentinin organik matriksini hidrolize etme potansiyeline sahip olan proteolitik enzimlerdir.⁴ Diş yapısı haricinde, iltihap ve tümör yayılımı gibi patolojilerde de yer alırlar. Diş gelişimi esnasında mine ve dentin organik matriksinin oluşumunda rol alıp, mineralizasyonu düzenlerler. Ayrıca, MMPs enzimleri çürük etiolojisinde yer alarak, dentin kollajenlerinin yıkımında önemli rol oynarlar. Bunlar haricinde MMPs enzimleri, pulpa iltihabı ve periodontal hastalıkların gelişimi ile de ilişkilidir.²

* Ataşehir Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi, İstanbul



MMPs enzimleri genellikle 6 alt gruba ayrılırlar (5):

- Collagenases (Kollajenaz), MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18
- Gelatinases (Jelatinaz), MMP-2, MMP-9
- Stromelysins (Sitromelisin), MMP-3, MMP-10, MMP-11
- Matrilysins (Matrilisin), MMP-7, MMP-26
- Membrane type (Membran tip) MMPs, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25
- diğerleri, MMP-12, MMP-19, MMP-20 (enamelysin, enamelysin), MMP-23, MMP-27, MMP-28.

Bu enzimler içerisinde MMP-2, MMP-8, MMP-9 ve MMP-20 normal dentin matriksinde bulunurlar (6). MMP-2 ve MMP-9 enzimleri esas olarak, intertübüler kollajen fibril ağında yer alırlar. Boushell ve arkadaşları,⁴ MMP-2'nin koronal dentinde mine-dentin birleşiminde 9-10µm'lik bir alanda, predentin bitişğinde ise 90-200 µm genişliğinde bir alanda yer aldığını bildirmişlerdir.

Ağız ortamında MMPs

Kollajen, diş eti ekstraselüler matriksinin en önemli komponentidir. Aktif periodontitis hastalığında diş eti kollajenlerinin yıkımında yine MMPs enzimleri yer alırlar.⁷ MMPs enzimleri, ekstraselüler matriksteki protein komponentlerini yıkarak doku düzenlenmesinde (remodeling) rol oynarlar. Bu enzimler fizyolojik gelişimde; hücre göçü, büyüme esnasında doku remodelingi, yara iyileşmesi, yeni damar gelişimi ya da oluşumu (angiogenesis), mine oluşumu, antijen yönlenmesinde rol oynarlar.² Normal ve kötü huylu hücre yayılımında düzenleyici molekül olarak görev alırlar.⁸ Tümör hücrelerinde bulunur ve yayılımında (metastaz) rol oynarlar.^{3,9-11} Bütün bu enzimler içerisinde MMP-2, MMP-8 ve MMP-9 enzimleri çürük dokusundaki kollajen yıkımından sorumludurlar.¹² MMP-20 enzimi ise mine gelişiminde aktif ve önemli rol oynar.^{13,14}

Çürük lezyonlarında MMPs

Streptococcus mutans, çürük lezyonlarının gelişiminden sorumlu en önemli mikroorganizmadır. Bakteriler kadar MMPs enzimleri de çürük ilerlemesinde rol oynarlar. Çürük oluşumuna neden olan bakteriler, dentin yapısında demineralizasyona sebep olurlar ancak kavite oluşumuna neden olan dentin matriksinin yıkımını gerçekleştiremezler.¹⁵ Diğer bir deyişle, bakteriler dentin kollajenlerini yıkamazlar, kollajenlerin yıkımı için ortamda kollajenaz (collagenase) enzimlerinin bulunması gereklidir.^{2,15}

MMPs enzimleri, buldukları ortamın pH'sı düştüğünde aktive olurlar.¹⁶ Çürük dokuda, karyojenik bakterilerin ürettiği laktatın ortamın pH'sını düşürmesi ile bu enzimler aktif hale gelirler (17). Bakterilerden salınan asitler, ortamın pH'sını düşürerek, çürük dokuda inaktif halde bulunan enzimleri aktive ederler. Aktive olan enzimler daha sonra demineralize dentin matriksini, yani kollajenleri parçalarlar.¹⁷

Shimada ve arkadaşları, MMPs enzimlerinin (MMP-2, -8, -9 ve -20) normal ve çürük dentinde lokalizasyonunu incelemişler ve çürük dokunun özellikle dış katmanlarında yoğun olarak MMP-8 ve MMP-9 enzimlerine rastladıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu tabakada bulunan enzimlerin kaynağının tükürük olduğunu ve çürüğün dış katmanında bulunan bu enzimlerin dentin organik matriksinin yıkımına sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar MMP-2 enziminin çürük ve normal dentinin her ikisinde birden bulunduğunu, çürük dokunun iç ve dış katmanları arasındaki dağılımının benzer olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar MMP-20'nin ise en çok normal dentinde bulunduğunu, çürük lezyonunda ise dış katmanlara doğru oranının azaldığını ifade etmişlerdir.⁶

Çürük etiolojisinde yer alan MMPs enzimleri, restorasyonların tamamlanmasından sonrada aktivasyonunu sürdürebilirler. Diğer bir deyişle MMPs enzimleri reçine infiltrasyonundan sonra dahi aktif kalabilirler.¹⁸ Ancak, reçine-dentin ara yüzeyinde MMPs enzimlerinin aktivasyonu, total-etch ve self-etch sistemler için farklı etiyojilere sahiptir. Ara yüzde MMPs enzimlerinin aktivasyonu, yalnızca su olmayan ortamlarda durur, yani dentin yüzeyine uygulanan adeziv, ister total etch ister self-etch sistem olsun, MMPs enzimleri su olmayan ortamlarda inaktif hale gelirler.¹⁹

Total-etch sistemlerde enzim aktivasyonu

Dentin dokusunun ortalama hacimce %50'si minerallerden, %30'u tip I kollajen ile nonkollajen proteinlerden ve %20'si de sudan oluşur. Kollajen fibriller, dentin ve kemiklerin mineralizasyonu sırasında apatit kristallerinin tutunabilmeleri için, nanometre çapında boşluklar sağlarlar.²⁰ Fibriller arası boşluklara apatit kristalleri yerleşmeden önce buralarda su vardır. Ancak mineralizasyon ile birlikte fibriller arasındaki su mineraller ile yer değiştirir.²¹ Mineralize dentine, adeziv reçine infiltre olamaz. İnfiltre olabilmesi için diş dokusu asitlenerek minerallerin uzaklaştırılması gereklidir.



Minerallerin asit etching ile ortamdan uzaklaştırılması ile kollajen fibriller arası boşluklar tekrar su ile dolar. Kollajenler arası boşluklara monomerin difüze olmasından önce buralarda su bulunması, kollajen fibrillerin çökmesinin önlenmesi açısından önemlidir²²

Yüzey demineralizasyonundan sonra, adeziv sistemlerin ekstraselüler matrikse infiltre olması ve daha sonra polimerize edilmesi sonucunda hibrit tabakası oluşur. Reçine-dentin bağlayıcıların uzun dönemde başarılı olabilmeleri için, adezivin kollajenler arası boşluklara uygun bir biçimde yayılması gereklidir. Diğer bir deyişle, adeziv sistemlerin uzun dönem başarısı, homojen ve güçlü hibrit tabakası oluşmasına bağlıdır. Adezivin kollajenler arası boşluklara yeteri kadar penetre olamaması sonucu,²³ bu boşluklarda kollajenlere bağlı ya da serbest olarak bulunan enzimler aktif hale gelirler.⁴ Adeziv sistemlerin kollajenler arası boşluklara daha iyi infiltre olması, kollajen yıkımının önlenmesi ve suda yaşlanmanın azalması açısından çok önemli bir konudur.²⁴ Bu nedenle, adeziv sistemlerin kollajenler arası boşluklara daha iyi penetrasyonunu sağlamak amacıyla geliştirilen çeşitli yöntemler vardır; hidrofobik örtücü uygulanması²⁵, adezivin iki tabaka olarak uygulanması^{26,27}, adezivin uygulama süresinin uzatılması²⁸, polimerizasyon süresinin uzatılması²⁹, çözücü buharlaştırma süresinin uzatılması³⁰, water wet bonding tekniği yerine etanol wet bonding tekniğinin uygulanması^{31,32} bunlardan bazılarıdır.

Sadek ve arkadaşları deneysel hidrofobik adezivlerin, dentin yüzeylerine etanol wet bonding tekniği ile uygulandıkları takdirde, örneklerin bağlanma dayanım değerlerinin 18 ay suda bekletme süresi boyunca sabit kaldığını ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar bağlanma dayanım değerlerinin bu süre boyunca sabit kalmasında, etanol wet bonding tekniğinin hidrofobik reçinenin kollajenler arası boşluklara daha iyi penetre olmasını sağlayarak (superior sealing) buralara su geçişini önlenmesinin, indirekt olarak MMPs enzimlerinin aktivasyonunu bozduğunu ve bunun sonucunda bağlanma dayanım değerlerinde bir azalma meydana gelmediğini bildirmişlerdir.³²

Yapılan *in vivo*³³ ve *in vitro*³⁴ çalışmalar, total-etch sistemler tarafından oluşturulan hibrit tabakasındaki yıkımın, genellikle suda/ ağız sıvısında bekletmenin 6. ayı ile 3-5 yıl arasında başladığını bildirmiştir. Bu durum, kollajen fibrillerin çapraz bağlarının kopması ve ara yüzde artan su alımı ile

kendini gösterir.³⁵ Adeziv sistemin uygulanması ile birlikte hibrit tabakasında %30 olan kollajen fibril oranı, ara yüze suyun girmesi ile birlikte azalır. Hibrit tabakasına suyun girmesi ile birlikte MMP-8 (kollajenaz) enzimi, sabit halde bulunan (insoluble) kollajenlerin bir kısmının yüzeyden kopmasına sebep olur. Yüzeyden kopan kollajenlerin yıkımı ise, MMP-2 ve MMP-9 yani jelatinaz enzimleri tarafından gerçekleştirilir.⁴ Çözünmez halde sabit olarak bulunan kollajen fibrillerin, çözünebilir jelatin peptide dönüşmesi ile birlikte, hibrit tabakası bütün- lüğü bozulmaya başlar.³³ Bu da reçine kompozitin dentine olan bağlantısının kaybına sebep olur. Bu durum, laboratuvar deneylerinde mikrogerilim bağlanma dayanım değerlerinin düşmesi ile ölçülebilir.³⁵

Self-etch sistemlerde enzim aktivasyonu

Günümüz hidrofilik adezivlerinin en zayıf noktası su/ağız sıvısı emilimi, polimer ağın şişmesi ve bunların sonucunda, reçinenin su sızdırması ile birlikte bağlanma dayanım değerlerinin düşmesidir.³⁶ Su gibi dışsal faktörlerin haricinde, dentin yapısında bulunan enzimler de self-etch sistemlerin hibrit tabakasındaki yıkımdan sorumludur.^{37,38}

Hashimoto, hibrit tabakasında iki farklı yıkım modeli olduğunu belirtmiştir. Birincisi reçinenin hidrolitik yıkımı, diğeri kollajen fibrillerin hidrolitik yıkımıdır.³⁹ Hidrolitik yıkım, adezivin içerdiği hidrofilik elemanlar ve reçinenin su emilim oranı ile ilgilidir. Bu su emilim oranı, adezivin içeriğinden başka; yetersiz polimerizasyon oranı, yetersiz reçine infiltrasyonu ve suda bekleme süresine bağlı olarak artabilir.^{4,40} Liu ve arkadaşları da Hashimoto ile benzer şekilde bağlayıcı yıkımının iki farklı yol ile; optimum polimerize olamamış reçine komponentlerin hidrolizi ya da MMPs enzimlerinin fonksiyonu sonucu kollajen fibrillerin yıkımı ile birlikte oluştuğunu ifade etmişlerdir.⁴¹ Birçok araştırmacı, ara yüzde su bulunmadığı takdirde ya da örneklerin su yerine mineral yağında bekletilmesi durumunda bağlanma dayanım değerlerinin süreye bağlı olarak azalmadığını ileri sürmüştür.⁴²⁻⁴⁴

Pashley ve arkadaşları, %32'lik fosforik asit uyguladıkları örnekleri 3 farklı solüsyonda bekletmişlerdir. Bunlardan ilki yapay tükürük, ikincisi enzim inhibitörleri [benzamidine HCl (MMPs inhibitörü), N-ethylmaleimide (cysteine proteinase inhibitörü), phenylmethylsufonyl fluoride (serine protease inhibitörü)] içeren yapay tükürük üçüncüsü ise mineral yağdır. Araştırmacılar, yapay tükürükte bekletilen



örneklerin dentin kollajen matriksinin hemen hemen tamamının 250 gün sonunda çözüldüğünü, enzim inhibitörleri kullanılan bekletme solüsyonundaki örnekler ile mineral yağında bekletilen örneklerin kollajen fibrillerinin ise bu süre sonunda değişmeden kaldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, enzim aktivasyonu ve kollajen yıkımının gerçekleşebilmesi için ortamda suyun bulunması gerektiğini ifade etmişlerdir.³⁸

Dentin içerisinde bulunan MMPs enzimleri, adeziv sistemlerin asidik özellikleri sebebiyle de aktive olurlar.⁴⁵ Self-etch sistemlerin yapısındaki hafif asitler, dentindeki MMPs enzimlerini (MMP-2 ve MMP-9) aktive edebilirler.⁴⁶ Klinik olarak rutin kullanımda olan self-etch adezivlerin pH'sı genellikle 1.5-2.7 dir ve bu pH değerlerindeki adezivler, dentin yapısında bulunan enzimleri aktive ederler. Total-etch sistemlerde ise durum biraz farklıdır. Total-etch sistemlerde, adezivin kollajen boşluklarını yeteri kadar dolduramaması, buralarda serbest kalmış enzimlerin aktive olmasına sebep olur.^{4,47}

Nishitani ve arkadaşları, çok düşük pH değerlerinin MMPs aktivitesini azalttığını ileri sürmüşlerdir.⁴⁶ Perdigao ve arkadaşları, %37'lik fosforik asitin dentin yüzeylerini demineralize etmekle kalmayıp, MMPs enzimlerini de denature ettiğini bildirmişlerdir.⁴⁸ Ancak pH'sı ortalama 1-2 olan günümüz hafif self-etch adezivleri, bu enzimleri denatüre etmek için yeterli değildir. Bu nedenle hafif self-etch adeziv sistemlerin uygulandığı dentin yüzeylerinde MMPs enzimleri aktive olurlar.⁴⁶ Bu aktivasyon da hibrit tabakasında bulunan kollajenlerin hidrolizine sebep olarak, bağlayıcının uzun dönem dayanıklılığını tehlikeye sokar.^{4,49} Kollajen matriks bütünlüğünün korunması, bağlanma dayanıklılığını geliştirmenin en önemli yoludur.⁵⁰ Dolayısı ile kollajen matriksin çeşitli sebepler ile yıkımına neden olan enzimlerin inaktif hale getirilmesi ya da fonksiyonlarının inhibe edilmesi gereklidir.^{33,35,51}

Günümüzde en yaygın kullanılan MMPs inhibitörleri

1-) Fosforik asit (H₃PO₄)

Mazzoni ve arkadaşları,¹⁸ MMPs enzimlerinin fosforik asit uygulaması ile inaktive olduğunu, ancak adeziv uygulaması ile tekrar aktive olduklarını ileri sürmüşlerdir. Mertz-Fairhurst ve arkadaşları, %32-37'lik fosforik asitin, çürükten etkilenmiş dentinde bulunan bakterilerin fonksiyonunu bozduğunu⁵², Mazzoni ve arkadaşları ise fosforik asitin dentin MMPs enzimlerinin aktivitesini %65-95 oranında azalttığını

bildirmişlerdir.¹⁸ Tezvergil ve arkadaşları⁵³ fosforik asit uygulamasının dentin matriksinin yıkımı üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmada, %37'lik fosforik asit uygulamasının dentin enzimlerini denatüre etmek için yeterli olmadığını ve matrikse bağlı enzimlerin oldukça stabil olduğunu ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde Erhardt ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, örnekler farklı MMPs inhibitörleri (%35'lik fosforik asit, 0,1M EDTA ve %5'lik klorheksidin) uygulamasının, Adper Scotchbond 1 dentin bağlayıcı ajanının 24 saatlik (immediate) bağlanma dayanım değerleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığını, bu üç inhibitörün benzer sonuçlar ortaya koyduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda çürük dentine uyguladıkları bu üç enzim inhibitörünün de çürük dentindeki bağlanmayı geliştirmedeğini ileri sürmüşlerdir.⁵⁴

2-) Klorheksidin

Günümüz laboratuvar çalışmalarında en yaygın kullanılan MMPs enzim inhibitörlerinden biri klorheksidindir (CHX). MMPs enzimlerinin aktivasyonunu azaltmak amacıyla, farklı konsantrasyonlarda klorheksidin preparatları, yüzeylere farklı uygulama süreleri ile kullanılmaktadır. Gendron ve arkadaşları⁵⁵ klorheksidin konsantrasyonundan bağımsız olarak MMPs enzimlerinin aktivitesini bozduğunu, yani CHX'in yüksek konsantrasyonda da düşük konsantrasyonda da etkin olduğunu ileri sürmüşlerdir. Collares ve arkadaşları⁵⁶ CHX uygulama süresinin uzatılmasının bağlanma dayanıklılığı (durability) üzerinde pozitif etkisi olduğunu ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar bu durumu CHX'in demineralize dentine tutunması ile açıklamışlardır.⁵⁷ Diğer yandan araştırmacılar CHX konsantrasyonundaki artış ile bağlanma dayanım değerlerinin artışı arasında doğru orantı olmadığını da ifade etmişlerdir.⁵⁶

Breschi ve arkadaşları,⁵⁸ farklı konsantrasyonlarda (%0,2 ve %2) klorheksidin uyguladıkları örnekler, Scotchbond 1XT adeziv sistemi uygulamışlar ve daha sonra 2 yıl suda bekleterek bağlanma dayanım değerlerindeki değişimi incelemişlerdir. Araştırmacılar, 24 saatte 40,8 MPa olan bağlanma dayanım değerlerinin, 2 yıl sonra 13,4 MPa'ya düştüğünü, %0,2'lik CHX uygulanarak 2 yıl suda bekletilmesi durumunda 32,6 MPa, %2'lik CHX uygulanarak 2 yıl suda bekletildiğinde ise 28,5 MPa'ya düştüğünü ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar, konsantrasyonu fark



etmeksizin, CHX'in MMP-2 enziminin aktivitesini azalttığı ileri sürmüştür.⁵⁸

De Munck ve arkadaşları,⁵⁹ MMP-2 ve MMP-9 enzimlerinin aktivasyonunu engellemek için G Bond, Clearfil Protect Bond ve ScotchBond MP uyguladıkları örneklerde adeziv uygulamalarından önce CHX uygulamışlar ve bağlanma dayanım değerlerini 1 hafta, 3 ay, 6 ay ve 1 yıl suda bekletme süreleri sonunda incelemişlerdir. Araştırmacılar, çalışmada kullanılan bütün bağlayıcıların bağlanma dayanım değerlerinin 1 yıl suda bekletme sonunda anlamlı olarak azaldığını, CHX uygulamasının bu azalmayı önleyemediğini ileri sürmüştür. Araştırmacılar, MMP-2 ve MMP-9 enzimlerinin, hafif asidik yapıdaki self-etch adeziv sistemler ile hazırlanan örneklerin ara yüzeylerinde, total-etch sistemler ile hazırlanan örneklerin ara yüzlerine göre daha düşük oranda bağlayıcı yıkımına sebep olduklarını ifade etmişlerdir.⁵⁹

Collares ve arkadaşları,⁵⁶ iki aşamalı self-etch adeziv sistemler ile üç aşamalı total-etch sistemlerin, tek aşamalı sistemlerden süreye bağlı olarak daha yüksek bağlanma dayanım değerleri sergilemelerini, tek aşamalı sistemlerin zaman içerisinde yapılarına su alması ve ara yüzde suyun varlığı sonucu aktif hale gelen MMPs enzimlerinin, kollajen molekülleri arasındaki peptid bağları kırmasına başlamışlardır. Ayrıca, araştırmacılar hidrofobik tabaka varlığında CHX'in yeteri kadar hibrit tabakasına diffüze olamadığını bildirmişlerdir. Diğer bir deyişle, araştırmacılar CHX uygulamasının, total-etch sistemlerde yeterince etkin olmamasını bu sistemlerdeki hidrofobik tabaka varlığı ile açıklamışlardır.

Lenzi ve arkadaşları,⁶⁰ dentin yüzeylerine uyguladıkları %2'lik klorheksidinin, Adper Single Bond 2'nin 24 saatlik bağlanma dayanım değerlerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, Single Bond 2'nin üretici firma öneri doğrultusunda uygulandığında 30,8 MPa olan bağlanma değerlerinin, CHX uygulaması sonrasında 32,8 MPa olduğunu ileri sürmüştür. Sanabe ve arkadaşları,⁶¹ %2'lik CHX uyguladıkları dentin yüzeylerine Single Bond 2 uygulamışlar ve örnekleri 6 ay suda bekletmişlerdir. Yapılan histolojik incelemede, CHX uygulaması yapılan örnekler ile yapılmayan örneklerin 6 ay sonraki kollajen yıkımlarının benzer olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, mineral yağında bekletilen örneklerde ise 6 ay sonunda kollajen yıkımı gerçekleşmediğini bildirmişlerdir. Çelik ve arkadaşları,⁶²

iki aşamalı self-etch AdheSE ve tek aşamalı Excite DSC Single Dose bağlayıcı sistemlerin uygulamasından önce kavitelere %2'lik CHX uygulamasının, bu sistemlerin mikrosızıntı skorlarında anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığını ileri sürmüştür.

3-) Etilendiamin Tetraasetik Asit (EDTA)

EDTA, dentinin mineral içeriğini çözmek amacıyla sıklıkla kullanılır. Bu işlevini dentin proteinlerini etkilemeden ve kollajen fibril yapısını bozmadan gerçekleştirmektedir. EDTA ile açığa çıkarılan kollajen fibriller, interfibriller minerallerinin çoğunu kaybetmeden yapısında bulundurlar. EDTA ile hazırlanan yüzeylerde interfibriller yapı minerallerle desteklendiği için, dehidratasyondan daha az etkilenir.⁶³ Böylece EDTA ile oluşturulan demineralize yüzeylere reçine infiltrasyonu da kolaylaşmış olur.⁶⁴ Eğer yüzey fosforik asit ile demineralize edilirse, interfibriller mineraller de çözünür. Dolayısıyla buradaki fibriller dehidratasyondan kolayca etkilenir.⁶⁵

Orosio ve arkadaşları,⁶⁵ %37'lik fosforik asit ya da EDTA ile hazırladıkları dentin yüzeylerine Scotchbond MP uygulamışlar ve restorasyonları tamamlanan örnekleri %10'luk sodyum hipoklorit (NaOCI) solüsyonunda 5 saat bekleterek restorasyonların ara yüzeyinde oluşan yıkımı incelemişlerdir. Araştırmacılar, hızlandırılmış yaşlandırma protokolü olan NaOCI solüsyonunda bekletme sonucunda, EDTA uygulanan yüzeylerdeki bağlanma dayanım değerlerinin, başlangıç bağlanma dayanım değerleri ile aynı olduğunu, fakat fosforik asit uygulanan örneklerin bağlanma dayanım değerlerinin, NaOCI uygulamasından sonra anlamlı olarak azaldığını ileri sürmüştür.⁶⁵

Souro ve arkadaşları,⁶⁶ demineralizasyonu %37'lik fosforik asit (15 saniye) ya da 0,1M EDTA (60 saniye) ile sağladıkları dentin yüzeylerine, etanol wet bonding tekniği ile uyguladıkları adezivleri, 5.000 loading siklus işlemine tabi tutmuşlar ve örneklerin bağlanma dayanım değerlerindeki değişimi incelemişlerdir. Araştırmacılar, çalışmada kullanılan deneysel hidrofobik adezivin bağlanma değerlerinin, uygulandığı dentin yüzeyinin EDTA veya fosforik asit ile demineralize edilmesi fark etmeksizin, loading siklustan etkilenmediğini bildirmişlerdir. Ancak, çalışmada kullanılan deneysel hidrofobik adezivin uygulandığı dentin yüzeyinin EDTA ile demineralizasyonun sağlanması durumunda, loading siklustan sonra bağlanma dayanım değerlerinin azaldığını, dentin



yüzeyinin demineralizasyonun fosforik asit ile sağlanması durumunda ise bu hidrofobik adeziv sistemin bağlanma dayanım değerlerinin loading siklustan etkilenmediğini ifade etmişlerdir.⁶⁶ Hosaka ve arkadaşları⁶⁷ ile Kim ve arkadaşları⁶⁸, etanol wet bonding tekniğinin, kollajenlerin büzülmesini sağlayarak interfibriller arası boşlukların artmasına neden olması ve genişlemiş boşluklardan infiltrasyonu kolaylaşan reçinenin, fibriller arası boşlukları daha iyi doldurmasına sebep olarak enzim aktivitesini azaltmasının, ara yüz stabilitesini geliştirdiğini ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde Sauro ve arkadaşları da EDTA uygulamasının etanol wet bonding tekniğiyle birlikte uygulanması durumunda reçine infiltrasyonun kolaylaştığını ve ara yüzün kimyasal yıkım ile yaşlanmaya karşı daha dirençli hale geldiğini bildirmişlerdir.⁶⁹

4-) Galardin

İlk olarak 1990'lı yıllarda Grobelny ve arkadaşları⁷⁰ tarafından fonksiyonu açıklanan galardin, sentetik MMPs inhibitörüdür. Özellikle MMP-2, -3, -8 ve -9 enzimleri üzerinde etkili olan bu preparat GM6001 ya da Ilomostat olarak da bilinir.⁷¹

Breschi ve arkadaşları,⁷² fosforik asit ile demineralize edilmiş dentin yüzeylerine 30 saniye galardin uygulamasından sonra, Scotchbond 1XT bağlayıcı sistemi üretici firma önerileri doğrultusunda uygulamışlar ve yapay tükürükte bekletilen örneklerin bağlanma dayanım değerlerini 24 saat ve 12 ay süreleri sonunda incelemişlerdir. Araştırmacılar, galardinin 1 yıl suda bekletmede oluşan yıkımı anlamlı olarak azalttığını, ancak 24 saatlik bağlanma dayanım değerleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar yapılan zymographic analizde, galardinin MMP-2 ve MMP-9 enzimlerinin fonksiyonunu tamamen bozduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada galardin uygulamasının ara yüzlerde nanosızıntıyı azalttığı da bildirilmiştir.⁷²

5-) Benzalkonium chloride (BAC)

BAC, fosforik asite dirençli kalabilen MMPs enzimlerinin fonksiyonunu bozarken, bağlanma dayanım değerleri üzerinde olumsuz bir etki yapmaz. %37'lik fosforik asite, % 1 oranında BAC eklenirse daha iyi bir enzim inhibitörü elde edilmiş olur. Günümüzde Bisco üretici firma bunu dikkate alarak, %1'lik BAC içeren fosforik asit piyasaya sürmüştür (ETCH-37 w/BAC, Bisco inc. Schaumburg, IL, USA). Fosforik asit, BAC içerdiği durumda hem asitin

antimikrobiyal özelliği artar, hem de asite göre daha iyi bir enzim inhibitörü ortaya çıkmış olur.³⁵

BAC'ın esas olarak üç ana görevi vardır. Bunlardan ilki antimikrobiyal ajan olması, ikincisi katyonik yüzey etkinleştirici madde olması ve üçüncüsü kimya endüstrisinde faz transfer ajan olarak kullanılmasıdır. BAC, etanol ve asetonda çok iyi çözünürken, suda çok yavaş çözünür.⁷³ Kanca ve arkadaşları, One Step dentin adezivin mine ve dentine bağlanma dayanımını, %37'lik fosforik asit uygulaması ve %1 BAC içeren fosforik asit uygulaması ile karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, %1 BAC içeren fosforik asitin, içermeyen fosforik asit ile benzer bağlanma dayanım değerleri sergilediğini ve BAC'ın erken dönem (immediate) bağlanma dayanım değerleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığını ileri sürmüşlerdir.⁷⁴

Tezvergil ve arkadaşları,⁷⁵ BAC'ın, MMP-2, -8 ve -9 enzimleri üzerindeki inhibitör etkisini inceledikleri çalışmada, tamamen demineralize ettikleri dentin çubuklarını, 30 gün BAC içeren solüsyon içinde bekletmişler ve bu süre sonunda dentine bağlı bütün MMPs enzimlerinin aktivasyonunun bozulduğunu ve BAC'ın etkin bir MMPs inhibitör ajan olduğunu ileri sürmüşlerdir.

6-) Alkol

Dentin yüzeylerine asit uygulanmasından sonra, kollajen matrikse bağlı enzimlerin bir kısmı aktive olur (18, 38). Bu enzimler, reçine infiltrasyonundan sonra da aktif olarak kalırlar.^{18,46,76} Sadece, hibrit tabakasında su olmaması halinde bu enzimler inaktif hale gelirler.¹⁹ Tezvergil ve arkadaşları, farklı konsantrasyonlardaki alkollerin (metanol, etanol, propanol, butanol, pentanol, HEMA, heksanol, heptanol ve oktanol) enzim inhibisyonuna etkisini incelemişler ve konsantrasyonuna bağlı olmaksızın çalışmada kullanılan bütün alkollerin, MMP-9 enziminin aktivitesini bozduğunu ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar, etanol ve metanolün, MMP-9 enzim aktivasyonunu, diğer alkollere göre nispeten düşük oranda inhibe ettiklerini ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar, günümüzde kullanılan birçok adeziv sistemin yüksek konsantrasyonda (%35-50) HEMA içerdiğini, ancak bu adezivlerde süreye bağlı bağlayıcı yıkımının gerçekleştiğini, dolayısıyla polimerize olmuş HEMA'nın artık etkin bir MMPs inhibitörü olmadığını bildirmişlerdir.¹⁹



SONUÇ

MMPs enzimlerinin fonksiyonlarını ve aktivasyon ortamlarını bilmek, diş sert doku hastalıklarının oluşumunu ve ilerlemesini anlamaya yardımcı olur. Mineralize dentinde bulunan matriks metalloproteinaz enzimleri, diş çürüğü ve erozyon oluşumunda önemli rol oynar. Ancak MMPs enzimleri ile ilgili bilinmesi gereken esas konu, bu enzimlerin hibrit tabakası kollajen matriksinde süreye bağlı olarak meydana getirdiği yıkımdır. Enzimler hibrit tabakasındaki kollajenlerin hidrolizine sebep olarak, bağlanma dayanıklılığını tehlikeye sokar. Günümüzde yapılan çoğu laboratuvar çalışması bağlayıcı dayanıklılığını geliştirmeye yönelik yapıldığı için, enzimlerin bu süre zarfında gerçekleştirdiği fonksiyonlarını bilmek ve yapılan çalışmalarda bu enzimlerin fonksiyonlarını baskılayacak inhibitörleri kullanmak, adeziv sistemlerin bağlanma dayanıklılığını geliştirmeye katkıda bulunabilir.

KAYNAKLAR

1. Nagase H, Woessner JF. Matrix Metalloproteinases. J Bio Chem 1999;274:21491-4.
2. Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjaderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. Acta Odontol Scand 2007;65:1-13.
3. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. Cric Res 2003;92:827-39.
4. Zhang SC, Kern Matthias. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. Int J Oral Sci 2009;1:163-76.
5. Kreis T, Vale R. Matrix metalloproteinases. In: Sternlicht MD, Werb Z, editors. Guidebook to the extracellular matrix, anchor, and adhesion proteins, 2nd edn. San Francisco: Oxford University Press; 1999;519-42.
6. Shimada Y, Ichinose S, Sadr A, Burrow MF, Tagami J. Localization of matrix metalloproteinases (MMPs-2, 8, 9 and 20) in normal and carious dentine. Austral Dent J 2009;54:347-54.
7. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. J Periodontol 1993; 64:474-84.
8. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. Oral Dis 2004;10:311-8.
9. Vu TH, Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. Genes Dev 2000;14:2123-33.
10. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. Annu Rev Cell Dev Biol 2001;17:463-516.
11. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. Cardiovasc Res 2006;69:562-73.
12. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto V-J, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. J Dent Res 1998;77:1622-9.
13. Caterina JJ, Skobe Z, Shi J, Ding Y, Simmer JP, Birkedal-Hansen H. Enamelysin (matrix metalloproteinase 20) deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. J Biol Chem 2002;277:49598-604.
14. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjaderhane L. The localization of matrix metalloproteinase -20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. J Dent Res 2002;81:603-7.
15. Katz S, Park KK, Palenick CJ. In vitro root surface caries studies. J Oral Med 1987; 42:40-8.
16. Tjaderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. J Dent Res,1998;77:1622-9.
17. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. J Dent Res 2006;85:22-32.
18. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, Toledano M, Pashley EL, Tay FR. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. Biomaterials 2006;27:4470-6.
19. Tezvergil-Mutluay A, Agee AA, Hoshika T, Uchiyama T, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Thompson JM, McCracken CE, Looney SW, Tay FR, Pashley DH. Inhibition of MMPs by alcohols. Dent Mater 2011;27:926-33.



20. Bella J, Brodsky B, Berman HM. Hydration structure of a collagen peptide. *Structure* 1995;3:893-906.
21. Tjaderhane L, Haapasalo M. Dentin-pulp border: dynamic interface between hard and soft tissues. *Endo Topic* 2012;20:52-84.
22. Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM, Rueggeberg FA, Agee KA, Carrilho M. From dry bonding to water-wet bonding to ethanol-wet bonding. A review of the interactions between dentin matrix and solvated resins using a macromodel of the hybrid layer. *Am J Dent* 2007;20:7-21.
23. Wang Y, Spencer P. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. *Eur J Oral Sci* 2004;112:293-9.
24. Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjaderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol* 2007;52: 121-7.
25. King NM, Tay FR, Pashley DH, Hashimoto M, Ito S, Brackett WW. Conversion of one-step to two-step self-etch adhesives for improved efficacy and extended application. *Am J Dent* 2005;18:126-34.
26. Ito S, Tay FR, Hashimoto M, Yoshiyama M, Saito T, Brackett WW, Waller JL, Pashley DH. Effects of multiple coatings of two all-in-one adhesives on dentin bonding. *J Adhes Dent* 2005;7:133-41.
27. Pashley EL, Agee KA, Pashley DH, Tay FR. Effects of one versus two applications of an unfilled, all-in-one adhesive on dentine bonding. *J Dent* 2002;30:83-90.
28. Reis A, de Carvalho Cardoso P, Vieira LC, et al. Effect of prolonged application times on the durability of resin-dentin bonds. *Dent Mater* 2008;24:639-44.
29. Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci* 2005; 113:525-30.
30. Furuse AY, Peutzfeldt A, Asmussen E. Effect of evaporation of solvents from One-step self etching adhesives. *J Adhes Dent* 2008;10:35-9.
31. Hosaka K, Nishitani Y, Tagami J, Yoshiyama M, Brackett W.W, Agee KA, Tay FR, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds to water-vs.ethanol-saturated dentin. *J Dent Res* 2009;88:146-51.
32. Sadek FT, Braga RR, Muench A, Liu Y, Pashley DH, Tay FR. Ethanol wet bonding challenges current anti-dagradation strategy. *J Dent Res* 2010;89:1499-1504.
33. Carrilho MRO, Geraldeli S, Tay FR, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, Reis AF, Hebling J, Mazzoni A, Breschi L, Pashley DH. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 2007;86:529-33.
34. Armstrong SR, Vargas MA, Chung I, Pashley DH, Campbell JA, Laffoon JE, Qian F. Resin-dentin interfacial and microtensile bond strength after five-year water storage. *Oper Dent* 2004;29:705-12.
35. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluay A. State of the art etch-and-rinse adhesives. 2011;27:1-16.
36. Hashimoto M, Tay FR, Ohno H, Sano H, Kaga M, Yiu C. SEM and TEM analysis of water degradation of human dentinal collagen. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2003;66:287-98.
37. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CK. Water treeing in simplified dentin adhesives- de ja vu? *Oper Dent* 2005;30:561-79.
38. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216-21.
39. Hashimoto M. A Review- Micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *Appl Biomater* 2010;92:268-80.
40. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, Dorigo EDS. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater* 2008;24:90-101.
41. Liu Y, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, Pashley DH, Tay FR. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res* 2011;90:953-68.
42. Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Yiu C, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. *Am J Dent* 2005;18:315-9.
43. Garcia-Godoy F, Tay FR, Pashley DH, Feilzer A, Tjäderhane L, Pashley EL. Degradation of resin-bonded human dentin after 3 years of storage. *Am J Dent* 2007;20:109-13.



44. Toledano M, Osorio R, Osorio E, Aguilera FS, Yamauti M, Pashley DH, Tay FR. Durability of resin-dentin bonds: Effects of direct/indirect exposure and storage media. *Dent Mater* 2007;23:885-92.
45. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Monticelli F, Osorio R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin. *J Endod* 2006;32:862-8.
46. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci* 2006;114:160-6.
47. Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzotti G. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res* 2007;86:436-40.
48. Perdigao J, Lambrechts P, van Meerbeek B, Tome AR, Vanherle G, Lopes AB. Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. *Dent Mater* 1996;12:262-71.
49. De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, Van Meerbeek B. İnhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res* 2009;88:1101-6.
50. Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol ILS, Geraldini S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Optimizing dentin bond durability: Control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater* 2013;29:116-35.
51. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005;84:741-6.
52. Mertz-Fairhurst EJ, Curtis JW Jr, Ergle JW, Rueggeberg FA, Adair SM. Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: results at year 10. *J Am Dent Assoc.* 1998;129:55-66.
53. Tezvergil-Mutluay A, Mutluay M, Seseogullari-Dirihan R, Agee KA, Key WO, Scheffel DLS, Breschi L, Mazzoni A, Tjaderhane L, Nishitani Y, Tay FR, Pashley DH. Effect of phosphoric acid on the degradation of human dentin matrix. *J Dent Res* 2013;92:87-91.
54. Erhardt MCG, Osorio R, Toledano M. Dentin treatment with MMPs inhibitors does not alter bond strengths to caries-affected dentin. *Journal of Dentistry* 2008;36:1068-73.
55. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D, Inhibition of the activities of matrixmetalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6:437-9.
56. Collares FM, Rodrigues SB, Leitune CVB, Celeste RK, Araujo FB, Samuel SMW. Chlorhexidine application in adhesive procedures: A metal-regression analysis. *J Adhes Dent* 2013;15:11-8.
57. Andrzejewska E, Photopolymerization kinetics of multifunctional monomers. *Prog Polym Sci* 2001;26:605-65.
58. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjaderhane L, Ruggeri A Jr, Tay FR, Dorigo ES, Pashley DH. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study. *Dent Mater* 2010;26:320-5.
59. De Munck J, Mine A, Van den Steen PE, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, Van Meerbeek B. Enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces produced by mild self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci* 2010;118:494-501.
60. Lenzi TL, Tedesco TK, Soares FZM, Loguercio AD, Rocha RO. Chlorhexidine does not increase immediate bond strength of etch-and-rinse adhesive to caries affected dentin of primary and permanent teeth. *Braz Dent J* 2012;23:438-42.
61. Sanabe ME, Costa CA, Hebling J. Exposed collagen in aged resin-dentin bonds produced on sound and caries-affected dentin in the presence of chlorhexidine. *J Adhes Dent* 2011;13:117-24.
62. Çelik Ç, Özel Y, Karabulut E. Kavite dezenfektanı uygulamasının farklı dentin adeziv sistemlerin mikrosızıntısına etkisi. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 2007;17:7-12.
63. Habelitz S, Balooch M, Marshall SJ, Balooch G, Marshall GW Jr. In situ atomic force microscopy of partially demineralized human dentin collagen fibrils. *J Struct Biol* 2002;138:227-36.



64. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Russell CM, Pashley DH. Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. *J Dent Res* 1995;74:1093-102.
65. Osorio R, Erhardt MCG, Pimenta LAF, Osorio E, Toledano M. EDTA treatment improves resin-dentin bonds resistance to degradation. *J Dent Res* 2005;84:736-40.
66. Sauro S, Toledano M, Aguilera FS, Mannocci F, Pashley DH, Tay FR, Watson TF, Osorio R. Resin-dentin bonds to EDTA-treated vs. acid-etched dentin using ethanol wet-bonding. Part II: Effects of mechanical cycling load on microtensile bond strengths. *Dent Mater* 2011;27:563-72.
67. Hosaka K, Nishitani Y, Tagami J, Yoshiyama M, Brackett W.W, Agee KA, Tay FR, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds to water- vs. ethanol-saturated dentin. *J Dent Res* 2009;88:146-51.
68. Kim J, Gu L, Breschi L, Tjaderhane L, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. Implication of ethanol wet-bonding in hybrid layer remineralization. *J Dent Res* 2010; 89(6):575-580.
69. Sauro S, Toledano M, Aguilera FS, Mannocci F, Pashley DH, Tay FR, Watson TF, Osorio R. Resin-dentin bonds to EDTA-treated vs. acid-etched dentin using ethanol wet-bonding. *Dent Mater* 2010;26:368-79.
70. Grobelny D, Poncz L, Galardy RE. Inhibition of human skin fibroblast collagenase, thermolysin, and pseudomonas aeruginosa elastase by peptide hydroxamic acids. *Biochemistry* 1992;31:7152-4.
71. Galardy RE, Cassabonne ME, Giese C, Gilbert JH, Lapierre F, Lopez H. Low molecular weight inhibitors in corneal ulceration. *Ann N Y Acad Sci* 1994;732:315-23.
72. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjaderhane L, Visintini E, Cadenaro M, Tay FR, Dorigo ES, Pashley DH. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater* 2010;26:571-8.
73. Marple B, Roland P, Benninger M. Safety review of benzalkonium chloride used as a preservative in intranasal solutions: an overview of conflicting data and options. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130:131-41.
74. Kanca J. One step bond strength to enamel and dentin. *Am J Dent* 1997;9:5-8.
75. Tezvergil-Mutluay A, Mutluay MM, Gu L, Zhang K, Agee A, Carvalho RM, Manso A, Carrilho M, Tay FR, Breschi L, Suh B, Pashley DH. The anti-MMP activity of benzalkonium chloride. *J Dent* 2011;39:57-64.
76. Reis AF, Giannini M, Pereira PNR. Long-term TEM analysis of the nanoleakage patterns in resin-dentin interfaces produced by different bonding strategies. *Dent Mater* 2007;23:1164-72.

Yazışma Adresi

Neslihan TEKÇE
Selviburnu Subay Lojmanları
Şahin Sok Şahin Ap D:3
BEYKOZ/İSTANBUL
Tlf: 5428190095
e-mail: neslihan_arslann@hotmail.com

