

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**ÇOCUKLARDA PULPAL TEDAVİLERDE KULLANILAN
MATERYALLERİN SÜT DİŞİ PULPA KÖK HÜCRELERİNE
ETKİSİ**

Arş. Gör. Dt. Nuran GÖKDOĞAN

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Volkan ÇİFTÇİ**

ADANA-2024

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDA PULPAL TEDAVİLERDE KULLANILAN MATERYALLERİN SÜT DİŞİ PULPA KÖK HÜCRELERİNE ETKİSİ

Arş. Gör. Dt. Nuran GÖKDOĞAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Volkan ÇİFTÇİ

Bu çalışma TDH-2023-16124 no'lu proje olarak Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

ADANA-2024

KABUL ve ONAY

Pedodonti Anabilim Dalı

Uzmanlık Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan

“Çocuklarda pulpal tedavilerde kullanılan materyallerin süt dişi pulpa kök hücrelerine etkisi” adlı çalışma, aşğıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 22/ 10 / 2024

TEZ SINAV JÜRİSİ

Başkan

Üye

Üye

Üye

Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun 30 / 10 / 2024 tarih ve 40/2 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

ETİK BEYANI

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 03/11/2024

Nuran GÖKDOĞAN

Kayıtlı olunan Program	: Pedodonti Anabilim Dalı
Tezin Konusu	: Çocuklarda pulpal tedavilerde kullanılan materyallerin süt dişi pulpa kök hücrelerine etkisi
Tezin Türü	: Uzmanlık Tezi
Danışmanın Adı-Soyadı	: Doç. Dr. Volkan ÇİFTÇİ
Danışmanın İletişim Bilgileri	
Telefon	:
E-Posta	:

Öğrencinin İletişim Bilgileri

Telefon :
E-posta :
Adres :

**Bu belgenin Lisansüstü eğitim tezleri savunmaya alınmadan önce öğrenci tarafından doldurulup imzalanarak Enstitü Müdürlüğüne teslim edilmesi gerekmektedir.*



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim sürecim boyunca her zaman desteğini hissettiğim, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, en stresli anlarımda bile sakin kalmamı sağlayarak çözüm odaklı bir yaklaşım benimsememe yardımcı olan değerli danışman hocama sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca, bilgi ve tecrübelerinden yararlanmamı sağlayarak akademik gelişimime katkıda bulunan ve içten yaklaşımlarıyla bana destek olan pedodonti anabilim dalındaki değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Eğitim sürecimizi beraber tamamladığımız, bu süreçte karşılaştığımız zorlukları aşarken birbirimize destek olduğumuz eş kıdemlilerime yanımda oldukları için teşekkür ederim. Aynı zamanda çalışmaktan keyif duyduğum diğer asistan arkadaşlarıma ve pedodonti aileme teşekkür ediyorum.

Bugünlere gelmemi sağlayan, beni sadece sevgiyle değil, aynı zamanda özveriyle, sabırla ve her zaman yanımda olarak yetiştiren, desteklerini her an hissedebildiğim, emeklerini asla ödeyemeyeceğim başta canım annem olmak üzere, sevgili anneanneme, teyzelerime, canım aileme ve hayatımda her zaman özel bir yeri olan kız kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

µl: Mikrolitre

µm: Mikrometre

ANOVA: Analysis Of Variance(Varyans Analizi)

Ca(OH)₂: Kalsiyum hidroksit

DMEM: Dulbecco'nun modifiye Eagle esansiyel vasatı

FBS: Fetal sığır serumu

ISO: Uluslararası Standardizasyon Birliği

Mm: milimetre

MTA: Mineral trioksit aggregate

MTT : (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür)

PBS: Fosfat tampon solüsyonu

pH: Asit-Baz değeri

ZnOE: Çinko oksit ojenol

SDPKH: Süt Dişi Pulpa Kök Hücresi

DPKH: Dental Pulpa Kök Hücresi

LSDO: Lezyon Sterilizasyonu ve Doku Onarımı

ASA: Amerikan Anestezistler Derneği

RET: Rejeneratif Endodontik Tedavi

GDI: Genetik Hasar İndeksi

M: Molar

mM: Milimolar

AEE: Amerikan Endodonti Birliği

AAPD: Amerikan Pedodonti Akademisi

NIH 3T3: Sıçan Fibroblastı

CEM: Kalsiyumla Zenginleştirilmiş Siman

L929: Sıçan Fibroblastı

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
ETİK BEYANI	iii
TEŞEKKÜR.....	v
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Diş Çürüğü.....	2
2.1.1. Diş Çürüğünde Rol Oynayan Etmenler	2
2.1.2. Diş Çürüğünün Sınıflaması.....	4
2.1.2.1. Mine Çürüğü	4
2.1.2.2. Dentin Çürüğü.....	5
2.2. Çocuklarda Uygulanan Pulpal Tedaviler	6
2.2.1. Vital Pulpa Tedavileri	6
2.2.1.1. Kuafaj	7
2.2.1.2. Pulpotomi.....	8
2.2.1.3. Rejeneratif Endodontik Tedavi (RET).....	8
2.2.2. Diğer Pulpal Tedaviler	12
2.2.2.1. Kök Kanal Tedavisi	12
2.2.2.2. Apeksifikasyon	13
2.2.2.3. Lezyon Sterilizasyonu ve Doku Onarımı	14
2.3. Çocuklarda Kullanılan Biyoaktif Materyaller	19
2.3.1. MTA	19
2.3.2. Biodentin	21
2.3.3. Neoliner LC	23
2.3.4. Bio C Repair	23

2.3.5. Theracal PT	24
2.4. Dental Pulpa Kök Hücresi	24
2.5. Hücre Biyouyumluluğunun İncelenmesi	26
2.5.1. Hücre Kültürü	27
2.5.2 Sitotoksisite Testleri.....	28
2.5.3. MTT Testi	30
2.5.4. Wound Healing Yara Çizik Testi.....	32
2.5.6. Comet Genotoksisite Testi	33
3. MATERYAL VE METOD	34
3.1. Hücrelerin Hazırlanması	34
3.2. Muamele Edilecek Test Örneklerin Hazırlanması	37
3.3. Sitotoksisite, Genotoksisite ve Hücre Göçü Testlerinin Uygulanması	41
3.3.1. MTT Testi (Hücre Canlılık testi)	41
3.3.2. Comet Testi (Genotoksisite testi).....	44
3.3.3. Wound Healing Testi (Yara Çizik Deneyi)	45
3.4. İstatiksel Analiz.....	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. MTT Test Sonuçları	47
4.2. Comet Test Sonuçları	55
4.3. Yara Çizik Deneyi	57
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	71
KAYNAKÇA	72
EKLER.....	95
Ek 1. Tıp Fakültesi Araştırma Etik kurulu	95

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Enfekte dentin / Etkilenmiş dentin.....	6
Tablo 2. Biodentin içeriği	22
Tablo 3. Test edilen biyoaktif materyallerin içeriği	37
Tablo 4. ISO 10993-12.....	40
Tablo 5. Kuyucuk dizilimi	44
Tablo 6. Test edilen materyallerin hücre canlılık yüzdeleri	47
Tablo 7. %1’lik derişimdeki biyoaktif materyallerin hücre canlılığı oranları	47
Tablo 8. %5’lik derişimdeki biyoaktif materyallerin hücre canlılığı oranları	48
Tablo 9. %10’luk derişimdeki biyoaktif materyallerin hücre canlılığı oranları.....	49
Tablo 10. Biodentin dilüsyonları arasındaki hücre canlılığı oranları.....	49
Tablo 11. %1’lik derişimdeki antibiyotik patları arasındaki hücre canlılığı oranları	50
Tablo 12. %5’lik derişimdeki antibiyotik patları arasındaki hücre canlılığı oranları	50
Tablo 13. %10’luk derişimdeki antibiyotik patları arasındaki hücre canlılığı oranları ..	51
Tablo 14. 24 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesi	51
Tablo 15. 48 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesi	52
Tablo 16. 72 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesi	52
Tablo 17. 24 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	53
Tablo 18. 48 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	53
Tablo 19. 72 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	54
Tablo 20. Comet testi sonucu hasar değerlendirilmesi	55
Tablo 21. Materyallerin Genetik Hasar İndeksi	56
Tablo 22. Materyallerin Hasarlı Hücre Yüzdesi	56
Tablo 23. Test edilen materyallerin migrasyon yüzdeleri	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Diş çürüğünde rol oynayan etkenler	2
Şekil 2. Kök hücre sınıflaması	25
Şekil 3. MTT'nin Formazan'a dönüşümü	31
Şekil 4. İnkübatör	35
Şekil 5. Inverted Mikroskop	35
Şekil 6. SDPKH görüntüsü	36
Şekil 7. Theracal PT	38
Şekil 8. NeoLiner LC	38
Şekil 9. Bio C Repair	38
Şekil 10. MTA Angelus	39
Şekil 11. Biodentin	39
Şekil 12. Steril Çalışma Kabini	40
Şekil 13. Materyallerin üretici firma talimatları doğrultusunda karıştırılması	41
Şekil 14. MEM solüsyonunda bekletilen örnekler	41
Şekil 15. Thoma lamı	42
Şekil 16. Işık mikroskobu	43
Şekil 17. EZ Read 400 microplate okuyucu	43
Şekil 18. DNA kuyruk uzunluğuna göre hücre hasarı tipleri	45
Şekil 19. Yara çizik deneyi sonucu biyoaktif materyallerin mikroskop görüntüsü	57
Şekil 20. Yara çizik deneyi sonucu antibiyotik patlarının mikroskop görüntüsü	58

ÖZET

ÇOCUKLARDA PULPAL TEDAVİLERDE KULLANILAN MATERYALLERİN SÜT DİŞİ PULPA KÖK HÜCRELERİNE ETKİSİ

Amaç: Bu çalışmanın amacı; çocuklarda vital pulpa tedavilerinde uygulanan MTA (Angelus, Brezilya), Biodentin (Septodont, Fransa), Bio-c Repair (Angelus, Brezilya), Neoliner LC (Nusmile, ABD), Theracal PT (Bisco, ABD) gibi biyoaktif materyallerin ve lezyon sterilizasyonu ve doku onarımında (LSDO) ve rejeneratif endodontik tedavide kullanılan antibiyotik patlarının süt dişi pulpa kök hücreleri (SDPKH) üzerindeki sitotoksik, genotoksik ve hücre göçü üzerindeki etkisini incelemektir.

Materyal-Metod: Materyallerin süt dişi pulpa kök hücresi (SDPKH) hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini incelemek için MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi, genotoksik etkilerini incelemek için Comet (tek hücre jel elektroforezi) testi ve hücre göçü üzerindeki etkilerini incelemek için Wound Healing yara çizik deneyi uygulandı. MTT testi için 96 kuyucuklu hücre plakalarının içine üretici talimatlarına göre hazırlanan test materyalleri üzerine hücre kültürü medyası ilave edildi. Elde edilen ekstratları uygun dilüsyonlarda (%1, %5, %10) hazırlanarak sitototoksisite deneyi için SDPKH hücreleri üzerine eklendi. Comet testi için ise test materyallerine maruz bırakılan hücreler agar ile kaplanmış lamlara yayıldı ve lising çözeltisinde bekletildi. Daha sonra elektroforez tankında 25 voltta 20 dk. süreyle uygulandı. Lamlar daha sonra floresan mikroskopunda genotoksisite açısından değerlendirildi. Yara çizik deneyi için hücreler ilk olarak, her kuyuda 3×10^5 hücre olacak şekilde 6 kuyucuklu plakalara ekildi ve çoğalmaları beklendi. Hücreler %100 yoğunluğa ulaştıktan sonra her kuyuda hücresiz bir alan oluşturuldu ve test grupları muamele edildi. 0. ve 24. saatlerde görüntü alınarak hücre migrasyonu saptandı. Verilerin istatistiksel analizi için SPSS programı kullanıldı.

Bulgular: MTT testi sonuçlarına göre %1 Biodentin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir hücre canlılığı artışı göstermiştir ($p < 0.01$). Diğer materyaller kontrole benzer hücre canlılığı sergilemiştir. %5'lik dilüsyonlarda; Theracal PT ($p=0.01$), NeoLiner LC'de ($p=0.02$) ve Bio C Repair'de ($p=0.04$) kontrol grubuna göre anlamlı

derecede yüksek hücre canlılığı görülmüştür. %10'luk dilüsyonlarda; Theracal PT ($p=0.002$) ve NeoLiner LC'de ($p=0.024$) kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek hücre canlılığı göstermiş, diğer materyaller ile kontrol grubu arasında hücre canlılığındaki artışta anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0.05$).

Antibiyotik patlarının MTT testi sonucunda; %5'lik dilüsyonları arasında 3'lü antibiyotik patı hücre canlılıkta kontrole göre anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p=0.001$). Antibiyotik patlarının %10'luk dilüsyonları arasında 2'li patta hücre canlılığında kontrole göre bir düşüş görülse de bu istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır ($p>0.05$). 3'lü patta görülen hücre canlılığındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$).

Comet testi sonuçlarına göre MTA'da genotoksisite kontrol grubuyla benzer sonuçlar vermiştir. Biodentin ve NeoLiner LC de birbiriyle benzer sonuçlar vermiştir; ancak hasar oranı kontrole göre yüksek sonuç vermiştir. En yüksek hasar oranı Bio C Repair ve Theracal PT'de bulunmuştur ($p<0.001$). Yara çizik deneyi sonucunda tüm materyaller kontrol grubundan daha yüksek değerler vererek hücre göçünü uyardığı düşünülmektedir.

Sonuçlar: MTT testi sonuçlarına göre tüm biyoaktif materyallerinin SDPKH hücrelerinde proliferasyon artışı gösterdiği sonucuna ulaşıldı. En çok çoğalma %1 Biodentin dilüsyonda görülmüştür. Antibiyotik patlarının %1'lik konsantrasyonları hariç tüm konsantrasyonları %30'dan daha fazla hücre ölümüne sebep olarak sitotoksik etki göstermiştir. Comet testi sonuçlarına göre biyoaktif materyallerden Bio C Repair'in ve Theracal PT'nin genotoksik indeksi ve hasarlı hücre sayısı diğer materyallerden anlamlı derecede fazla gözlenmiştir. Yara çizik deneyi sonucunda tüm biyoaktif materyallerin hücre göçünü uyardığı görülmüştür. Bu materyallerle ilgili gelecekte yapılacak daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Biyoaktif materyaller, Genotoksisite, Sitotoksisite, Süt dişi pulpa kök hücresi (SDPKH).

ABSTRACT

THE EFFECT OF MATERIALS USED IN PULPAL TREATMENTS IN CHILDREN ON DECIDUOUS PULP STEM CELLS

Objective: The aim of this study is to examine the cytotoxic, genotoxic, and cell migration effects of bioactive materials used in vital pulp treatments in children, such as MTA (Angelus, Brazil), Biodentine (Septodont, France), Bio-C Repair (Angelus, Brazil), Neoliner LC (Nusmile, USA), Theracal PT (Bisco, USA), and antibiotic pastes used in lesion sterilization and tissue repair (LSTR) and regenerative endodontic treatment on stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED).

Materials and Methods: The MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay was used to assess the cytotoxic effects of the materials on SHED cells, the Comet assay (single-cell gel electrophoresis) was performed to evaluate genotoxicity, and the Wound Healing scratch assay was applied to examine the effects on cell migration. For the MTT assay, test materials prepared according to the manufacturers' instructions were added to 96-well cell culture plates. The resulting extracts were diluted appropriately (1%, 5%, 10%) and applied to SHED cells for cytotoxicity testing. For the Comet assay, cells exposed to test materials were spread onto slides coated with agar and incubated in lysis solution. Electrophoresis was performed at 25 volts for 20 minutes. Slides were then analyzed under a fluorescent microscope for genotoxicity. For the Wound Healing assay, 3×10^5 cells per well were seeded into 6-well plates and allowed to grow. Once cells reached 100% *confluence*, a cell-free area was created in each well, and test groups were treated. Images were captured at 0 and 24 hours to evaluate cell migration. Statistical analysis was performed using the SPSS software.

Results: According to the MTT test results, 1% Biodentine showed a statistically significant increase in cell viability compared to the control group ($p < 0.01$). Other materials demonstrated similar cell viability to the control. At 5% dilutions, significantly higher cell viability compared to the control was observed with Theracal PT ($p = 0.01$), NeoLiner LC ($p = 0.02$), and Bio-C Repair ($p = 0.04$). At 10% dilutions, Theracal PT ($p = 0.002$) and NeoLiner LC ($p = 0.024$) demonstrated significantly higher cell viability

compared to the control group. There was no significant difference in cell viability between the control group and the other materials ($p>0.05$).

In the MTT test for antibiotic pastes, the 5% dilution of triple antibiotic paste showed a significant reduction in cell viability compared to the control ($p=0.001$). In the 10% dilutions, a reduction in cell viability was observed in the double antibiotic paste compared to the control, but this was not statistically significant ($p>0.05$). The reduction in cell viability for the triple antibiotic paste was statistically significant ($p=0.001$).

According to the Comet test results, MTA showed genotoxicity similar to the control group. Biodentine and NeoLiner LC showed similar results to each other but had higher damage rates compared to the control. The highest damage rates were observed with Bio-C Repair and Theracal PT ($p<0.001$). The Wound Healing assay indicated that all materials promoted cell migration, as evidenced by higher values compared to the control group.

Conclusion: According to the MTT assay results, all bioactive materials promoted an increase in SHED cell proliferation. The highest proliferation was observed with 1% Biodentine. All concentrations of antibiotic pastes, except the 1% concentration, caused over 30% cell death, indicating cytotoxic effects. According to the Comet test results, Bio-C Repair and Theracal PT had significantly higher genotoxic indices and damaged cell counts compared to the other materials ($p<0.05$). More detailed studies are needed on these materials in the future. The Wound Healing assay indicated that all bioactive materials promoted cell migration.

Keywords: Bioactive materials, Genotoxicity, Cytotoxicity, Stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED).

1. GİRİŞ

Çocuklarda görülen diş çürükleri ağrı ve enfeksiyon nedeniyle yaşam kalitesini düşürmekte, sosyal ve psikolojik gelişimi de olumsuz etkilemektedir [1]. Zamanında müdahale edilmeyen çürükler ve travmatik dental yaralanmalar pulpa harabiyetine neden olabilmektedir [2]. Bu gibi durumlarda pulpanın etkilenimine göre (irreversible/reversible) çeşitli tedavi seçenekleri uygulanmaktadır. Bunlar arasında kuafaj, amputasyon gibi vital pulpa tedaviler, rejeneratif endodontik tedavi, lezyon sterilizasyonu ve doku onarımı (LSDO) gibi ileri tedavi seçenekleri de yer almaktadır. Vital tedavilerde seçilen materyal kalan pulpanın koruması veya orda rejeneratif bir etki göstermesi için bazı özelliklere sahip olmalıdır. Bu materyal sitotoksik olmamalı, hücrelerde iyileşmeyi sağlamalı, sert doku oluşumunu indüklemeli ve hücre göçünü uyarmalıdır.

Günümüzde malzeme biliminin ilerlemesiyle önceki materyallerin dezavantajlarını elimine edecek yeni materyaller üretilmektedir. Biyoseramikler biyoaktif, biyoinert ve radyoopak malzemelerdir. Biyoinert malzemeler konakçıdan yanıt almaz ve zarar vermez [3]. Biyoaktif özelliğiyle de sert doku oluşumu uyarak iyileşmeyi sağlarlar. Bu tez çalışmasında MTA Angelus ve Biodentine (Septodont) ile karşılaştırıldığında yeni üretilen resin içerikli biyoaktif materyaller olan NeoLiner LC (NuSmile), Theracal PT (Bisco) ve Bio C Repair (Angelus)'ın süt dişi kök hücreleri üzerine genotoksik, sitotoksik etkilerini ve hücre göçü, ayrıca LSDO'da kullanılan ikili ve üçlü antibiyotik patının da sitotoksitesinin incelenmesi amaçlanmıştır.

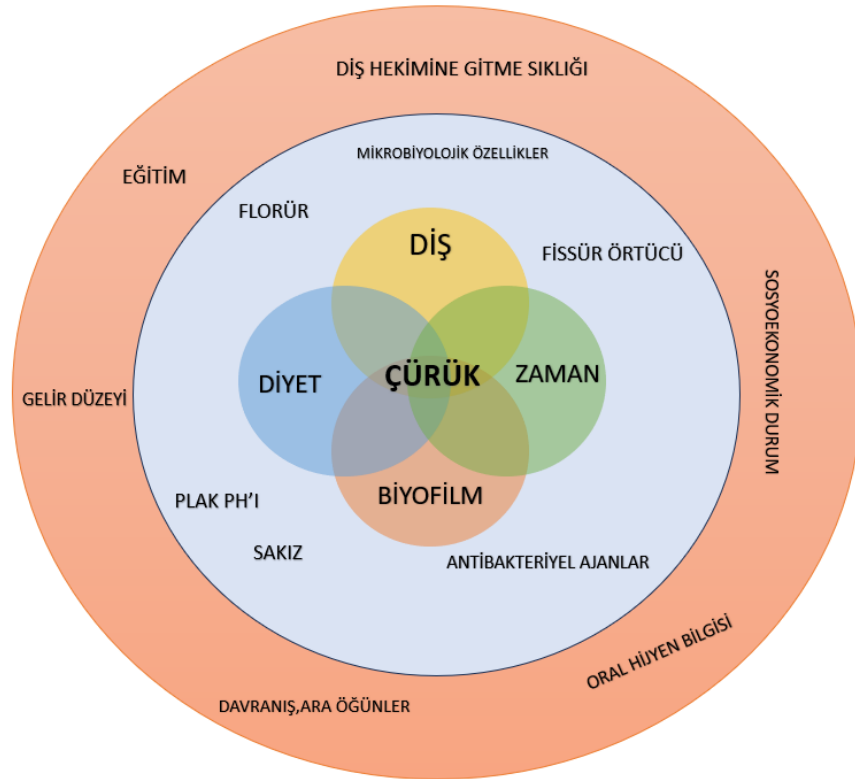
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diş Çürüğü

Diş çürüğü, mikrobiyolojik değişikliklerle başlayan ve tükürük akışı ve bileşimi, koruyucu alışkanlıklar (diş fırçalama, diş ipi kullanımı vb.), şeker tüketimi ve florür maruziyeti gibi birçok faktörden etkilenen çok yönlü bir süreçtir. Bu durum, diş dokusunda harabiyete neden olan lokal doku kaybı ile başlar ve bulaşıcı bir niteliğe sahiptir [4].

2.1.1. Diş Çürüğünde Rol Oynayan Etmenler

Diş çürüğünün gelişiminde dört ana faktör bulunmaktadır. Bunlar; çürüğe yatkın diş, karyojenik gıdalar, plak ve zamandır. Bunun yanı sıra, dişlerin morfolojisi, bağışıklık sistemi, genetik özellikler, çevresel ve davranışsal etkenler, sosyoekonomik durum, eğitim düzeyi, florür kullanımı gibi pek çok faktör de bu süreçte etkili rol oynar [5], [6], [7].



Şekil 1. Diş çürüğünde rol oynayan etkenler

Diş çürüğünün gelişiminde Streptokoklar, Laktobasiller ve Aktinomiçesler gibi bakterilerin rolü oldukça önemlidir. Bu bakteriler arasında, yüksek miktarda asit üretebilme, diş yüzeyine tutunabilme, düşük pH seviyelerinde hayatta kalabilme ve metabolik aktivitelerini sürdürebilme özelliklerine sahip olan Streptococcus mutans, en yüksek karyojenik potansiyele sahip bakteri olarak bilinmektedir [8], [9].

Karyojenik bakteriler karbonhidratları fermente ederek organik asitlerin oluşmasına neden olurlar. Bu nedenle karbonhidratlar çürük gelişiminde önemli bir rol oynar. Monosakkaritler, disakkaritler, glikoz polimerleri, bazı oligosakkaritler ve rafine edilmiş nişasta gibi polisakkaritler, fermente edilebilir karbonhidratlardır. Alınan karbonhidratların türü ve miktarı, ağızda kalma süreleri, yapısal özellikleri ve tükürük akış hızını uyarma özellikleri çürük oluşturma potansiyellerini belirler [10].

Plak bakterilerinin karbonhidratları metabolize etmesi sonucu oluşan organik asitler, ortamın pH seviyesinin düşmesine neden olur. Asit ataklarına belirli bir süre maruz kalan minenin inorganik yapısında meydana gelen çözümler, demineralizasyon sürecini başlatır [11]. Tükürüğün akış hızı, viskozitesi, bileşimi ve tamponlama kapasitesi, bireyin ağız hijyeni alışkanlıklarıyla birlikte, bu sürecin durdurulması ve geri döndürülebilmesi (remineralizasyon) için hayati bir rol oynar [9]. Hayat boyu süren bu denge, demineralizasyon lehine bozulduğunda, çürük lezyonunun başlamasına yol açar [11].

Mine dokusundaki inorganik içeriğin çözünmeye başladığı kritik pH değerinin yaklaşık 5,5 olduğu belirlenmiştir. Plak pH'ı bu seviyenin altına düştüğünde, mine asit ataklarına maruz kalır. Minenin dış yüzeyi, daha derin tabakalara göre asit ataklarına daha dirençli olduğundan, demineralizasyon en çok yüzeyin 10-15 µm altındaki bölgede gerçekleşir. Bu sürecin ilerlemesiyle birlikte, yüzey altı tabakada çürüğün klinik olarak gözlemlenebilen ilk belirtisi olan başlangıç mine lezyonu meydana gelir. Bu oluşum, "beyaz nokta lezyonu" olarak adlandırılır. Demineralizasyon süreci durdurulamaz veya geri döndürülemezse, yüzey altı lezyonu genişlemeye devam eder. Minenin incelen dış yüzeyinde çökmenin meydana gelmesiyle birlikte kavite oluşumu gerçekleşir [9].

Mine üzerinde beyaz nokta lezyonu olarak başlayan doku yıkımı durdurulmazsa, minede belirgin yapısal bozulmalara yol açarak dentin-pulpa kompleksine ulaşır. Bu süreç, pulpa ve periapikal dokuların enflamasyonu ile devam eder [12].

Mevcut çürük lezyonları, düşük tükürük akış hızı, dişlerde belirgin plak oluşumu, sosyodemografik faktörler, sık şeker tüketimi ve karyojenik mikroflora, çürük riskinin en yaygın belirteçlerindendir. Çürük riskine karşı koruyucu faktörler ise ağız hijyeni alışkanlıkları, düzenli diş hekimi kontrolleri ve uygun florür kullanımı olarak sıralanabilir [13].

Farklı parametrelerin birlikte değerlendirilmesine olanak tanıyan ve bireylerin gelecekteki diş çürüklerine karşı duyarlılığını ölçen araçlara çürük riski değerlendirme aracı denir. Günümüze kadar çeşitli risk değerlendirme araçları geliştirilmiş olsada, mevcut çürük durumu, gelecekte oluşabilecek lezyonlar için en iyi belirteç olarak kabul edilmektedir [14]. Bunun nedeni, mevcut çürük durumunun, çürük risk tahmininde kullanılan diğer tüm etiyolojik faktörlerin etkileşiminin bir sonucu olmasıdır. Çürükle ilişkili alışkanlıklar ve durumlar değişmediği sürece, çürük aktivitesi de aynı seviyede devam edecektir [15].

2.1.2. Diş Çürüğünün Sınıflaması

2.1.2.1. Mine Çürüğü

Mineden mineral çözünmesi için ortamın pH'ının genel olarak kritik değer olarak kabul edilen yaklaşık 5,5 olması gerekmektedir. Ortamdaki pH bu kritik değerden düşük olduğunda, dişte bulunan kalsiyum ve fosfat gibi mineraller, tamponlama sağlamak amacıyla plak içine doğru hareket ederler. Eğer bu döngü demineralizasyon lehine bozulursa, çürük oluşumu meydana gelir [16]. Mine çürüğü erken aşamalarda, dişin renginden dolayı saydamlığını kaybetmiş ve belirgin bir opak beyaz lezyon olarak görünür. Mine kristallerinin çözünmesi, minede gözeneklerin oluşması ve yüzey altında demineralizasyon ile başlar; gözenekli mine, sağlam mineye göre ışığı daha fazla yansıttığı için mine opak bir görünüm alır [17].

Mine çürüğü diş yüzeyinden pulpaya doğru 4 tabakadan oluşmaktadır:

- 1) Yüzeyel Tabaka
- 2) Lezyon Gövdesi
- 3) Karanlık Tabaka
- 4) Saydam Tabaka

2.1.2.2. Dentin Çürüğü

Minede başlayan çürüğün alttaki derin katmanlara ilerlemesi mine yüzeyindeki mikro çevreye bağlıdır. Karyojenik koşullar devam ederse çürük mine-dentin sınırına ve dentine ulaşır. Dentinin yapısı mineden farklı olduğu için çürüğün seyri daha farklı ve karmaşıktır [18]. Çürüğün dentinde ilerlemesi sonucu önce organik asitler dentini demineralize eder sonra dentindeki organik materyal özellikle kollajenin yapısı bozulur daha sonra da bakterilerin dokuya invaze olmasıyla dentin dokusu yıkılır [19]. Organik yapının yıkımında dentin ve tükürük kaynaklı matriks metallo-proteinazlar ve bakterilerin proteolitik enzimleri etkilidir [20]. Çürük dentinde daha hızlı ilerler çünkü inorganik yapısı mineden azdır ve dentin kanallarının varlığı mikroorganizmaların ilerlemesini kolaylaştırır. Çürüğün dentin içinde yayılması dentin tübüllerinin yönünü takip etmektedir[18]

Dentin çürüğü histolojik olarak incelendiğinde, dış yüzeyden pulpaya doğru sırasıyla enfekte dentin, bulanık dentin, saydam dentin, substransparan dentin ve normal dentin olmak üzere beş tabakadan oluşur.

Enfekte Dentin

En dış katman, bakteriler tarafından invaze edilmiş dentin tabakasıdır ve kollajen yapısı ile mineral içermez. Dentin yapısı tamamen bozulmuştur. Bakteri ve bakteriyel ürünlerin büyük bir kısmı, yüzeyde yumuşamış ve mantarlaşmış enfekte dentin tabakasında bulunur. Bu tabakanın remineralize olması mümkün değildir ve restorasyon öncesinde bu tabakanın temizlenmesi gerektiği belirtilmektedir [21].

Bulanık Dentin

Bu tabakada bakteriler dentin tübüllerine girerek tübülleri doldurmuştur. Tübüllerde mineral miktarı çok düşüktür. Remineralizasyon için gerekli olan kollajen de bozulduğundan, bu bölgede dentin kendini onaramaz. Bu nedenle, bulanık dentinin restorasyon öncesinde temizlenmesi tavsiye edilmektedir [21].

Saydam Dentin (Transparent Dentin)

Normal dentin tabakasına kıyasla daha düşük sertlikte olan bu tabakada, intertübüler dentinde büyük ölçüde mineral kaybı görülmektedir ve dentin tübüllerinin lümenlerinde büyük hacimli kristallere rastlanmaktadır. Bu bölgenin uyarılması ağrıya neden olabilir. Ancak, bu tabakada kollajen çapraz bağları bozulmamış olup, remineralizasyon kapasitesine sahiptir [22].

Yarı Saydam (Subtransparant) Dentin

Normal dentin tabakasının üzerinde bulunan bu tabakada demineralizasyon gözlemlenmektedir. Dentin tübüllerinin lümenlerinde küçük boyutlu kristaller bulunmaktadır. Bu tabaka da remineralize olabilmektedir [22].

Normal Dentin Tabakası

Çürük dentinin en derin kısmında bulunan bu tabakada, dentin tübüllerinin yapısı ve kollajen çapraz bağlarının yapısı bozulmamıştır. Normal dentin tabakasında apatit kristallerinin yoğunluğu değişmemiştir [22].

Dentin çürüğü, klinik olarak enfekte ve etkilenmiş dentin olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır [23]. Saydam ve yarısaydam dentin tabakaları etkilenmiş dentini, enfekte ve bulanık dentin tabakaları ise enfekte dentini oluşmaktadır [22]. Enfekte ve etkilenmiş dentin tabakaları arasındaki farklar Tablo 1’de gösterilmektedir.

Tablo 1. Enfekte dentin / Etkilenmiş dentin

ENFEKTE DENTİN	ETKİLENMİŞ DENTİN
Dentin çürüğü dış tabakasıdır.	Dentin çürüğü iç tabakasıdır.
Yumuşak, açık kahverengi, sarı renklidir.	Daha serttir ve koyu renktir.
Kollajen denatüre olmuştur.	Kollajen çapraz bağları kısmen değişikliğe uğramıştır.
Remineralize olamaz.	Remineralize olabilir.

2.2. Çocuklarda Uygulanan Pulpal Tedaviler

Çürük ilerledikçe pulpal etkilenim gerçekleşmektedir. Bunun sonucunda pulpal etkilenimin tipine göre çeşitli pulpal tedaviler uygulanmaktadır. Uygulanacak tedavi pulpanın durumuna (irreversible/reversible), dişin kök gelişim durumuna, periodontal duruma göre değerlendirilir.

2.2.1. Vital Pulpa Tedavileri

Pulpa dokusu, sürekli olarak mikrobiyal, kimyasal ve fiziksel etkilere maruz kalır. Farklı türde yaralanmalar sonucunda, pulpa hücreleri, yara iyileşme sürecinde çeşitli

dentin matriks proteinleri üretir ve odontoblast hücrelerine dönüşerek onarım kapasitesine sahip olur [24].

Eğer dişteki pulpal etkilenim geri dönüşümlü (reversible) ise vital pulpa tedavilerini öncelikli olarak tercih ediyoruz.

Tersiyer dentinin kalitesi, pulpanın canlılığını korunması açısından kritik bir öneme sahiptir. Hafif yaralanmalarda meydana gelen ve primer dentin matrisi ile temas eden düzenli tubuler yapıya sahip reaksiyonel dentin, primer dentinin oluşumunda rol oynayan odontoblastlar tarafından üretilir. Öte yandan, dişlerde meydana gelen şiddetli yaralanmalarda oluşan tamir dentini, pulpa kökenli odontoblast benzeri hücreler tarafından salgılanır [25]. Tamir dentin matriksi, düzenli tubuler bir yapı sergilemediğinden, primer dentinin kısmi geçirgenlik özelliğini sürdürmez. Dentin geçirgenliği, pulpanın vereceği yanıtı önemli ölçüde etkiler [26].

2.2.1.1. Kuafaj

Vital pulpa tedavileri, farklı yöntemleri kapsamaktadır; bunlar direkt pulpa kaplaması, indirekt pulpa kaplaması ve pulpotomidir (Endodontology 2006). Direkt pulpa kaplaması, pulpanın travmatik yaralanmayla veya iyatrojenik nedenlerle ekspoz olduğu durumlarda gerçekleştirilir [27]. Direkt pulpa kaplaması sırasında, ekspoz olan bölgeye bir medikament yerleştirilir, böylece pulpa iyileşmesinin uyarılması ve reperatif dentin üretiminin stimülasyonu amaçlanır. Yapılan bu tedavinin başarılı olması daha ileri bir tedaviye (örneğin kök kanal tedavisi) olan ihtiyacı ortadan kaldıracaktır [28].

İndirekt pulpa kaplaması, pulpa ekspozunu engellemek amacıyla pulpayı açığa çıkarabilecek çürük dentinin korunarak, üzerine biyouyumlu bir materyal yerleştirilmesiyle yapılan bir işlem olarak tanımlanır [29]. Pulpa ekspozunu önlemek amacıyla çürük dentinin en derin tabakasının korunması, işlem sonrasında pulpa semptomlarının gelişme riskini ciddi ölçüde düşürür. Ayrıca, kalan dentinin remineralizasyonu sayesinde olumlu klinik sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir [30].

Kuafaj süt dişlerinde başarı oranı düşük olduğu için pek tercih edilen bir tedavi yaklaşımı olmamaktadır. Bunun yerine daha çok amputasyon tercih edilmektedir.

2.2.1.2. Pulpotomi

Parsiyel Pulpotomi

Parsiyel pulpotomi, koronal pulpanın bir kısmının çıkarılarak sağlıklı koronal ve radiküler pulpa dokusunun korunması amacıyla yapılan bir işlem olarak tanımlanır [31]. İnflamasyonun meydana geldiği ve geri dönüşümsüz şekilde hasar görmüş pulpa dokusunu temizlemek için, inflamasyona maruz kalan alanın yaklaşık 2 ile 3 mm derinliğinden pulpa alınır ve kalan sağlıklı pulpa dokusu korunur [32]. Parsiyel pulpotomi genellikle yüksek hızlı aeratör ve elmas frez ile ve sürekli su soğutması altında gerçekleştirilir [33].

Total Pulpotomi

Total pulpotomi, radiküler pulpa dokusunun canlılığını korumak amacıyla koronal pulpanın tamamen çıkarılması şeklinde uygulanan bir tedavi yöntemidir [31]. Koronal pulpa tamamen alınıp kanama kontrol sağlandıktan sonra kanal ağzları bir tamir materyali ile kapatılır. AAPD (American Academy of Pediatric Dentistry) yönergelerine göre, geniş çürüğe sahip ama periapikal patoloji göstermeyen dişlerde pulpotomi tedavisi önerilmektedir [34]. Bununla birlikte, son dönemdeki çalışmalar, irreversible pulpitis teşhisi konmuş ve periapikal lezyonları bulunan kalıcı dişlerde kalsiyum silikat simanlar kullanılarak yapılan pulpotomi uygulamalarının radiküler lezyonların iyileşmesini sağladığını göstermiştir [35].

2.2.1.3. Rejeneratif Endodontik Tedavi (RET)

İmmatür daimi dişlerin gelişimi travma, çürük, dens evaginatus gibi nedenlerle durabilir[36] . Rejenerasyon devital immatür dişler için etkili bir tedavi yöntemidir. Bu tedavi ile kök gelişiminin devamı, kaybedilen dokuların yenilenmesi ve kök hücre aracılı büyümenin uyarılması amaçlanmaktadır [37].

Amerikan Endodontistler Birliği'nin tanımına göre, rejeneratif endodonti, dentin ve kök yapılarının yanı sıra pulpa-dentin kompleksindeki hücreler dahil hasar görmüş diş yapılarının fizyolojik olarak yeniden oluşturulmasını amaçlayan biyolojik tabanlı prosedürler olarak tanımlanmaktadır (2020). Günümüzde endodontik rejeneratif prosedürler, esasen nekrotik ve olgunlaşmamış kalıcı dişlerin tedavisinde kök kanal

boşluklarını yenileyip kök gelişimini eski durumuna getirmek amacıyla uygulanmaktadır [38].

Revitalizasyon, uygun seçilmiş vakalarda apeksifikasyona alternatif olabilecek biyolojik temelli bir tedavidir [39]. Revitalizasyon prosedürlerinin kilit noktaları şunlardır:

- i. Dentin duvarlarının çok az enstrümantasyonu veya hiç yapılmaması,
- ii. İrriganlar ile dezenfeksiyon,
- iii. İntrakanal medikamentin uygulanması,
- iv. Kanal içine kanamanın sağlanması ve bir kan pıhtısı oluşumu,
- v. Hidrolik silikat siman ile kapatma ve
- vi. Etkili bir koronal kapatma [39].

RET kök kanalının dezenfeksiyonunu ve sonrasında MTA gibi biyoaktif bir materyal ile uygulanan doku iskelesinin üzerinin kapatılmasını kapsar [40]. RET'in başarısı; apikal periodontitisin iyileşmesi, kök duvarlarının uzaması ve kalınlaşmasına ek olarak pulpa canlılık testlerine olumlu yanıt alınması ile ilişkilidir [41].

Rejeneratif Endodontik Tedavinin Uygulanışı

AAE (Amerikan Endodonti Derneği) 2021 yılında RET hakkında önerilerini yayınlamıştır. Derneğin RET için endikasyonu bulunan durumları şu şekilde sıralamıştır:

- Nekrotik pulpa ve açık apekse sahip immatür dişler
- Post kor benzeri restorasyona ihtiyacı olmayan dişler
- Uyumlu hasta ve ebeveyn
- Tedavide kullanılan ilaç ve antibiyotiklere karşı alerjisi bulunmayan, fiziksel durumu Amerikan Anestezistler Derneği'ne (ASA) göre ASA1 ve ASA2 olan hastalar

AAE, RET klinik uygulama prosedürünü 2021 yılında güncellemiştir.

Birinci Seans

1. İlk olarak lokal anestezi uygulanır ve rubber dam ile diş izole edilir. Daha sonra giriş kavitesi açılır.
2. 20 ml NaOCl kullanılarak, periapikal bölgeye irriganların ekstrüzyon olasılığını azaltan bir irrigasyon sistemiyle (kapalı uçlu ve yandan açılan enjektör veya EndoVac) bol ve nazik bir şekilde irrigasyon yapılır. NaOCl'nin düşük konsantrasyonları (%1.5- %3, 20 ml / kanal, 5 dakika) tercih edilir. Ardından, apikal dokulardaki kök hücrelere sitotoksiteyi azaltmak için irrigasyon iğnesi kök ucundan yaklaşık 1 mm koronolda tutulacak şekilde salın veya EDTA (20 mL/kanal, 5 dakika) ile irrije edilir.
3. Kanal, kâğıt kon yardımıyla kurulur. Kalsiyum hidroksit veya düşük konsantrasyonda üçlü antibiyotik patı uygulanır. Üçlü antibiyotik patı kullanılıyorsa:
 - Pulpa odasının renklenme riskini en aza indirmek için bir dentin bonding ajanla kaplanması düşünülmelidir ve
 - 1:1:1 oranında siprofloksasin, metronidazol ve minosiklin karıştırılarak 1-5 mg/ml'lik bir konsantrasyon elde edilmelidir. Üçlü antibiyotik pat, diş renklenmesi ile ilişkilidir. Minosiklin içermeyen ikili antibiyotikli pat veya minosiklin yerine alternatif bir antibiyotik (örneğin, klindamisin; amoksisilin, sefaklor) kullanımı, kök kanal dezenfektanı olarak başka bir seçenektir. Klinisyenler, bu çalışmaların daha yüksek konsantrasyonlarda üçlü antibiyotikpatı/ikili antibiyotik patı kullanılarak yapıldığını bilmeli, ancak sınırlı çalışmalar nedeniyle daha yüksek bir konsantrasyon önerisi yapılamamaktadır.
4. Medikament kanal içerisine uygulanır. ÜAP kullanılıyorsa, kron renklenmesini azaltmak için mine sement bileşiminin altında kaldığından emin olunmalıdır.
5. Kavite 3-4 mm Cavit, IRM, cam iyonomer siman veya başka bir geçici materyal ile kapatılır. Hastaya 1-4 hafta sonraya randevu verilir.

İkinci Seans

1. İlk seans sonrası durum değerlendirilmelidir. Kalıcı enfeksiyon belirtileri/semptomları varsa, alternatif antimikrobiyal ile ek tedavi süresi düşünülmelidir.
2. Vazokonstriktörsüz %3 mepivakainli anestezi yapılır, rubber dam izolasyonu sağlanır.
3. 20 ml %17 EDTA ile bol, nazik irrigasyon yapılır.
4. Kağıt konlarla kurulanır.
5. Taşkın enstrümantasyon ile kanal sistemine kanama oluşturulur.

Önceden kavisli bir K eği ile apikal foramenden 2 mm ötede döndürülerek sementoenomel birleşime kadar tüm kanalın kanla doldurulması amacıyla indüklenir. Kan pıhtısı oluşturmaya bir alternatif, trombosit zengin plazma (PRP), trombosit zengin fibrin (PRF) veya otolog fibrin matrisinin (AFM) kullanılmasıdır.

6. 3-4 mm restoratif materyale izin verecek düzeyde kanama durdurulur.
7. Gerekirse kan pıhtısının üzerine CollaPlug™, Collacote™, CollaTape™ gibi rezorbe olabilen bir matriks uygulanabilir ve kaplama malzemesi olarak beyaz MTA kullanılır.
8. 3-4 mm'lik bir cam iyonomer tabakası kaplama materyalinin üzerine yerleştirilir ve 40 s boyunca ışınlanır. MTA renk değişikliği ile ilişkilendirildiği için estetik kaygısı olan dişlerde MTA'ya alternatifler (biyoseramik veya trikalsiyum silikat simanlar) düşünülmelidir.

Takip

Klinik ve radyografik muayenede

- Ağrı, yumuşak dokuda şişlik veya fistül bulunmaması
- Apikal radyolüseninin çözülmesi (genellikle tedaviden 6-12 ay sonra gözlenmektedir)

- Kök duvarlarının genişliğinin artması (bu genellikle kök uzunluğundaki belirgin artıştan önce gözlenmekte ve genellikle tedaviden 12-24 ay sonra ortaya çıkmaktadır).
- Kök uzunluğunun artması
- Pulpa canlılık testine pozitif yanıt değerlendirilir [42], [43].

2.2.2. Diğer Pulpal Tedaviler

2.2.2.1. Kök Kanal Tedavisi

Pulpa ve dentin kompleksinin korunması, mine dokusu tarafından sağlanır. Çürük ya da travma gibi dış faktörler, mine dokusunun sürekliliğini bozabilir. Eğer uygun tedavi uygulanmazsa, derin çürüklerdeki mikroorganizmalar dentin tübülleri üzerinden diş pulpasını etkileyebilir.[44].

Pulpa patolojileri; geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz pulpitis, ülseratif, hiperplastik pulpitis ve nekroz şeklinde sınıflandırılmaktadır [45].

Kök kanal tedavisinin ana amacı, enfeksiyona neden olan bakteri ve onların ürünleriyle enfekte olmuş pulpa dokusunu ortadan kaldırmaktır. Bu amaçla, kök kanalının kemomekanik yöntemle temizlenmesi, şekillendirilmesi ve ardından kanalın tam olarak doldurulması gereklidir. Tedavinin başarıya ulaşabilmesi için her aşamanın özenle gerçekleştirilmesi zorunludur [46].

Lokal anestezi uygulandıktan sonra, yüksek hızlı el aleti ile giriş kaviteleri oluşturulur. Giriş kavitesi hazırlanırken, tüm çürük ve kusurlu restorasyonlar uzaklaştırılmalıdır. Giriş kavitesi, kanallara doğrudan erişim sağlamalı ve tüm kanal ağzları net bir şekilde belirlenmelidir [46], [47].

Kanal ağzları tespit edildikten sonra, pulpa tirnerf yardımıyla çıkarılır. Çalışma uzunluğunu belirlemeden önce, giriş kavitesi pamuk peletlerle tamamen kurutulmalıdır. Çalışma uzunluğu belirlendikten sonra, bu uzunluğa uygun olarak kemomekanik şekillendirme yapılır. Kök kanallarının preparasyonu esnasında, köklere mekanik şekil verilirken, kanal içindeki nekrotik sert ve yumuşak dokular uzaklaştırılarak mekanik temizlik gerçekleştirilir [48].

Kök kanallarının temizlenmesi ve şekillendirilmesi sürecinde yalnızca mekanik enstrümantasyon yeterli değildir. Kanal eğelerinin erişemediği düzensiz alanları temizlemek amacıyla irrigasyon işlemi uygulanır. Bu süreç, kanal içerisindeki vital ve

nekrotik pulpa kalıntılarının uzaklaştırılmasına ve dezenfeksiyonun sağlanmasına da katkıda bulunur. Kemomekanik aşamanın ardından, kök kanal sistemi anatomik sınırlar içinde kök kanal dolgusu ile doldurulur. Kronun kalıcı restorasyonu tamamlandığında, endodontik tedavi prosedürleri de tamamlanmış olur [47], [49].

2.2.2.2 Apeksifikasyon

Apeksifikasyon tedavisinde, kök kanalındaki nekrotik pulpa dokusu çıkarıldıktan sonra kanal içine antimikrobiyal ajan yerleştirilerek, açık apeks bölgesinde doğal ya da yapay bir bariyer oluşumu hedeflenir. Apikal bariyerin sağlanmasının ardından, kök kanalı üç boyutlu olarak doldurulabilir [50]. Bu tür dişlerde, uzun süreli apeksifikasyon tekniği (Ca(OH)_2 ile) kullanılarak apikalde fizyolojik bir sert doku bariyerinin oluşumu desteklenebilir ya da tek seansta MTA ile apikal plug tekniği uygulanarak mekanik bir apikal bariyer oluşturulabilir [51].

Ca(OH)_2 ile Apeksifikasyon

Apikal kapanmanın sağlanmasında Ca(OH)_2 'nin kullanımına ilk kez Granath tarafından dikkat çekilmiştir [52]. Frank, 1966 yılında genç daimi dişlerin tedavisi için geleneksel apeksifikasyon yöntemini tanımlamıştır [53]. Apeksifikasyon tedavisinde en sık kullanılan materyallerden biri olarak Ca(OH)_2 öne çıkmaktadır [54]. Geleneksel apeksifikasyon tekniğinde, Ca(OH)_2 yalnızca enfeksiyonun kontrolünü sağlamakla kalmaz, aynı zamanda kök gelişiminin devamını da destekler [55], [56]. Apikal bariyerin oluşabilmesi için enfeksiyonun kontrolü kritik öneme sahiptir ve Ca(OH)_2 , hidroksil iyonları sayesinde bu süreçte etkili bir rol oynar [57]. Ayrıca, yüksek pH seviyesi ile sert doku oluşumunu teşvik ederek, apeksin sementoid ve osteosementoid dokularla kapanmasını sağlar [58].

Ca(OH)_2 ile gerçekleştirilen apeksifikasyon tedavisinde apikal bariyerin oluşması genellikle 20 ay gibi uzun bir süre alabilir; yaş, periapikal radyolusensi ve semptomların varlığı gibi faktörler bu süreyi etkileyebilir [59].

Uzun süreli Ca(OH)_2 tedavisi diş yapısının zayıflamasına, kırılabilirliğin artmasına ve tekrarlayan seanslar nedeniyle geçici restorasyonlarda sızıntı riskine yol açabilir. Ca(OH)_2 'nin apikal bariyeri yalnızca bir noktada oluşturması, dentin duvarlarından tamamen uzaklaştırılamaması ve kalan Ca(OH)_2 'nin çinko oksit içerikli patlarla

etkileşime girerek zayıf bir kohezyona neden olması gibi dezavantajları bulunmaktadır [60], [61], [62], [63]. Bu nedenlerden ötürü, araştırmacılar alternatif materyallere yönelmeye başlamışlardır [64].

MTA ile Apeksifikasyon

MTA, ilk olarak 1993 yılında tanıtılmış ve 1998'de FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır; 1999 yılında Torabinejad ve Chivian, MTA'nın yapay bir apikal bariyer oluşturmak için kullanılabileceğini belirtmiştir [65]. MTA ile apeksifikasyon tedavisinde, immatür daimi dişlerde enfeksiyon kontrolü sağlandıktan sonra, biyouyumlu bir materyal ile apikal bölgenin kapatılmasıyla endodontik tedavi tamamlanır [66]. MTA en sık tercih edilen materyal olmasına rağmen, apikal bariyer oluşturmak için çeşitli materyaller de kullanılmaktadır [60], [67], [68]. MTA'nın tercih edilmesinin nedenleri arasında sızdırmazlık, boyutsal stabilite, biyouyumluluk, etkili tıkama özellikleri, bakteriyostatik etkinlik, radyopaklık ve obturasyondaki güçlü klinik performansı gibi özellikler bulunmaktadır [69], [70].

MTA'nın iyi obturasyon özellikleri sayesinde dişlerin hem horizontal hem de vertikal kırıklara karşı dirençlerini arttığı çeşitli araştırmalarda rapor edilmiştir [71], [72]. Ayrıca MTA'nın sementogenezi teşvik ettiği de bildirilmiştir [73]. MTA, fiziksel bir bariyer oluşturmakla kalmaz, aynı zamanda kemik ve periodonsiyum oluşumunu da destekler [74], [75].

Ancak, kök gelişiminin tamamlanamaması ve apikal kapanmanın sağlanamaması, bu tekniğin en önemli dezavantajları arasında yer almaktadır [61], [76]. Kök gelişimi tamamlanmamış immatür dişler, zayıf yapıları nedeniyle daha kolay kırılabilir [77], [78].

2.2.2.3. Lezyon Sterilizasyonu ve Doku Onarımı

Süt dişlerinin, fizyolojik olarak düşmesine kadar bütünlüğünün korunması, modern diş hekimliğinin temel hedeflerinden biridir. Süt dişlerinin erken kaybı, ektopik sürme, komşu dişlerin kayması, sürme sırasının bozulması ve devam eden kalıcı dişlerde yer kaybı gibi çeşitli sorunlara yol açabilir. Bu nedenle, diş arkında süt dişlenmenin korunması, dişlerin işlevini sürdürebilmesi ve hastalıklardan korunabilmesi açısından önemlidir [79], [80].

Süt dişlenme döneminde en sık karşılaşılan sorunlardan biri pulpa enfeksiyonlarıdır. AAPD'nin tedavi kılavuzlarına göre, konvansiyonel yöntemlerle enfeksiyon süreci kontrol altına alınamadığında, restorasyon için yetersiz diş yapısı kaldığında, kemik desteği geri alınamadığında veya aşırı patolojik kök rezorpsiyonu görüldüğünde dişin çekimi düşünülmelidir. Lezyon Sterilizasyonu ve Doku Onarımı (LSDO) tedavisi ya da Aletsiz Endodontik Tedavi, harici veya dahili kök rezorpsiyonu gösteren ve bu nedenle geleneksel endodontik tedaviye uygun olmayan dişler için tercih edilmektedir [81].

Süt dişlerine yapılan kanal tedavisinin başarı oranı, daimi dişlere kıyasla daha düşük olabilir. Bunun nedeni, süt dişi kök kanallarının karmaşık yapısının yeterli sterilizasyonu zorlaştırması, fizyolojik rezorpsiyon nedeniyle hermetik tıkanmanın sağlanamaması ve çocukların uzun süreli kanal tedavilerine kooperatif olamaması gibi etmenlerdir. Bu nedenle, kanal tedavisinin yerine lezyon sterilizasyonu ve doku onarımı yöntemleri önem kazanmaktadır [82].

AAPD, belirgin kök rezorpsiyonu olmayan devital süt dişlerinin tedavisinde LSDO yerine pulpektomi önermektedir. Ancak, kök rezorpsiyonu olan ve çekilmesi planlanan dişlerin 12 aya kadar ağızda tutulması gereken durumlarda LSDO'nun tercih edilmesi gerektiğini belirtmektedir.

Lezyon Sterilizasyonu ve doku onarımı (LSDO)

İşlem öncesinde hastanın şikayetleri (apse, sinüs yolu, dişeti şişliği, pürülan eksuda, ağrı) kaydedilir. Tedavi öncesinde radyografik görüntü elde edilir. Giriş kavitesinin açılması sırasında, çürük doku, eski restorasyonlar ve nekrotik pulpa temizlenir. Giriş kavitesinin duvarlarına %35'lik ortofosforik asit çözeltisi uygulanır. Smear tabakasını kaldırarak antibiyotiklerin dentin tübüllerine daha derin bir şekilde etki etmesini sağlamak amacıyla EDTA kullanımı da tercih edilebilir [83]. Antibiyotik patı uygulanmadan önce kök kanal girişlerinde 1 mm çapında ve 2 mm derinliğinde medikasyon kavitesi olarak adlandırılan oluklar oluşturulur. Prabhakar ve arkadaşlarının 60 enfekte süt azı dişi üzerinde gerçekleştirdiği in vivo çalışmada, medikasyon kavitesi hazırlanmadan antibiyotik patı uygulanan dişlerde de klinik ve radyografik başarı sağlandığı, ancak biyomekanik olarak hazırlanmış dişlerde başarı oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Kanama mevcutsa, %10'luk NaOCl ve pamuk peletler kullanılarak

kontrol altına alınmaya çalışılır. Kavite kurutulduktan sonra antibiyotik patı medikasyon kavitelerine yerleştirilir. Medikasyon kavitelerinin hazırlanamayacağı durumlarda, örneğin ileri fizyolojik kök rezorpsiyonu gibi, antibiyotik patı pulpa odası tabanına uygulanır. Antibiyotik patının üstü cam iyonomer siman ile kapatılır ve dişin restorasyonu rezin esaslı bir materyal veya paslanmaz çelik kron ile tamamlanır. İşlem tamamlandığında periapikal radyografi çekilir ve hasta 1, 3 ve 6. aylarda kontrole çağırılır [84].

Avantajları

- 1) Genellikle tek seansta uygulanabilen ve işlem süresi kısa olan bir tedavidir.
- 2) Uygulaması kolay, acısız, zaman kazandıran bir teknik olması sebebi ile hasta üzerinde oluşan fiziksel ve psikolojik yük daha azdır.
- 3) Kemik rejenerasyonu sağlanabilir.
- 4) Komplikasyon riski azdır.
- 5) Kullanılan materyaller periapikal dokulara zarar vermez.
- 6) Herhangi bir devitalizan ajan kullanılması gerekmez.
- 7) Kullanılan antibiyotikler E.faecalis üzerinde etkilidir.
- 8) Ekonomiktir. [83], [85], [86], [87], [88]

LSDO uygulamasında enstrümantasyon ve obturasyon gerekmemesi nedeniyle, ege yutulması, kanalda alet kırılması veya apikalden madde taşması gibi komplikasyon riski bulunmamaktadır. Kullanılan materyaller dokulara zarar vermemekle birlikte, kemik rejenerasyonunu destekleyebilir [87]. Bu işlem, klinik ortamda tek bir seansta daimi restorasyon ile tamamlanabilir. Ayrıca, bu yöntem basit, ağrısız, zaman kazandırıcı ve hastaları fiziksel ve psikolojik açıdan daha az yoran bir seçenek sunar. Özellikle pediatrik hastaların yönetiminde bu avantajlar oldukça değerlidir [86], [88].

Dezavantajları

- 1) Kullanılan antibiyotik patı, alerjik reaksiyonlar gibi yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olabilir.
- 2) Antibiyotik patı dişlerde renklenmelere yol açabilir.

- 3) Antibiyotik patının radyolusent olması, dolum kalitesinin radyografik olarak kontrol edilmesini zorlaştırabilir.
- 4) İnatçı enfeksiyonlar, antibiyotiklere karşı dirençli bakteri suşlarının gelişmesine neden olabilir.
- 5) Enfeksiyon odağının iyileşmemesi, süreçlerin kronikleşip kist oluşumuna yol açmasına ve bu durumun daimi dişi etkileyebilmesine neden olabilir.
- 6) Tedavi sonrası antibiyotik patının rezorbe olması, "boş tüp etkisi" adı verilen duruma yol açabilir [83], [85], [86], [87], [88].

Lezyon Sterilizasyonu ve Doku Onarımında Kullanılan Antibiyotik Patları

Kullanılan bu patların bazı dezavantajlarından dolayı çeşitli antibiyotik kombinasyonları denenmiştir. Kullanılan antibiyotik patları dentin tübüllerine daha iyi nüfus etsin diye taşıyıcılarla beraber kullanılır. Bu taşıyıcılar propilen glikol ve makragol gibi organik çözücülerdir. Bazı klinisyenler kalsin likitini de taşıyıcı olarak kullanmaktadır.

Alyas ve arkadaşları, taşıyıcı olarak metil selüloz eklenmiş farklı konsantrasyonlarda üçlü antibiyotik patlarının (ÜAP) antibakteriyel etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada, steril dentin bloklarına *E. faecalis* ekilmiş ve ardından çeşitli konsantrasyonlarda metil selüloz bazlı ÜAP uygulanmıştır. Biyofilm oluşum testlerinin sonuçlarına göre, tüm konsantrasyonların antibakteriyel etki gösterdiği, özellikle 10 mg/ml ve üzeri konsantrasyonlarda biyofilmin tamamen ortadan kalktığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, metil selüloz bazlı 10 mg/ml konsantrasyonundaki ÜAP'nin uzun süreli antibakteriyel etkisi olduğu belirtilmiş ve bu kombinasyonun endodontik rejenerasyon işlemlerinde kullanılabileceği önerilmiştir. Ayrıca, taşıyıcı olarak metil selülozun yanı sıra steril salin, damıtılmış su ve gliserin gibi farklı maddeler de kullanılabilmektedir [89].

LSDO ilk kez Arjantin'de Solter ve Cappiello, Japonya'da ise Sato ve Hoshino tarafından tanıtılmıştır. 1959 yılında Solter ve Cappiello, CTZ macununu geri dönüşü olmayan pulpitis veya pulpa nekrozu olan süt azı dişlerinin geleneksel endodontik tedavisine alternatif bir yöntem olarak tanımlamıştır. CTZ macunu, kloramfenikol (500 mg), tetrasiklin (500 mg), çinko oksit (1 g) ve bir damla öjenolden oluşmaktadır. CTZ macununun avantajları arasında güçlü antimikrobiyal etkisi, mükemmel klinik ve

radıyografik sonuçlar göstermesi ve basit uygulama prosedürü yer almaktadır. Ayrıca tedavi tek seansta tamamlanabilir ve doku hassasiyeti yaratmaz. Bununla birlikte, CTZ macununun bazı önemli dezavantajları da mevcuttur; bunlar arasında kronun potansiyel renklenmesi ve daimi küçük azı dişlerinde mine hipoplazisi riski bulunmaktadır. Bu olumsuz etkiler, macunun içeriğindeki tetrasiklinin kalsifiye dokulara olan yüksek afinitesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, bu tedavide çeşitli antibiyotik kombinasyonları da denenmiştir [90].

Pulpal ve periapikal lezyonlardaki patojen mikroorganizmaları tamamen yok etmek amacıyla üçlü antibiyotik karışımı (metronidazol, siprofloksasin ve minosiklin) kullanılır. Kanal tedavisinin zor olduğu vakalarda, pulpa odasının temizlenmesinin ardından minimal bir enstrümantasyonla veya enstrümantasyon yapılmadan bu antibiyotik karışımı, kanal ağızlarından 1-2 mm derinliğe ve pulpa odasının tabanına yerleştirilir. Ardından dişe kalıcı bir restorasyon uygulanır. Tedaviye başlamadan önce dişin ağızda kalma süresi dikkatle değerlendirilmeli ve enfektif endokardit hastalarında enfeksiyon riski nedeniyle LSDO yöntemi uygulanmamalıdır. Tedavinin başarısı, diş kronunun tam ve doğru bir şekilde restore edilmesiyle doğrudan ilişkilidir. Eğer dişte aşırı madde kaybı ve kron tahribatı nedeniyle uygun restorasyon yapılamazsa, LSDO uygulanmamalıdır [84].

LSDO Antibiyotik Seçimi ve Hazırlanması

LSDO uygulamasında en kritik adımlardan biri de antibiyotik patının hazırlanmasıdır. En sık kullanılan kombinasyon, Takushige ve ekibinin önerdiği metronidazol, siprofloksasin ve minosiklin karışımını propilen glikol ve makrogol ile birleştirerek oluşturulan LSDO-3Mix formülüdür. Ticari olarak temin edilen antibiyotikler ayrı kaplara alınır ve tabletlerin enterik kaplaması bir bıçak yardımıyla kazınarak çıkarılır. Her bir bileşen farklı havanlarda toz haline getirilir, bu sırada tozun nemlenmemesine dikkat edilir. Hazırlanan antibiyotik tozları ışık ve neme karşı korunması için ayrı porselen kaplarda, karanlık bir ortamda saklanmalıdır. Pat hazırlanırken, her bir bileşen temiz bir karıştırma camına alınır ve çözücü eklenir. En yüksek etkinin, yedi kısım toz ile bir kısım çözücünün karıştırılmasıyla elde edildiği belirtilmektedir. Bu nedenle, elde edilen toz yedi eşit parçaya bölünür ve her biri çözücü ile ayrı ayrı karıştırılarak homojen bir kıvam sağlanır. Karışımın kremi bir macun

kıvamında olması gerekir. Eğer karışım çok sıvı ya da çok katı olursa, uygun kıvama ulaşmak için daha fazla toz veya çözücü eklenir. Hazırlanan macun işlem için kullanılabileceği gibi, hava geçirmeyen kaplarda saklanabilir. Ancak karışım saklandığında yarı saydam hale gelirse kullanılması önerilmez [84].

Sato ve ekibi, yaptıkları çalışmalarla antibiyotik ve antiseptik kullanımı sayesinde bakteri yükünü %20-40 oranında azaltabildiklerini göstermişlerdir. Grossmann ise, 1951 yılında penisilin, basitrasin, streptomisin ve sodyum kaprilat içeren bir pat formülünü tanıtmıştır. Süt dişlerindeki pulpa inflamasyonunu kontrol altına almak için kullanılan Ledermix patı, triamkinolon ve dimetilklortetrasiklin içerir. Hoshino ve ekibi, 1990 yılında 500 mg metronidazol, 200 mg siprofloksasin ve 100 mg minosiklini eşit oranlarda (1:1:1) karıştırarak kullanmışlardır. 1998'de ise Takushige ve ekibi, aynı antibiyotikleri 1:1:3 oranında kullanmışlardır. Her iki grup da bu toz karışımını propilen glikol ve makrogol ile birleştirerek uygun kıvama getirmiştir. Metronidazol, siprofloksasin, minosiklin ve propilen glikol taşıyıcısından oluşan bu karışım 3Mix olarak adlandırılmaktadır. Siprofloksasin, bakterisidal etkisi olan sentetik bir florokinolondur. Metronidazol ise anaerobik bakterilere ve protozalara karşı geniş bir etki spektrumuna sahip nitroimidazol grubundan bir bileşiktir. Minosiklin ise tetrasiklin türevi sentetik bir antibiyotik olup benzer bir etki spektrumuna sahiptir [91].

LSDO-3Mix, etkinliği kanıtlanmış bir medikament olmasına rağmen içeriğindeki minosiklinin dişlerde renklenmeye yol açması nedeniyle, minosiklin kadar etkili olabilecek alternatif bir medikament arayışına girilmiştir. Bu kapsamda amoksisilin, fosfomisin, sefaklor, sefodaksin ve klindamisin gibi antibiyotiklerle çeşitli klinik çalışmalar yapılmıştır [92].

2.3. Çocuklarda Kullanılan Biyoaktif Materyaller

2.3.1. MTA

Diş hekimliğinde kullanılan ilk kalsiyum silikat malzemesi Mineral Trioksit Agregatı (MTA) olarak tanıtılmıştır. Bu malzeme, radyo-opaklaştırıcı olarak kullanılan 4:1 oranında bizmut oksit içeren Portland çimentosundan oluşur [93]. Portland çimentosu, aşağıdaki ham maddelerle üretilir:

- Kireç (CaO);
- Silika (SiO₂);
- Alümina (Al₂O₃);
- Demir oksit (Fe₂O₃).

Bu maddeler belirli oranlarda karıştırılır, harmanlanır, döner fırında 1400–1600°C'ye kadar ısıtılır ve ardından soğutularak toz haline getirilir. X-ışını kırınım analizleri, iki farklı MTA tipinin (ProRoot MTA gri ve ProRoot MTA beyaz, Dentsply Tulsa Dental Specialities, Johnson City, TN, ABD) ana bileşenlerinin trikalsiyum silikat (C₃S-alite), dikalsiyum silikat (C₂S-belite), trikalsiyum alüminat (C₃A-celite) ve bizmut oksitli tetrakalsiyum aluminoferrit (C₄AF-felite) olduğunu ortaya koymuştur [94]. ProRoot MTA'nın ilk formülasyonu, gri renkli bir toz olan ve aluminoferrit fazında demir içeren bir bileşendir [95].

Beyaz MTA, demir içeren tetrakalsiyum aluminoferrit bileşenleri içermemekte olup, gri renkteki MTA'ya göre daha küçük partiküller içermektedir. Her iki formülasyon da %75 Portland çimentosu, %20 bizmut oksit ve %5 alçı taşından oluşur [96].

MTA tozu su ile karıştırıldığında önce kalsiyum hidroksit ve kalsiyum silikat hidrat oluşur ve poröz, az kristalize olmuş bir jel meydana gelir [97]. Kalsiyum silikat miktarı, kalsiyum çökmesi ile azalır ve çöken kalsiyum, MTA'nın yüksek pH'ını sağlayan kalsiyum hidroksiti üretir [98]. MTA'nın su ile temas ettiğinde pH değeri 10,2'den sertleşme sonrasında 12,5'e yükselir, bu da kalsiyum hidroksitin pH'ına oldukça yakın bir değerdir. Bu pH değeri, materyalin antibakteriyel özelliklerini açıklar [99].

MTA'nın nemli bir ortamda bulunması, zaman içinde güçlenmesine neden olur [100]. Çalışmalar, yeterli nem mevcut olduğunda MTA'nın bükülme, gerilme ve sıkışma dayanıklılığı gibi fiziksel özelliklerinin optimize olduğunu göstermektedir [101]. Ayrıca, toz ve sıvı oranı MTA'nın çözünürlüğünü etkiler; yüksek sıvı oranı çözünürlük ve pöroziteyi artırır [102]. Bazı araştırmalar, su oranının artmasının MTA'dan kalsiyum salınımını artıracığını öne sürmektedir [103]. Ayrıca, MTA'ya suda çözünmeyen bizmut oksit eklenmesi, MTA'nın düşük çözünürlük özelliklerine neden olur [101].

MTA'nın nemli ortamlarda da sertleşme yeteneği, pulpa odasını daha iyi kapatma sağlar ve Ca(OH)₂ ile kıyaslandığında daha üstün sonuçlar sunar. Bu özellik, özellikle

pulpa odası gibi tamamen kuru bir ortamın sağlanmasının zor olduğu durumlarda MTA'nın kullanımını avantajlı kılar [104].

Yapılan in vitro ve in vivo araştırmalar, MTA'nın vital pulpa tedavilerinde biyouyumluluğunu ve biyoindüktif özelliklerini vurgulamaktadır. Laurent ve arkadaşları, MTA ekstraktı eklenen hücre kültürlerinde pulpa hücrelerinden nestin salınımı ve mineralize matriks oluşumunu gözlemlemişlerdir [105]. Ayrıca, Andelin ve ekibi hayvan dişleri üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, MTA uygulanan dişlerde dentin sialoprotein varlığını doğrulamışlardır. Bu bulgular, MTA'nın sert doku oluşumunu teşvik eden ve biyolojik olarak aktif bir materyal olduğunu göstermektedir [106].

MTA'nın alkali özelliği sayesinde pulpa hücrelerindeki dentinojenik potansiyeli ortaya çıkartabildiği düşünülmektedir. MTA'nın osteokalsin ve alkalen fosfatazın; ayrıca interlökin 6 (IL-6) ve interlökin 8 (IL-8) yapımında düzenleyici etkisi olduğu ve aynı zamanda alkali ortam oluşturma nedeniyle çevredeki dentin dokusundan büyüme faktörlerinin salınımını uyarması, dentinojenik aktivitesiyle ilişkili bulunmuştur [107].

Farklı araştırmacılar, maddenin sertleşmesi için gereken süre konusunda farklı sonuçlar bildirmişlerdir. Torabinejad ve ark. [99] gri MTA için sertleşme süresinin 2 saat 45 dakika olduğunu, Islam ve ark. [108] ise 2 saat 55 dakika olduğunu bildirmişlerdir.

MTA, çocuk diş hekimliğinde şu uygulama alanlarında kullanılmaktadır: devital olmuş genç daimi dişlerin apeksifikasyon, apeksogenez ve rejenerasyon tedavisi amacıyla, vital genç daimi dişlerde cvek amputasyonu ve direkt pulpa kuafajında, iatrojenik kök ve furka perforasyonları ile rezorptif kök reaksiyonlarında tamir materyali olarak, lüksasyon yaralanması görmüş devital daimi dişlerde kanal dolgu materyali olarak, kök fraktürlerinde kanal dolgu materyali olarak, süt dişlerinde pulpa kuafajı, tam ve parsiyel amputasyon, kanal dolgu materyali olarak kullanılmaktadır [109].

2.3.2. Biodentin

MTA'nın bazı dezavantajlarını aşmak amacıyla farklı kalsiyum silikat bazlı simanlar geliştirilmiştir. Kalsiyum silikat esaslı simanlar, MTA ile benzer uygulama alanlarına sahip olması ve benzer özellikler göstermesi nedeniyle son yıllarda önem kazanmaya başlamıştır. Çok sayıda kalsiyum silikat türü geliştirilmesine rağmen, bu materyallerden biri özellikle çeşitli araştırmaların odak noktası olmuştur. Bu

materyallerden biri de 2009'da ticari olarak piyasaya sürülen ve dentin alternatifi olarak tasarlanan Biodentin'dir [110].

Biodentin toz ve likitten oluşur. Toz kısmının ana bileşenleri, MTA ve Portland çimentosunda olduğu gibi dikalsiyum ve trikalsiyum silikattır; ayrıca kalsiyum karbonat da içermektedir [111]. Zirkonyum oksit ise kontrast madde olarak kullanılarak radyoopasite sağlar. Likit kısmı ise, kalsiyum klorid ve suyu azaltmak için polimerler içerir. Bu ürünün hızlı sertleşme özelliği ise partikül boyutunun büyütülmesi, sıvıya kalsiyum klorid eklenmesi ve likit miktarının azaltılması ile elde edilmiştir [110]. Materyal kalsiyum salınımı ile tanımlanırken, trikalsiyum silikat bazlı materyaller sentetik doku sıvıları ile temas ettiğinde hidroksiapatit oluşumuna katkıda bulunabilir [112].

MTA ve Biodentin'de ortak olarak bulunan trikalsiyum silikatın, X-ışını difraktometresi ile MTA'da monoklinik formda, Biodentin'de ise triklinik formda bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, MTA ve Biodentin'deki trikalsiyum silikat partiküllerinin boyutları arasında farklılık bulunmaktadır. Biodentin'nin spesifik yüzey alanı ($2,811 \text{ m}^2/\text{g}$), MTA'ya göre ($1,0335 \text{ m}^2/\text{g}$) daha büyüktür [113].

Biodentin, MTA'dan farklı bileşenlere sahip ince bir hidrofilik tozun, karıştırma cihazında karıştırılmasıyla hazırlanan bir kapsül yapısındadır [114]. Biodentin'nin sertleşme süresi 9-12 dakika arasında olup, bu süre diğer kalsiyum silikat simanlara göre önemli bir avantaj sağlamaktadır [110].

Tablo 2. Biodentin içeriği

TOZ İÇERİĞİ	ÖZELLİK
Trikalsiyum silikat	Esas materyal
Dikalsiyum silikat	İkincil materyal
Kalsiyum karbonat ve oksit	Doldurucu
Zirkonyum oksit	Radyoopak materyal
Demir oksit	Renk pigmenti
LİKİT İÇERİĞİ	ÖZELLİK
Kalsiyum klorit	Hızlandırıcı
Suda çözünebilen polimer	Su azaltıcı materyal

Su ile sertleşen simanların temel fiziksel özelliklerinden biri de basınç dayanımıdır. Vital pulpa tedavilerinde tercih edilen Biodentin gibi materyallerin, çiğneme kuvvetlerine karşı yeterli dayanıklılığa sahip olması gerekmektedir [115]. Biodentin'in bükülme dayanımı, elastiklik modülü ve Vickers sertlik gibi fiziksel özellikleri dentine benzer olsada, bu özelliklerin değerleri MTA'dan daha yüksek bulunmuştur [116].

Biodentin rejeneratif endodonti, dentin içeren restorasyonlar, pulpa kuafajı, apeksifikasyon, apeksogenezis tedavileri, eksternal ve internal rezorpsiyonlar ve endodontik cerrahide retrograd dolgu materyali olarak kullanılmaktadır [110].

Pulpa kaplaması, perforasyon, retrograd dolgu veya furkasyon tamiri gibi işlemlerde kullanılan bir dental materyalin, dental pulpa ve çevre dokular üzerindeki toksik etkilerini önlemek amacıyla biyouyumluluğu ve sitotoksitesisi dikkate alınmalıdır [117]. Bu işlemler sırasında Biodentin doğrudan bağ dokusu ile temas ettiğinden, pulpa dokusu ve periradiküler hücrelerin canlılığı üzerinde etkili olabilir. Bu durum, nekroz sonucu hücre ölümü veya apoptoza yol açabilir [118]. Biodentin, cam iyonomer siman ve beyaz MTA'nın insan gingival fibroblast hücreleri üzerindeki etkilerini karşılaştıran bir çalışmada, her iki materyalin de sitotoksitesisinin benzer olduğu ve cam iyonomer simana kıyasla daha düşük sitotoksitesite seviyelerine sahip oldukları saptanmıştır [118].

2.3.3. Neoliner LC

MTA ile modifiye edilmiş ışıkla sertleşen akışkan bir materyaldir. Nusmile tarafından üretilmiş olup rezin içerikli bir üründür. Neme toleransı vardır.

1 mm'den ince uygulanıp 20 saniye ışıkla sertleştirilir. İndirekt pulpa kaplaması ve kavite liner olarak kullanım alanına sahiptir [27].

2.3.4. Bio C Repair

Kullanıma hazır, şırıngayla uygulanan biyoaktif bir üründür. İçeriğinde; kalsiyum silikat, kalsiyum alüminat, kalsiyum oksit, zirkonyum oksit, demir oksit, silikon dioksit ve dağıtıcı madde bulunur. Bazik yapıdadır ve PH'sı 12 civarındadır. Çalışma süresi ortamın nemine bağlı olarak 120 dk. veya daha kısadır.

2.3.5. Theracal PT

Açığa çıkmış dentini tedavi etmek için uygulanan biyouyumlu, dual-cure, rezin ile modifiye bir kalsiyum silikattır. Tiksotropik özelliği sayesinde kaviteye uygulanımı kolaydır.

Endikasyonlar;

- -pulpotomi (birincil endikasyon)
- -direkt/indirekt pulpa kuafajı
- -pulpa ekspozu olan diğer durumlar

Çalışma süresi 35°C de minimum 45 saniyedir. Sertleşme süresi 35°C de maksimum 5 dakikadır. Uygulandıktan sonra 10 saniye süreyle ışıkla polimerize edilir [27].

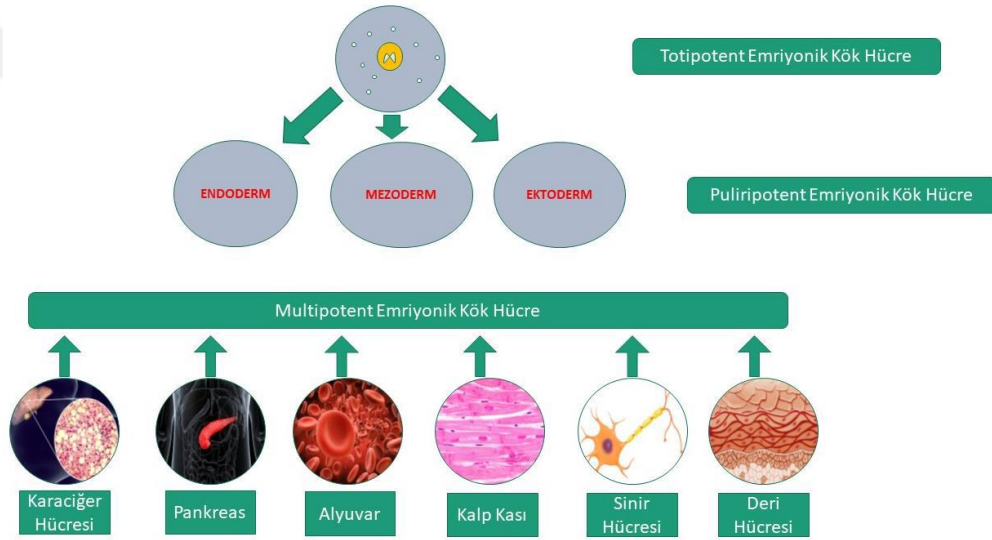
2.4. Dental Pulpa Kök Hücresi

Hasarlı bir organın fonksiyonlarını düzeltmek amacıyla hasarlı dokunun yerine yenisinin koyulması en iyi seçenektir. Buradan yola çıkılarak çeşitli kaynaklardan elde edilebilen, vücudun çeşitli doku ve hücrelerine farklılaşabilen, hasarlı bölgeyi onararak birçok tedavi yöntemine olanak sağlayabilecek kök hücreler rejeneratif tedavilerin temelini oluşturur [119].

Kök hücreler bölünebilme, kendini yenileyebilme ve farklılaşmış hücrelere kaynaklık etme özelliklerine sahip farklılaşmamış hücrelerdir. Kök hücreler temel olarak embriyonal (fetal) ve somatik (erişkin) kök hücreler olarak sınıflandırılırlar [120], [121].

Embriyodan köken alan embriyonik kök hücreler, tüm dokuları oluşturabilme yeteneğine sahiptirler [122]. Erişkin kök hücreleri bir organ veya dokuda bulunan farklılaşmış hücrelerin arasındaki farklılaşmamış hücre gruplarıdır. Bu hücreler, çevresindeki doku veya organın özelleşmiş hücre tipine farklılaşabilme ve kendini rejenere etme kabiliyetine sahiptir [123]. Erişkin kök hücreleri kemik iliği [124], amniyotik sıvı [125], göbek kordon kanı [126], nazal mukoza [127], santral sinir sistemi [128], periferik kan [129], plasenta membranı [129], kalp [130], karaciğer [131], akciğer [132], deri epidermisi [133], dental pulpa [134] gibi çeşitli dokulardan elde edilebilmektedir.

Kök hücreler totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere plastisite özellikleri bakımından üç alt grupta sınıflandırılmaktadırlar (Şekil 2). Totipotent hücreler, tüm hücelere dönüşebilme kapasitesine sahip sınırsız farklılaşma potansiyeli bulunan hücrelerdir. Fertilize yumurta hücresi embriyonun gelişim sürecinde organizmayı oluşturan totipotent özellikteki tek hücre tipidir [135]. Pluriopotent kök hücreler endodermal (sindirim sistemi hücreleri, hepatositler, pankreatik beta hücreleri vb.), mezodermal (kan, kas, kıkırdak, kemik vb.) ve ektodermal (deri, saç, nöron vb.) kökenli tüm hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneğini bünyesinde taşıyan embriyonik germ hücreleridir. Yetişkin bireylerin farklılaşmış dokularında bulunan multipotent kök hücreler ise farklılaşmamış hücrelerdir [136].



Şekil 2. Kök hücre sınıflaması

Kök hücrelerin, içerisinde bulundukları dokunun sahip olduğu hücrelerin dışındaki diğer tip hücelere dönüşebileceği de bildirilmiştir. Günümüzde mezenkimal kök hücreler kök hücre kaynağı olarak önemli bir yere sahiptir. Oral bölgedeki mezenkimal kök hücre kaynaklarına örnek olarak dental folikül, eksfoliye süt dişi, erişkin dental pulpası, periodontal ligament ve apikal papilla verilebilir [137].

Diş pulpası, son yıllarda çeşitli kök hücre araştırmalarında kullanılan önemli bir kaynak olarak öne çıkmaktadır. Diş pulpasından kök hücre elde etmek oldukça kolaydır ve bu süreç etik sorunlar barındırmaz. Ayrıca, elde edilen kök hücrelerin yüksek etkinlik göstermesi ve yüksek farklılaşma potansiyeline sahip olması, biyomateryaller ile uyumlu bir şekilde uygulanmalarına olanak tanımaktadır. Bu hücreler, dokuların yeniden

yapılandırılması için etkili bir şekilde kullanılabilir. Uzun yaşam sürelerine sahip olmaları ve güvenli bir şekilde dondurularak saklanabilmeleri (kriyoprezervasyon), bu hücreleri tedavi amaçlı uygulamalarda değerli kılmaktadır [138].

İmmatür özellikteki multipotent hücrelere sahip süt dişi pulpa kök hücresinin çoğalma kapasitesi ve hücre popülasyonu yetişkin pulpasına kıyasla daha fazladır. Ancak yetişkin pulpa kök hücreleri gibi pulpa dentin kompleksi oluşumunu sağlayamamaktadır [139].

2.5. Hücre Biyouyumluluğunun İncelenmesi

Biyouyumluluk; bir materyalin canlı dokular ile temas halinde iken lokal veya sistemik toksisite, alerji, mutajenik ve karsinojenik etki oluşturmeyen inert özelliklere sahip olması ve uygulandığı bölgede uygun biyolojik cevap oluşturabilmesi durumudur [140], [141]. Biyouyumlu olmayan materyallere karşı oluşan olumsuz doku reaksiyonları ‘toksisite’ olarak değerlendirilmektedir.

Diş hekimliğinde kullanılan materyallerin biyouyumluluğu şu kriterler göz önünde bulundurularak değerlendirilebilir [142];

1. Pulpaya ve yumuşak dokulara zararlı olmamalıdır.
2. Materyalden herhangi bir ürün salınarak dolaşım sistemine geçmemeli ve difüzyon yolu ile emilerek sistemik toksik cevaba yol açmamalıdır.
3. Alerjik reaksiyon potansiyeline sahip bir içeriği olmamalıdır.
4. Karsinojenik etkisi bulunmamalıdır.

Dental materyallerin biyouyumluluk değerlendirmelerinde üç basamak tanımlanmıştır. Bunlar:

1. Başlangıç testleri (*in vitro* testler)
 - Sitotoksisite
 - Mutajenite-Genotoksisite
 - Östrojenite

2. İkincil testler (hayvan testleri)

- Sensitizasyon
- İmplantasyon
- Mukozal irritasyon

3. Kullanım testleri

- Pulpa ve dentin testleri
- Pulpotomi testleri
- Endodontik kullanım testleri [141], [143], [144].

2.5.1. Hücre Kültürü

Hücre kültürü, canlı dokulardan alınan doku parçalarının proteolitik enzimler kullanılarak hücrelerine ayrılması ve laboratuvar ortamında uygun besi yerlerinde çoğalmalarının sağlanmasına dayanmaktadır. Besleyici sıvılar; plazma ve serum amino asitleri, hayvan embriyo ekstraktları, mineraller, vitaminler, antibiyotikler ve şeker tuzları içermektedir. Bu üreme sonucunda oluşan yapı, hücre kültürü olarak adlandırılır. Hücre kültürü çalışmalarında primer, diploid ve sürekli hücre kültürü olmak üzere üç tür hücre kültürü kullanılmaktadır [145].

Primer hücre kültürleri, doku ve organlardan alınan hücrelerin 24 saatten fazla kültür edilmesiyle elde edilir. Bu hücreler çoğaldıktan sonra diğer kültürlerle aktarılabilir ve büyütülebilir. Bu yöntemle elde edilen ilk alt kültürler, diploid hücre kültürleri olarak adlandırılır. Bir dizi kültür işlemi sonrasında hücre hatları oluşturulabilir. Sürekli hücre hatları ise, süresiz çoğalabilme özelliği kazanmış primer hücrelerdir ve daha stabil bir dış görünüme sahiptirler. Ancak, oluşan bu transformasyon nedeniyle in vivo özelliklerini tamamen koruyamazlar. Sürekli hücre hatları, kolayca çoğaltılabilir [146].

Dental materyallerin sitotoksikite testleri için hücre kültür testleri, agar difüzyon testi, filtre difüzyon testi, dentin bariyer testi ve hemoliz testi kullanılır [147], [148], [149].

a. Direkt hücre kültürü metodu

Bu yöntem, test edilen materyalin ya da bileşenlerin kültür hücrelerine doğrudan ve genellikle 24 saat gibi kısa bir süre boyunca uygulanması ilkesine dayanmaktadır.

Suda çözünebilir materyallerin hücrelerle teması oldukça başarılı bir şekilde sağlanırken, suda çözünmeyen materyaller, sıvı bir çözücüde çözülerek hücrelerle etkileşime geçirilir ve sitotoksisiteleri bu şekilde incelenir. Çözücü ortamının, klinik kullanım koşullarına uygun olması ve test edilen materyalin yapısını değiştirmemesi gerekmektedir [150], [151], [152].

b. Bariyer test metodu

Pulpa ile test materyali arasında dentin dokusunun bir bariyer oluşturması nedeniyle, doğrudan temas testleri klinik ortamı tam olarak yansıtamamaktadır. Bunun yerine, bariyer test yönteminde, dentini taklit eden ve bazı bileşenlerin difüzyonuna izin veren çeşitli insert sistemleri bariyer olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde, materyal bir insert içerisine yerleştirilir ve medyum içerisinde asılı halde kalır. Insertin altındaki pöröz membran, bariyer görevi görerek çözünen bileşenlerin geçişine ve medyum tabanındaki hücrelerle temas etmesine olanak tanır [149], [151].

Bu yöntemde test edilen materyalin dentin dokusunda çözünme ve dentin tübüllerine girerek difüze olma yeteneği ölçülür. Dentin dokusuna nüfuz edebilen materyaller pulpaya kolayca ulaşabildiklerinden dolayı biyouyumluluğu iyi açıklayan test yöntemlerinin arasında yer alır [153], [154].

2.5.2 Sitotoksite Testleri

Sitotoksite testleri, test edilecek materyalin uygun görülen hücre kültüründeki hücrelerin büyüme oranı ve yapısal özelliği üstündeki etkisinin negatif ve pozitif kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak değerlendirildiği biyouyumluluk test yöntemidir [155] . Bu test yöntemi ile hücre membran bütünlüğü, hücre miktarı ve büyümesi, biyosentez ve enzim etkinliği, hücre genetik materyali üzerindeki etkileri değerlendirilebilir.

Sitotoksite Testlerinin Avantajları

Sitotoksite testlerinin diğer test yöntemlerine göre avantajları arasında [141], [143], [156];

1. Hücre metabolizmasında özel olarak bir işlevin değerlendirilebilmesi,
2. Kısa zamanda çok miktarda örneğin aynı zamanda ekonomik olarak test edilebilmesi,
3. Hesaplanabilir ve diğer gruplarla karşılaştırılabilecek verilere ulaşılabilmesi,
4. Test yöntemlerinin tek tipte ayarlanabilmesi,
5. Kullanım testlerine göre daha hassas toksik madde değerlendirilme imkanı sunması sayılabilir.

Sitotoksosite testlerinin dezavantajları

Sitotoksosite testlerinin bazı dezavantajları da mevcuttur. Bunlar;

1. Kullanılacak her bir test için bir tür hücre kullanılabilmesi,
2. Konak hücrelerin kültür hücrelerinden farklı olması,
3. İn vitro ortamda normal şartlarda organizmada bulunan bağışıklık sistemi ve inflamatuvar sistem gibi işleyişlerin bulunmamasıdır [141], [143], [156].

Sitotoksitenin/hücre canlılığının belirlenmesi için kullanılan ve güncelliğini koruyan yöntemleri şu şekilde sınıflamak mümkündür:

Boyama yöntemleri: Bu teknikler, Tripan mavisi, Eozin, Kongo kırmızısı ve Eritrosin B kullanılarak yapılabilir.

Kolorimetrik yöntemler: Hücre ölümü veya çoğalmasının ölçümüne dayanan metabolik aktivite testleri en yaygın kullanılanlardır. Bu testler arasında Nötral Kırmızısı Alımı (NRU), kristal viyole, MTT, MTS, XTT, suda çözünen formazan 1 (WST-1), suda çözünen formazan 8 (WST-8) ve sulforhodamin B (SRB) testleri yer alır. Bu yöntemler genellikle spektrofotometrik ölçümlerle gerçekleştirilir. Ayrıca, laktat dehidrogenaz (LDH) testi de spektrofotometrik olarak yapılmaktadır, ancak farklı bir mekanizma kullanır.

Florometrik yöntemler: En yaygın kullanılan florometrik teknikler arasında AlamarBlue ve 5-CFDA, AM (5-Karboksifloresan Dasetat, Asetoksimetil Ester) testleri bulunur.

Luminometrik yöntemler: ATP testi ve canlılık tespiti için kullanılan gerçek zamanlı yöntemler, en sık tercih edilen luminometrik yöntemler arasındadır.

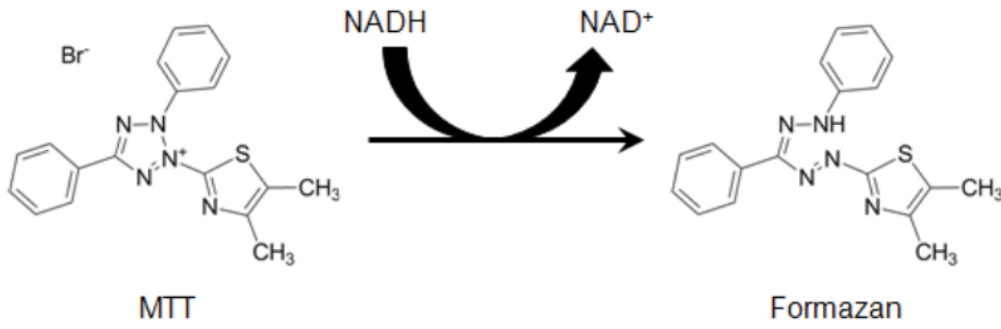
Apoptozun tespiti: Apoptozu belirlemek için kaspaz (3, 8 ve 9) seviyeleri ve aktiviteleri ölçülebilir. TUNEL (Terminal deoksinnükleotidil transferaz dUTP uç işaretleme) yöntemi kullanılabilir. Akış sitometrisi ile apoptotik ve nekrotik hücreler ve bunların oranları belirlenebilir. Ayrıca, apoptoza dahil olan proteinlerin (örneğin Bax, Bcl-2, p53) ekspresyonları analiz edilebilir.

Otofajinin tespiti: Otofajide yer alan proteinlerin (Beclin 1, p62, LC-3 gibi) düzeyleri ve ekspresyonları incelenerek tespit yapılabilir.

2.5.3. MTT Testi

MTT (tetrazolium tuzu, 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il] 2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi, hücre popülasyonlarındaki canlı hücrelerin sağkalım ve proliferasyon oranlarını belirlemek için kullanılan kantitatif bir kolorimetrik yöntemdir [157]. Bu test, canlı hücrelerde mitokondrinin MTT boyasına ait tetrazol halkasını parçalamasına dayanır. Bu süreç, mitokondriye özgü süksinat dehidrogenaz enziminin aktivitesi ile yakından ilişkilidir. Tetrazol halkasının parçalanması sonucunda, sağlıklı hücrelerde soluk sarı renkli MTT boyası koyu mavi renge dönüşürken, ölü ya da mitokondriyal işlevleri bozulmuş hücrelerde bu renk değişikliği gerçekleşmez [158].

Testin hücrelerle MTT boyası etkileşiminden sonra, ilk adım presipite tepkime ürünlerinin çözünür hale getirilmesidir. Ardından, oluşan ürünün kolorimetrik ölçümü gerçekleştirilir. Bu testin avantajları arasında hızlı uygulanabilirliği ve radyoizotop içermemesi bulunur [159]. Prosedür sırasında MTT substratı, fizyolojik olarak dengelenmiş bir çözeltide hazırlanır ve genellikle 0,2 – 0,5 mg/ml konsantrasyonunda kültürdeki hücrelere eklenir. Bu karışım 1-4 saat süreyle inkübe edilir. Formazan miktarı, bir spektrofotometre yardımıyla 570 nm dalga boyunda absorbanstaki değişiklikler kaydedilerek ölçülür [160]. Canlı hücreler, aktif metabolizma sonucu MTT'yi mor renkli formazan ürününe dönüştürür ve maksimum emilim 570 nm dalga boyuna ulaşır.



Şekil 3. MTT'nin Formazan'a dönüşümü

Hücreler öldüğünde, MTT'yi formazana dönüştürme yeteneklerini kaybeder. Bu nedenle, renk oluşumu yalnızca canlı hücrelerin varlığını gösterir. MTT'nin formazana dönüşümünün tam hücresel mekanizması henüz tamamen anlaşılmamıştır; ancak bu süreç, büyük ihtimalle NADH veya benzer indirgeyici moleküllerin MTT ile reaksiyona girmesiyle ilişkilidir [161]. MTT'nin formazan ürünleri, hücre yüzeyinde ve kültür ortamında birikirken, hücre içinde de çözünmeyen bir çökelti olarak birikir [160].

Formazan ürünlerinin oluşumu, sadece aktif mitokondrilere sahip canlı hücrelerde gerçekleşir. Bu yüzden formazan ürünleri ile canlı hücre sayısı arasında bir ilişki kurulmuştur [162], [163]. Formazan kristalleri çözücüler içinde çözüldükten sonra, çözünen materyallerin optik yoğunlukları spektrofotometre ile ölçülür. Elde edilen spektrofotometre değerinin, metabolizmaları aktif olan hücrelerin sayısı ile doğru orantılı olduğu kabul edilir [164]. MTT'nin hücreler tarafından formazana dönüşümü zamana bağlıdır [160]. Uzun süreli inkübasyon, renk birikimini ve hassasiyeti artırabilir. Ancak, inkübasyon süresi, hücreden enerji (NADH gibi) tüketen saptama reaktiflerinin sitotoksik etkileri nedeniyle sınırlıdır [160].

MTT test protokolü

1. Hücreler ve her kuyucukta 100 µl son hacim içeren test edilecek bileşikler, 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarında hazırlanır.
2. İstenen süre boyunca inkübe edilir.
3. 0,45 mg/ml'lik bir son konsantrasyona ulaşmak için her bir kuyucuğa 10 µl MTT solüsyonu eklenir.
4. 1-4 saat boyunca 37°C'de inkübasyon sağlanır.

5. Formazan kristallerini çözmek amacıyla her kuyucuğa 100 µl çözücü solüsyon eklenir.
6. Tam çözünmeyi sağlamak için karıştırılır.
7. Son olarak 570 nm dalga boyunda absorbans (optik yoğunluk) kaydedilir [160].

2.5.4. Wound Healing Yara Çizik Testi

Hücrelerin migrasyon yeteneğini ve yara iyileşme süreçlerini incelemek için kullanılan basit ve yaygın bir in vitro yöntemdir. Bu deneyde, hücreler bir kültür tabanına ekilir ve belirli bir bölgeye çizik veya yara yapılır. Ardından, hücrelerin çizik bölgesini ne kadar hızlı ve etkili bir şekilde kapattıkları gözlemlenir. Bu yöntem, hücre hareketliliği, proliferasyon oranı ve iyileşme süreçlerinin incelenmesinde kullanılır [165], [166].

Hücre Kültürü Hazırlığı:

Uygun bir hücre kültür tabanına (örneğin, 6-well plaka) belirli bir hücre sayısı eklenir. Hücrelerin yeterli miktarda büyüüp, tabanı tamamen kaplaması sağlanır.

Çizik Oluşturma:

Hücre tabanında, bir "yara" veya "çizik" oluşturmak için genellikle bir pipet ucu kullanılır. Bu çizik, hücrelerin dışarıdan etkilenmeden yalnızca içsel hareketlilikleri ile kapatılmasını sağlar. Çizik, genellikle tabanın ortasında uzunlamasına yapılır ve bu bölge üzerinde hücrelerin ilerlemesi izlenir.

İnkübasyon ve Gözlem:

Çizik oluşturulduktan sonra, kültür ortamına uygun bir inkübasyon süresi uygulanır. Bu süre zarfında hücrelerin hareketliliği ve yarayı kapatma süreçleri izlenir. Bu aşamada, hücrelerin hareket etmesini teşvik eden veya engelleyen çeşitli kimyasal maddeler (örneğin, sitokinler veya ilaçlar) eklenebilir.

Görüntüleme ve Analiz:

Belirli aralıklarla (örneğin, 0, 6, 12, 24 saat) hücre kültürü mikroskop ile görüntülenir. Bu görüntüler, çizik bölgesinin ne kadar kapandığını ve hücrelerin nasıl yayıldığını gösterir.

Analizler, çizik bölgesinin kapanma oranı, hücrelerin hızla hareket etme yeteneği ve diğer özellikleri içerir. Genellikle, yazılım veya manuel olarak çizik bölgesinin yüzdesi hesaplanır [165], [166].

2.5.6. Comet Genotoksisite Testi

DNA hasarı, hücresel genotoksisiteyi değerlendirmede önemli bir biyomarker olarak kabul edilir. DNA hasarının tespiti, genotoksik ajanların etkilerini anlamada, kanser araştırmalarında ve çevresel toksinlerin değerlendirilmesinde kritik bir rol oynar. Bu teknik, düşük seviyelerde DNA hasarını tespit etmek için kullanılabilir ve hasarın değerlendirilmesi için gerekli olan hassasiyeti sağlar. Comet testi, DNA'nın hasar görmüş bölgelerini tespit etmek ve nicel olarak ölçmek için basit ve etkili bir yöntem sunar.

Comet testinin temel prensibi, hücrelerin alkali koşullarda işlenmesi ve serbest DNA'nın elektroforez aracılığıyla analiz edilmesidir. Bu yöntem, DNA'nın hasarlı bölgelerinin daha belirgin hale gelmesini sağlar ve bu bölgelerin boyutları ve şekilleri hasarın derecesini yansıtır [167], [168].

Bu tez çalışmasının amacı;

- 1- NeoLiner LC, Bio C Repair ve Theracal PT'nin Biodentin ve MTA Angelus ile karşılaştırıldığında süt dişi pulpa kök hücreleri (SDPKH) üzerindeki sitotoksik, genotoksik etkileri ve hücre göçü yüzdelerini incelemek,
- 2- Aynı zamanda lezyon sterilizasyonu ve doku onarımında kullanılan antibiyotik pat kombinasyonlarının sitotoksisite, genotoksisite ve hücre göçü yüzdelerini değerlendirmektir.

3. MATERYAL VE METOD

Bu tez çalışması için 14.06.2024 tarihinde Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulunun 134. toplantısında 54 numaralı karar ile etik kurul onayı alındı (Ek 01). Çalışma Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında yürütüldü.

Çalışmamızda sırasıyla aşağıdaki adımlar gerçekleştirildi;

- Hücre kültürünün hazırlanması,
- Muamele edilecek test örneklerinin hazırlanması,
- Sitotoksikite, genotoksikite ve hücre göçü testlerinin uygulanması

3.1. Hücrelerin Hazırlanması

Çalışmamızda Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında daha önceden elde edilmiş ‘‘süt dişi pulpa kök hücreleri (SDPKH)’’ kullanıldı. -80°C derin dondurucuda saklanan hücreler ilk olarak 5ml, %15 FBS ve %1 antibiyotik içeren, MEM kültür medyumuna ile 1000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi ve dondurma solüsyonu uzaklaştırıldı. Santrifüj sonrası oluşan pelet üzerine ilave edilen %15 FBS (Cytiva) ve %1 antibiyotik (Pen-Srep-Gibco) içeren Mem- α (Capricorn scientific) kültür medyumuna ile hücreler T25 flaklarda (TPP Zellkulturflasche) inkübatör (Memert) (şekil 4) içinde kültüre edildi. Hücreler belirli aralıklarla kontrol edilerek %70-80 yoğunluğa ulaştığında pasajlama işlemi gerçekleştirildi. Pasajlama işleminde hücreler önce PBS ile yıkanıp ardından %0.25 Trypsin- EDTA solüsyonuyla (Vivacell Biosciences) 37°C’de kontrollü bir şekilde inkübasyona bırakıldı. Hücrelerin flask tabanından ayrılmasıyla tripsinin etkinliğini inhibe etmek için iki katı kadar serumlu kültür medyumuna ilave edildi ve 1000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilip pelet oluşumu sağlandı. Pelet üzerine %15 FBS ve %1 antibiyotik içeren MEM kültür medyumuna eklenerek hücreler T75 flaklara (TPP Zellkulturflasche) aktarıldı. Flaklar belirli zaman aralıklarında inverted mikroskopuyla (şekil 5) kontrol edildi. Yeterli yoğunluğa ulaşınca

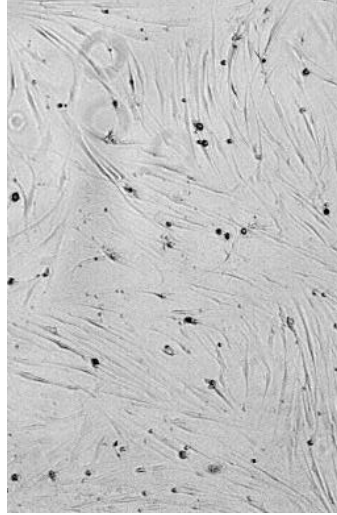
hücreler tekrar pasajlanarak çalışmanın sonuçlanması için gereken hücre sayısına ulaşıldı (Şekil 6) [169].



Şekil 4. İnkübatör



Şekil 5. Inverted Mikroskop



Şekil 6. SDPKH görüntüsü

Hücresel testler için laboratuvar malzemelerinin hazırlanması:

MTT Çözeltisi: 5 mg MTT, steril PBS (Sigma-Aldrich, St.Louis, Missouri, ABD) içerisinde çözülerek toplam hacim 5 mL'ye tamamlandı. Bu karışım +4°C'de maksimum 1 ay süreyle saklanabilir hale getirildi.

Lizing Çözeltisi: 2,5 M NaCl, 10 mM Tris ve 100 mM Na₂ EDTA distile suda çözüldü, ardından pH 10'a ayarlandı. %1 sodyum lauril sarkosinat eklenerek 1-2 gün boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Çözelti kullanılacağı gün, taze olarak %1 triton ve %10 DMSO eklenerek +4°C'de soğutuldu.

Nötralize Lysing Çözeltisi: 0,4 M Tris distile su içinde çözülüp pH 10'a ayarlandı. Çözelti oda sıcaklığında muhafaza edildi.

Elektroforez Çözeltisi: 1 mM Na₂EDTA ve 300 mM NaOH distile su içinde çözülüp pH>13'e ayarlandı ve +4°C'de saklandı.

Etidium Bromür Çözeltisi: 200 µg/ml'lik stok çözelti hazırlanıp oda sıcaklığında depolandı. Boyama işlemi için bu stok çözeltiden 20 µg/ml çözülüp her bir lama 60 µl damlatılarak kullanıldı.

Düşük Erime Noktalı Agar (LMA): %0,75'lik çözeltisi PBS ile hazırlanıp +4°C'de saklandı. Deney sırasında çözülüp 37°C'ye getirildi.

Normal Erime Noktalı Agar (NMA): %1'lik çözeltisi PBS içinde çözülerek hazırlandı. Çözeltinin sıcak olduğu anda lamalar bu solüsyona daldırılıp agar ile kaplandı ve ardından kurutuldu.

3.2. Muamele Edilecek Test Örneklerin Hazırlanması

Çalışmamızda MTA (Angelus, Brezilya) ve Biodentin (Septodent, Fransa), Bio-c Repair (Angelus, Brezilya), Neoliner LC (Nusmile, ABD), Theracal PT (Bisco, ABD) test edildi. Kontrol grubu olarak da hücrelere materyallerin muamale edilmediği sadece kök hücreleri içeren gruplar oluşturuldu. Çalışmada test materyallerin %1, %5, %10'luk dilüsyonları kullanıldı. Bu konsantrasyonlar MEM solüsyonunda bekletilen hücrelerden alınan sıvının DMEM(-/-) ortamında seyreltilmesiyle elde edildi. Aynı zamanda aynı dilüsyonlarda ikili ve üçlü antibiyotik patlarının da sitotoksosite, genotoksosite ve hücre göçü testleri gerçekleştirildi. Çalışmada test edilecek biyoaktif materyaller Tablo 3'de ve şekil 7-11'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Test edilen biyoaktif materyallerin içeriği

TEST EDİLECEK MATERYALLER	İÇERİK	Kullanımı
Neoliner LC (Nusmile, ABD)	Bilinmiyor	Rezin içerikli ışıkla sertleşen pat
Bio-c repair (Angelus, Brezilya)	Kalsiyum silikat, kalsiyum alüminat, kalsiyum oksit, zirkonyum oksit, demir oksit, silikon dioksit ve dağıtıcı madde	Kullanıma hazır pat
Theracal PT (Bisco, ABD)	Bis-GMA, baryum zirkonat, iterbiyum florür ve başlatıcı	Dual pat rezin
Biodentin (Septodent, Fransa)	Toz: Trikalsiyum silikat, zirkonyum oksit, kalsiyum oksit, kalsiyum karbonat, demir oksit Likit: Dehidrate kalsiyum klorit, saf su	Bir kapsül toza beş damla likit
MTA (Angelus, Brezilya)	Trikalsiyum silikat, dikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat, kalsiyum oksit, kalsiyum tugstat	Toz-likit

Kullanılan materyaller;



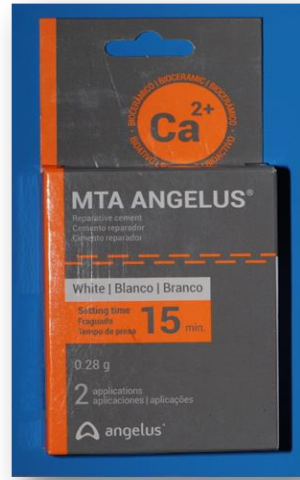
Şekil 7. Theracal PT



Şekil 8. NeoLiner LC



Şekil 9. Bio C Repair



Şekil 10. MTA Angelus



Şekil 11. Biodentin

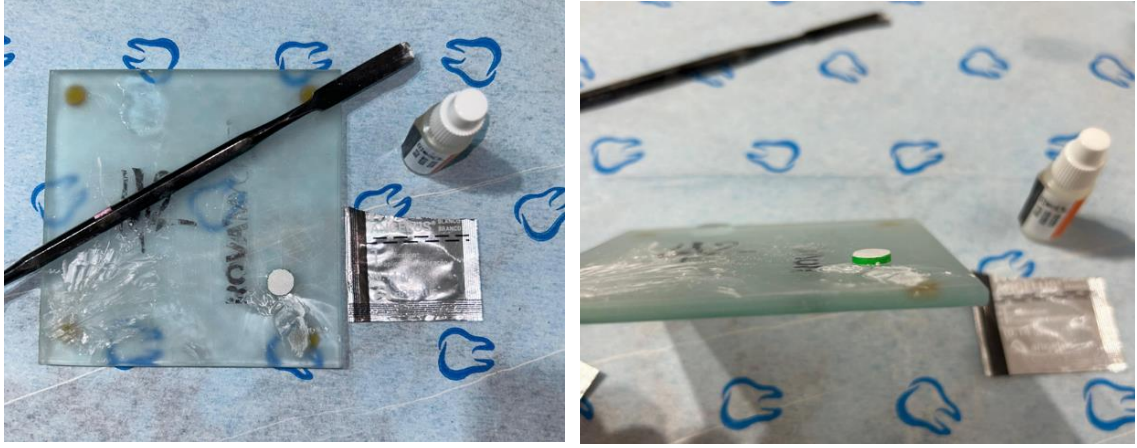
Çalışmada kullanılan tüm test materyalleri steril çalışma kabini (şekil 12) içerisinde üretici firma talimatları doğrultusunda hazırlandı. Materyallerin çalışma boyutu belirlenirken; ISO 10993-12 standartları (tablo 4) doğrultusunda yüzey/vasat oranı 0,5-6 cm²/ml olması ve salım aşamasında kültür medyumunun örnek yüzeyiyle tamamen teması amaçlandı. Tüm materyallerin temas alanı aynı olması için aynı boyutlarda pipetler kesilerek standardize edildi (şekil 13,14).

Tablo 4. ISO 10993-12

Kalınlık (mm)	Ekstraksiyon Oranı ^a ± %10	Malzeme Örnekleri
≤0.5	6 cm ² /ml	Metal, sentetik polimer, seramik, kompozit film, levha ve tüp duvarları
>0.5	3 cm ² /ml	Metal, sentetik polimer, seramik, kompozit tüp duvarları, levha, kalıplı parçalar
≤1.0	3 cm ² /ml	Doğal elastomer
>1.0	1.25 cm ² /ml	Doğal elastomer
Düzensiz	0.1–0.2 g/ml, 6 cm ² /ml	Peletler



Şekil 12. Steril Çalışma Kabini



Şekil 13. Materyallerin üretici firma talimatları doğrultusunda karıştırılması



Şekil 14. MEM solüsyonunda bekletilen örnekler

Hazırlanan test materyalleri MEM solüsyonunda 24 saat bekletildi. Daha sonra filtreden geçirildi.

3.3. Sitotoksisite, Genotoksisite ve Hücre Göçü Testlerinin Uygulanması

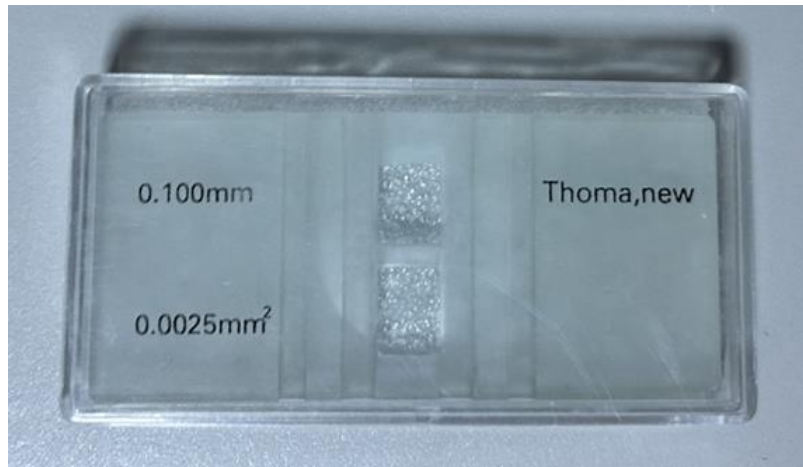
3.3.1. MTT Testi (Hücre Canlılık testi)

MTT testi (Hücre Canlılık testi), hücre canlılığının, proliferasyonunun ve sitotoksisitesinin bir göstergesi olarak hücrel metabolik aktiviteyi ölçmek için

kullanılmaktadır. Bu kolorimetrik analiz, sarı tetrazolium tuzunun metabolik olarak aktif hücrelerde mor renkli formazan kristallerine indirgenmesine dayanmaktadır.

Çalışmamızda 96 kuyucuklu plakalara ekimi yapılacak hücreler önce Thoma lamında (şekil 15) ışık mikroskobuyla (şekil 16) sayıldı ve her kuyucukta 10^4 hücre olacak şekilde ekim yapıldı ve 37°C 'de %5 CO_2 içeren inkübatörde inkübasyona bırakıldı. %1, %5 ve %10 konsantrasyonlarında hazırlanan 2'li Pat, 3'lü Pat, MTA, Biodentin, NeoLiner LC, Therecal PT, Bio C Repair'in sitotoksosite analizleri için hücreler bu 96 kuyucuklu plakalara yerleştirildi (tablo 5). Hücreler %70 yoğunluğa (*confluency*) ulaştıktan sonra 100 μl şeklinde uygulandı ve 37°C 'de inkübasyona bırakıldı. 20 saat inkübasyondan sonra her kuyuya MTT solüsyonu eklendi ve tekrar inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonunda kuyular içindeki besiyer-MTT solüsyonu uzaklaştırılarak her kuyuya 100 μl DMSO (Sigma) eklendi ve hücre canlılığı 570 nm dalga boyunda EZ Read 400 microplate okuyucu (şekil 17) ile yapıldı.

Çalışmamızda daha sonra 2'li pat (siprofloksasin-metronidazol) ve 3'lü antibiyotik pat (siprofloksasin-metronidazol-tetrasiklin) ile MTA ve Biodentin'in hücreler üzerindeki kombine etkisini gözlemlemek için 96 kuyucuklu plakalara, her kuyucukta 10^4 hücre olacak şekilde ekim yapıldı ve 37°C , %5 CO_2 içeren inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Hücreler %70 yoğunluğa (*confluency*) ulaştıktan sonra ilk önce kuyulara %1 2'li pat ve %1 3'lü pat uygulandı. 24 saat boyunca 2'li ve 3'lü pat'a maruz kalan hücrelere %5 MTA ve %5 Biodentin eklendi ve 24, 48 ve 72 saat inkübasyona bırakıldı. Her bir süre sonunda MTT ile hücre canlılığı analiz edildi.



Şekil 15. Thoma lamı



Şekil 16. Işık mikroskobu



Şekil 17. EZ Read 400 microplate okuyucu

Tablo 5. Kuyucuk dizilimi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Therecal PT %1	Therecal PT %5	Therecal PT %10	Biodentin %1	Biodentin %5	Biodentin %10	Neo- LC %1	Neo- LC %5	Neo- LC %10	Bio C Repair % 1	Bio C Repair % 5	Bio C Repair % 10
B	Therecal PT %1	Therecal PT %5	Therecal PT %10	Biodentin %1	Biodentin %5	Biodentin %10	Neo- LC %1	Neo- LC %5	Neo- LC %10	Bio C Repair % 1	Bio C Repair % 5	Bio C Repair % 10
C	Therecal PT %1	Therecal PT %5	Therecal PT %10	Biodentin %1	Biodentin %5	Biodentin %10	Neo- LC %1	Neo- LC %5	Neo- LC %10	Bio C Repair % 1	Bio C Repair % 5	Bio C Repair % 10
D	Therecal PT %1	Therecal PT %5	therecal %10	Biodentin %1	Biodentin %5	Biodentin %10	Neo- LC %1	Neo- LC %5	Neo- LC %10	Bio C Repair % 1	Bio C Repair % 5	Bio C Repair % 10
E	MTA % 1	MTA % 5	MTA % 10	2'li PAT % 1	2'li PAT % 5	2'li PAT % 10	3'lü PAT % 1	3'lü PAT % 5	3'lü PAT % 10	DMEM (-/-) NK	DMEM (+/-) NK2	NAOCI (PK)
F	MTA % 1	MTA % 5	MTA % 10	2'li PAT % 1	2'li PAT % 5	2'li PAT % 10	3'lü PAT % 1	3'lü PAT % 5	3'lü PAT % 10	DMEM (-/-) NK	DMEM (+/-) NK2	NAOCI (PK)
G	MTA % 1	MTA % 5	MTA % 10	2'li PAT % 1	2'li PAT % 5	2'li PAT % 10	3'lü PAT % 1	3'lü PAT % 5	3'lü PAT % 10	DMEM (-/-) NK	DMEM (+/-) NK2	NAOCI (PK)
H	MTA % 1	MTA % 5	MTA % 10	2'li PAT % 1	2'li PAT % 5	2'li PAT % 10	3'lü PAT % 1	3'lü PAT % 5	3'lü PAT % 10	DMEM (-/-) NK	DMEM (+/-) NK2	NAOCI (PK)

3.3.2. Comet Testi (Genotoksisite testi)

Comet testi (Genotoksisite testi) veya tek hücre jel elektroforezi, hücrelerde DNA hasarının tespiti için kullanılan basit, hassas ve hızlı bir tekniktir ve bu nedenle genetik toksikoloji çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır [170]. Günümüzde kullanılan Comet testleri genel olarak 1988 yılında Singh ve ekibinin geliştirdiği tekniğe dayanmaktadır [171]. Alkali koşullar altında elektroforez işlemi uygulandığında hasarsız DNA çekirdek içinde kalırken, hasarlı DNA parçaları anoda doğru göç ederek, yöntemine adını veren kuyruklu yıldız görüntüsü oluşturur. DNA göç uzunluğuna göre hücre hasarı 5 kategoride (Tip0, Tip1, Tip2, Tip3, Tip4) tanımlanır.

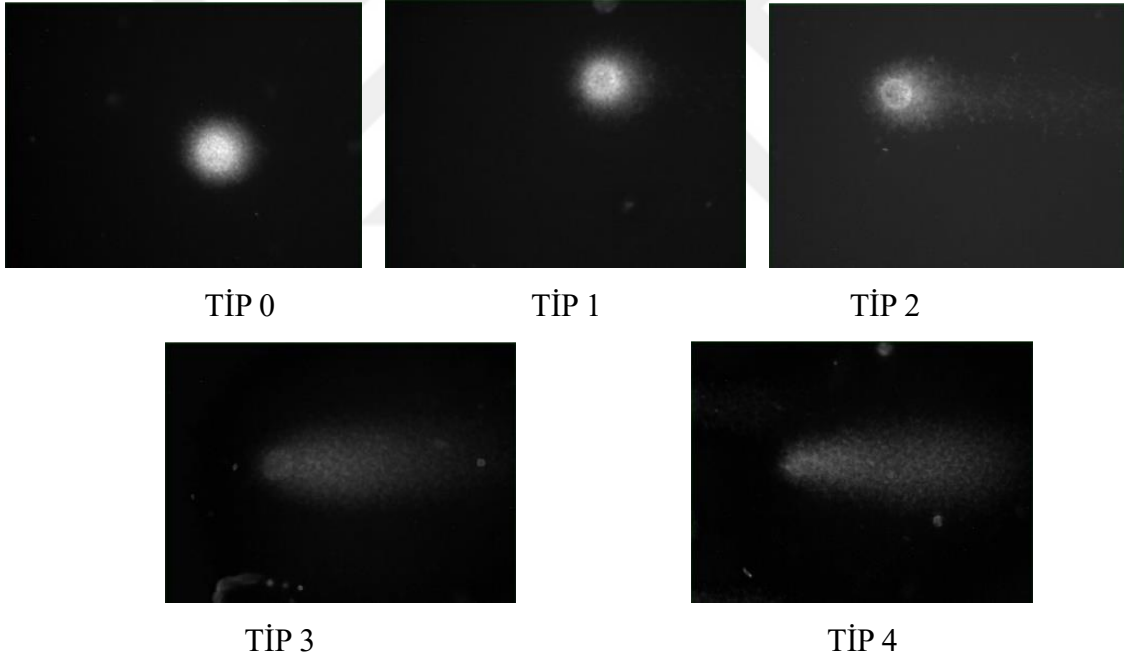
Comet Testi için hücreler ilk olarak, her kuyuda 3×10^5 hücre olacak şekilde 6 kuyulu plaklara ekim yapıldı ve çoğalmaları beklendi. Hücreler %70 yoğunluğa (*confluency*) ulaştıktan sonra ilaç muameleleri yapıldı ve 24 saat beklendi. 24 saat sonunda hücreler Tripsin ile 6 kuyulu plaka tabanından kaldırıldı. 2000 rpm'de 4 dakika santrifuj edilerek tripsin uzaklaştırıldı. Daha sonra 300 µl besiyeri ile seyreltildi. Her süspansiyondan 100 µl alınıp, 37°C'de 100µl LMA (low melting agarose) ile karıştırılarak önceden NMA (normal melting agarose) ile kaplanmış lamaların üzerine yayıldı. Lamaların üzeri lamel ile kapatılarak 15 dakika donmaya bırakıldı. Süre sonunda lameller kaldırılarak lamalar lizis solüsyonunda 1 saat +4°C'de bekletildi. Lizis

solüsyonundan çıkartılan preparatlar yatay bir jel elektroforez tankına yerleştirildi ve alkali elektroforez tamponunda 20 dk. boyunca inkübe edildi, 20 dk. sonunda 25V'ta 20 dk. süreyle elektroforez gerçekleştirildi. Elektroforez sonunda lamalar önce nötralize edildi daha sonra etanol içerisinde dehidre edilip oda sıcaklığında kurumaya bırakılıp incelenme için hazır hale getirildi. İncelenecek slayt üzerine 50 µl etidyum bromür damlatılarak floresan mikroskopta x400 büyütmede incelendi.

Her örnek için rastgele seçilen 100 hücre sayıldı ve sayımı yapılan hücreler Collins, 2004 tarafından önerildiği gibi tip 0, tip 1, tip 2, tip 3, ve tip 4 olarak sınıflandırıldı [172]. Comet testinden elde edilen verilerin karşılaştırılması için hasarlı hücre yüzdesi ve genetik hasar indeksi hesaplandı.

Genetik hasar indeksi (GHI): $[(Tip0 \times 0) + (Tip1 \times 1) + (2 \times Tip2) + (3 \times Tip3) + (4 \times Tip4)]$.

Hasarlı hücre yüzdesi (HHY): $Tip2 + Tip3 + Tip4$



Şekil 18. DNA kuyruk uzunluğuna göre hücre hasarı tipleri

3.3.3. Wound Healing Testi (Yara Çizik Deneyi)

Yara çizik testi, iki boyutta toplu hücre göçünü araştırmak için standart bir in vitro tekniktir. Bu testte tek tabakada hücresiz bir alan oluşturulur. Hücresiz alanın açığa çıkması hücrelerin boşluğa göç etmesine neden olur [173]. Wound Healing testi için hücreler ilk olarak, her kuyuda 3×10^5 hücre olacak şekilde 6 kuyucuklu plakalara ekildi

ve çoğalmaları beklendi. Hücreler %100 yoğunluğa ulaştıktan sonra her kuyuda 1000 mikrolitrelik pipet ucuyla hücresiz bir alan oluşturuldu ve test grupları muamele edildi. 0. ve 24. saatlerde görüntü alınarak hücre migrasyonu saptandı. Wound healing analizinde İmagej programı kullanılmıştır.

$$\text{Yüzde hesap} = (\text{ilk alan-son alan}) / \text{ilk alan} \times 100$$

3.4. İstatiksel Analiz

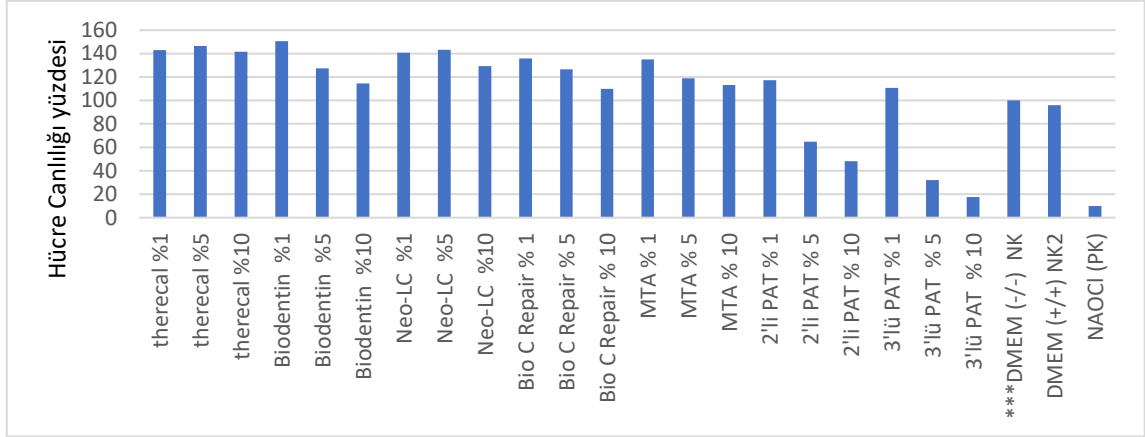
Kategorik ölçümler sayı (n) ve yüzde (%) olarak sunuldu. Kategorik ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Sayısal ölçümlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Kolmogorov Smirnov testi ile test edildi. Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümleri ikiden fazla grup arasında genel karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanıldı. Bu karşılaştırmalarda anlamlı bulunan durumlar için grupların ikili karşılaştırılmalarında Dunn testi kullanıldı. Aynı materyaller üzerinde farklı zamanlarda yapılan ve Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümleri karşılaştırmada Friedman testi kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS 2.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. MTT Test Sonuçları

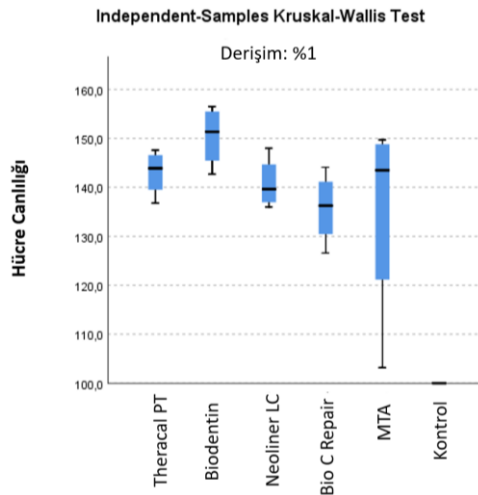
MTT testi sonucunda test edilen tüm materyallerin %1, %5, %10'luk dilüsyonlarındaki hücre canlılık oranları tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 6. Test edilen materyallerin hücre canlılık yüzdeleri



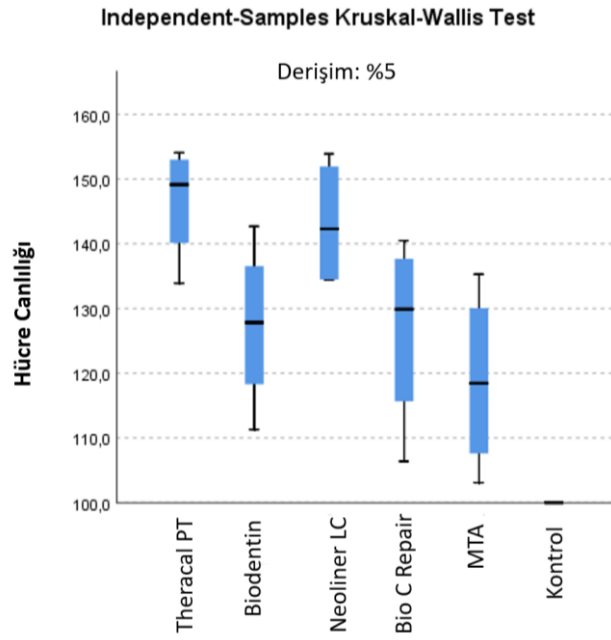
Test edilen biyoaktif materyaller ve kontrol grubu (DMEM-/-) %1’lik dilüsyonlarda istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; %1 dilüsyonda Biodentin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir hücre canlılığı artışı göstermiştir ($p < 0.01$). Diğer materyaller kontrole benzer hücre canlılığı sergilemiştir. %1’lik dilüsyondaki materyallerin kontrol grubuna göre hücre canlılığındaki artış durumu tablo 6’da özetlenmiştir.

Tablo 7. %1’lik derişimdeki biyoaktif materyallerin hücre canlılığı oranları



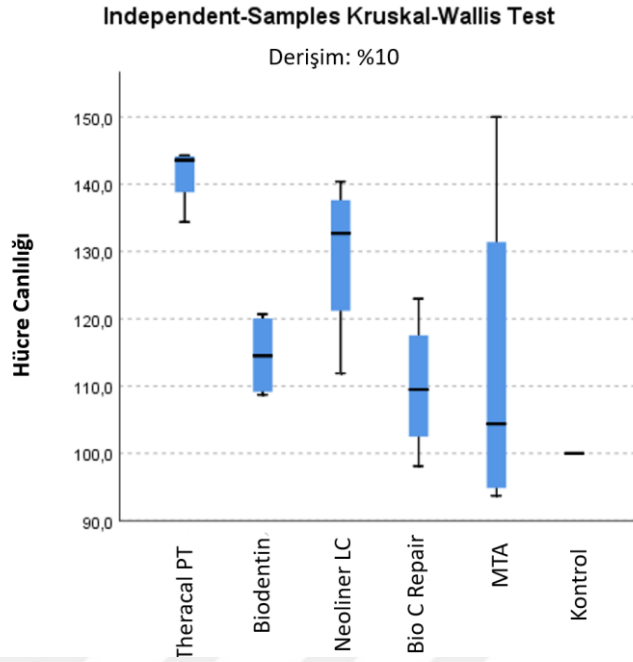
Test edilen biyoaktif materyaller ve kontrol grubu (DMEM-/-) %5'lik dilüsyonlarda istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; Kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek hücre canlılığı Theracal PT ($p=0.01$) ve NeoLiner LC'de ($p=0.02$) görülmüştür. Bio C Repair'de kontrol grubuna göre anlamlı derece de hücre artışı göstermiştir ($p=0.04$). %5'lik dilüsyondaki materyallerin kontrol grubuna göre hücre canlılığındaki artış durumu tablo 7'de özetlenmiştir.

Tablo 8. %5'lik derişimdeki biyoaktif materyallerin hücre canlılığı oranları



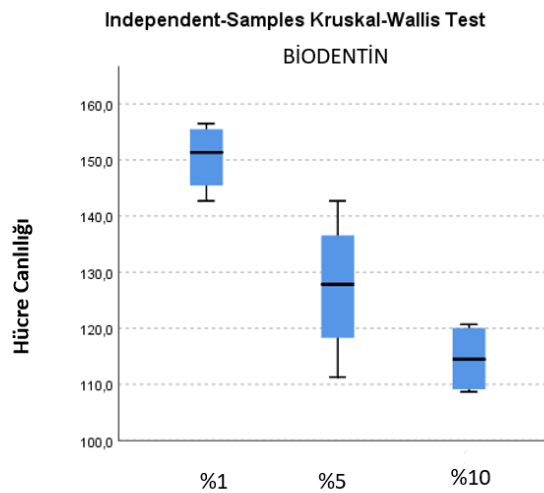
%10'luk dilüsyondaki materyallerin hücre canlılığındaki artışa etkisi kontrolle karşılaştırıldığında; NeoLiner LC'nin hücre canlılığındaki artışı kontrol grubuna göre anlamlı derece yüksek bulunmuştur ($p=0.024$). Theracal PT'nin de hücre canlılığındaki artışı kontrol grubuna göre anlamlı derece yüksek bulunmuştur ($p=0.002$). Diğer materyaller ile kontrol grubu arasında hücre canlılığındaki artışta anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$). %10'luk dilüsyondaki materyallerin kontrol grubuna göre hücre canlılığındaki artış durumu tablo 8'de özetlenmiştir.

Tablo 9. %10'luk derişimdeki biyoaktif materyallerin hücre canlılığı oranları



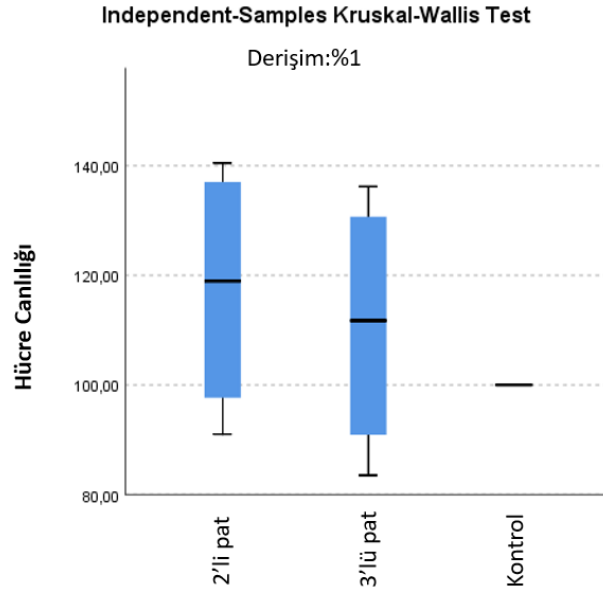
Her bir materyali kendi içinde dilüsyonlarına (%1, %5, %10) göre kıyasladığında; Sadece Biodentin dilüsyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p < 0.05$). %1'lik dilüsyonda %10'luk dilüsyonuna göre hücre canlılığı anlamlı derecede yüksek bulundu (tablo 9).

Tablo 10. Biodentin dilüsyonları arasındaki hücre canlılığı oranları



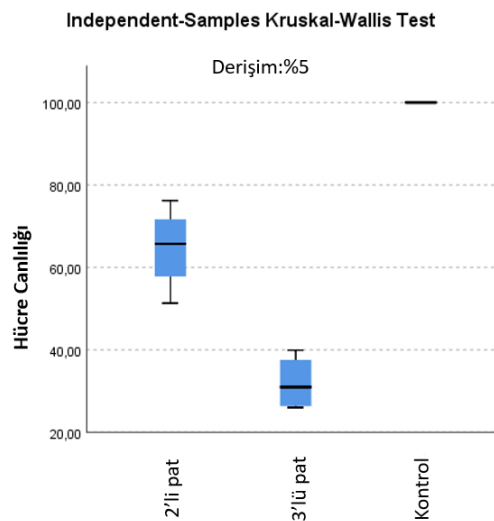
Antibiyotik patlarının %1'lik dilüsyonları arasında hücre canlılığı açısından kontrol grubuyla aralarında herhangi bir farklılık görülmemiş ancak her üç grupta da hücre canlılığında artış gözlenmiştir ($p>0.05$) (tablo 10).

Tablo 11. %1'lik derişimdeki antibiyotik patları arasındaki hücre canlılığı oranları



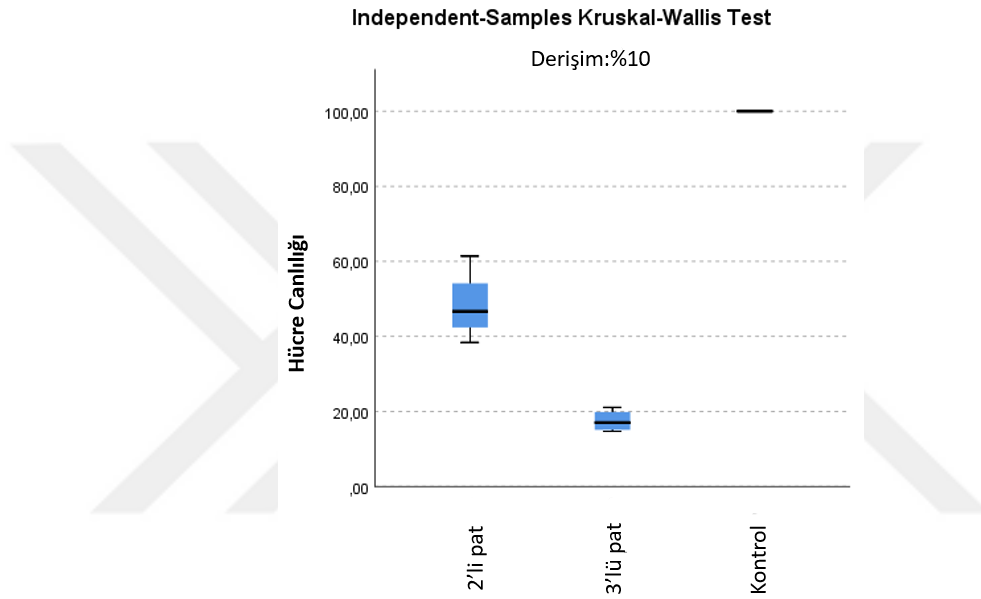
Antibiyotik patlarının %5'lik dilüsyonları arasında istatistiksel olarak karşılaştırma yapıldığında; 3'lü antibiyotik patı hücresel canlılıkta kontrole göre anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p=0.001$). %5'lik dilüsyonların kendi aralarında ve kontrol grubuna göre hücre canlılığındaki değişimleri tablo 11'de özetlenmiştir.

Tablo 12. %5'lik derişimdeki antibiyotik patları arasındaki hücre canlılığı oranları



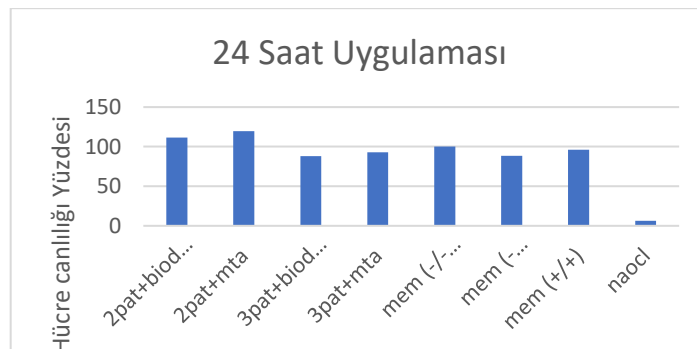
Antibiyotik patlarının %10'luk dilüsyonları arasında istatistiksel olarak karşılaştırma yapıldığında; 2'li patta hücre canlılığında kontrole göre bir düşüş görülse de bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). 3'lü patta görülen hücre canlılığındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$). %10'luk dilüsyonların kendi aralarında ve kontrol grubuna göre hücre canlılığındaki değişimleri tablo 12'de özetlenmiştir.

Tablo 13. %10'luk derişimdeki antibiyotik patları arasındaki hücre canlılığı oranları

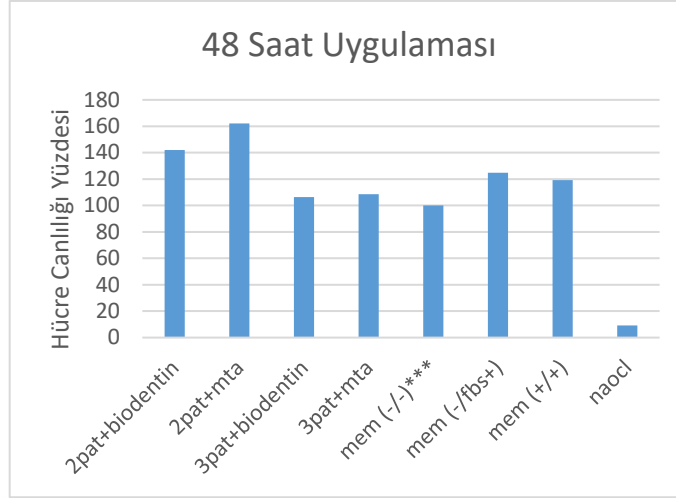


2'li pat ve 3'lü patın MTA ve Biodentin'le kombine kullanımı sonucundaki 24 saat, 48 saat ve 72 saat arasındaki hücre canlılığı yüzdeleri aşağıdaki tablo 13,14 ve 15'te özetlenmiştir.

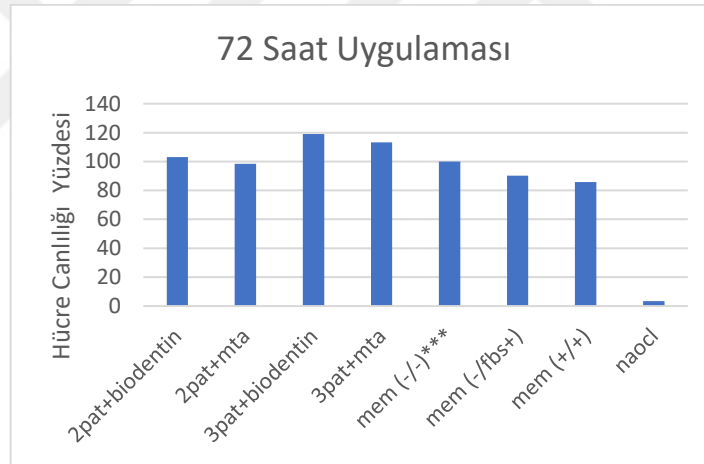
Tablo 14. 24 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesi



Tablo 15. 48 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesi

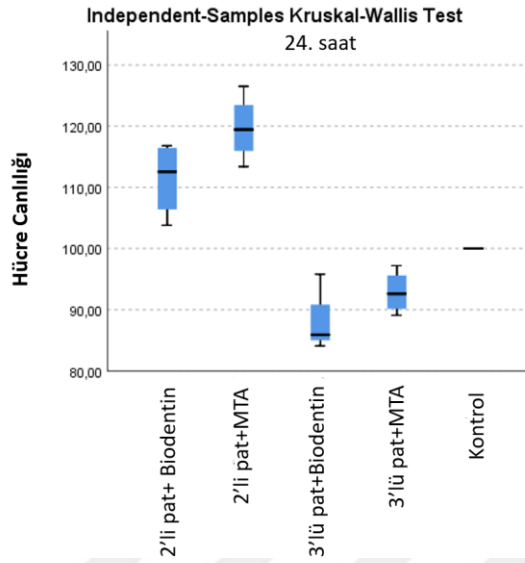


Tablo 16. 72 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesi



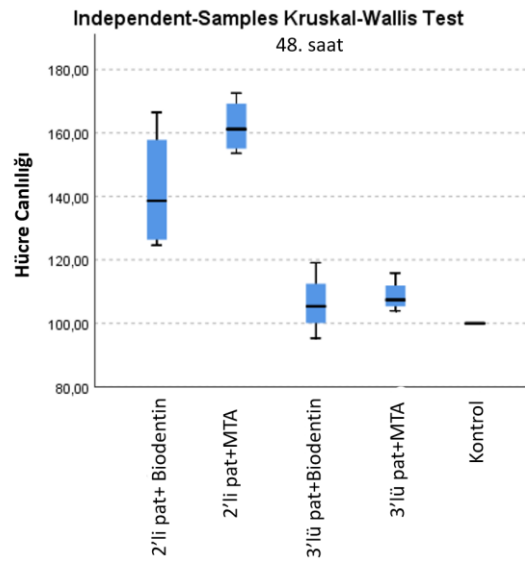
24 saat hücre canlılığı değerlendirmesinde; 3'lü pat+ Biodentin ve 3'lü pat+ MTA kombinasyonları arasında hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). 2'li pat+ Biodentin ve 2'li+MTA kombinasyonları arasında hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$). 2'li pat+ Biodentin kombinasyonu, 3'lü pat+ Biodentin'den hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p=0.049$). 2'li pat+ MTA kombinasyonu, 3'lü pat+ Biodentin'den hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.01$) 24 saat sonucundaki pat kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı ilişkisi tablo 16'da özetlenmiştir.

Tablo 17. 24 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesinin istatistiksel olarak karşılaştırılması



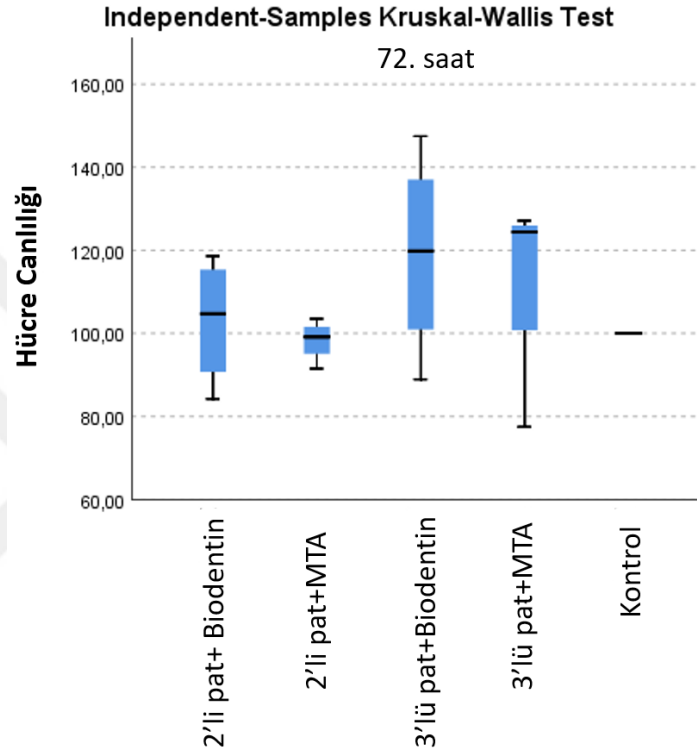
48 saat sonra hücre canlılığı verileri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; 2'li pat+ Biodentin ve 2'li+MTA kombinasyonu kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir (sırasıyla $p=0.049$, $p=0.01$). 2'li+MTA kombinasyonu; 3'lü pat+ MTA kombinasyonundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.036$). 48 saat sonucundaki pat kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı ilişkisi tablo 17'de özetlenmiştir.

Tablo 18. 48 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesinin istatistiksel olarak karşılaştırılması



72 saat sonra hücre canlılığında herhangi bir grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). 72 saat sonra örnekler arasında hücre canlılığı karşılaştırması tablo 18’de özetlenmiştir.

Tablo 19. 72 saat sonrasındaki antibiyotik pat biyoaktif materyal kombinasyonları arasındaki hücre canlılığı yüzdesinin istatistiksel olarak karşılaştırılması



4.2. Comet Test Sonuçları

Rastgele seçilen 100 hücre içerisindeki hasar derecelendirmesi sonuçları tablo 19’da gösterilmiştir.

Tablo 20. Comet testi sonucu hasar değerlendirilmesi

	0 (Hasarsız)	1 (Az hasarlı)	2 (Orta hasarlı)	3 (Çok hasarlı)	4 (Maksimum hasarlı)
%5 MTA	96	4	0	0	0
%5 Biodentin	87	10	2	1	0
%5 Theracal PT	80	16	2	0	2
%5 NeoLiner LC	89	5	3	1	2
%5 Bio C Repair	80	8	4	4	4
%1 İkili antibiyotik patı	94	3	2	0	1
%1 Üçlü antibiyotik patı	76	23	1	0	0
%1 ikili pat+%5MTA	97	2	1	0	0
%1 ikili pat+%5 Biodentin	92	6	1	1	0
%1 Üçlü pat+ %5 MTA	80	19	0	0	1
%1 Üçlü pat+ %5 Biodentin	90	7	1	2	0
Kontrol (muamelesiz)	97	1	0	1	1

Hasar tiplerine göre formüle edilen genetik hasar indeksi sonuçları tablo 20’de gösterilmiştir.

Tablo 21. Materyallerin Genetik Hasar İndeksi

	GDI (Genetik Hasar İndeksi)
%1 2'li PAT	11
%5 MTA	4
%5 Theracal PT	28
%1 3'lü PAT	25
%5 Biodentin	17
%5 Neoliner LC	22
%5 Bio C repair	44
%1 2'li PAT+ %5 MTA	4
%1 2'li PAT+%5 Biodentin	11
Kontrol (muamelesiz)	8
%1 3'li PAT+ %5 MTA	23
%1 3'li PAT+%5 Biodentin	15

Rezin içerikli NeoLiner LC ve Theracal PT' de sırasıyla 22 ve 28 sonucu bulunarak hasar indeksleri benzerlik göstermiştir. 2'li ve 3'lü patlar arasındaki genetik hasar indeksini karşılaştırdığımızda 2'li patın hasar indeksinin 3'lü pattan düşük olduğu hem MTA ve Biodentin kombinasyonunda hem de tek muamelelerinde görülmüştür.

Hasar sınıflamasında derece 2, 3 ve 4'ün toplamını veren hasarlı hücre yüzdesi tablo 21 verilmiştir. Çıkan sonuçlara göre en yüksek hasarlı hücre yüzdesini %12 ile Bio C Repair'de göstermiştir. MTA'da hiç hasarlı hücre görülmezken bu değer Biodentin'de %3 olarak bulunmuştur. Rezin içerikli NeoLiner LC ve Theracal PT'de bu değerler sırasıyla %6 ve %4 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 22. Materyallerin Hasarlı Hücre Yüzdesi

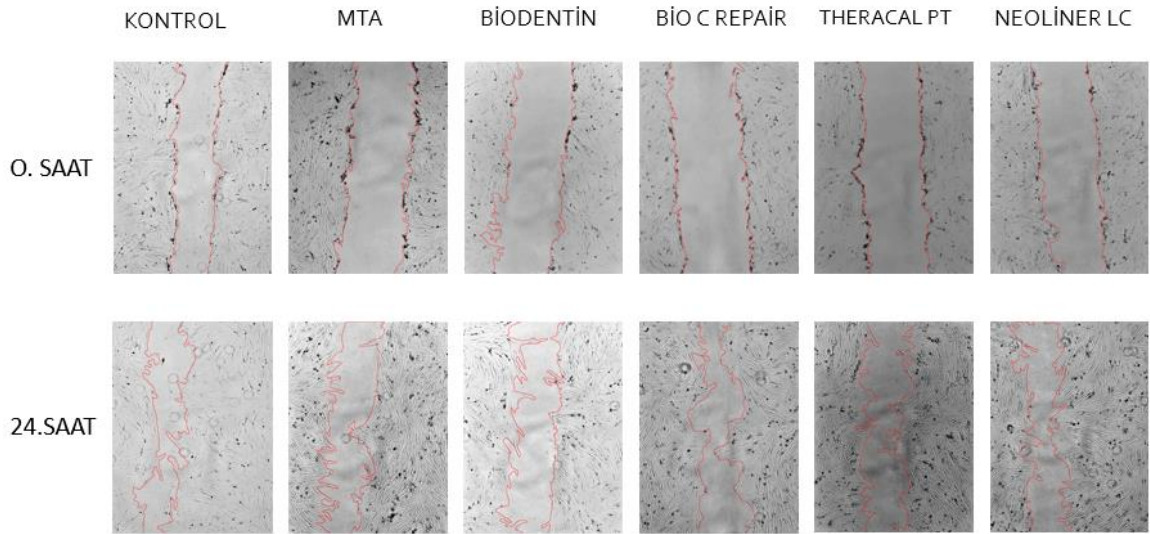
	Hasarlı Hücre Yüzdesi
%1 2'li PAT	3
%5 MTA	0
%5 Theracal	4
%1 3'lü PAT	1
%5 Biodentin	3
%5 Neoliner LC	6
%5 Bio C repair	12
%1 2'li PAT+ %5 MTA	1
%1 2'li PAT+%5 Biodentin	2
Kontrol (muamelesiz)	2
%1 3'li PAT+ %5 MTA	1
%1 3'li PAT+%5 Biodentin	3

Biyoaktif materyallerin kontrol grubuna göre genotoksisite sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; MTA, kontrol grubuna benzer bir genotoksisite göstermiştir ($p<0.001$). Bio C Repair, MTA ve kontrol grubundan daha fazla bir genotoksisite göstermiştir ($p<0.001$). Theracal PT ve Bio C Repair benzer genotoksisite göstermiştir ($p<0.001$). Biodentin ve NeoLiner LC benzer genotoksisite göstermiş olsa da; bu değer kontrolden daha fazla ancak Theracal PT ve Bio C Repair'dan daha düşük bulunmuştur ($p<0.001$).

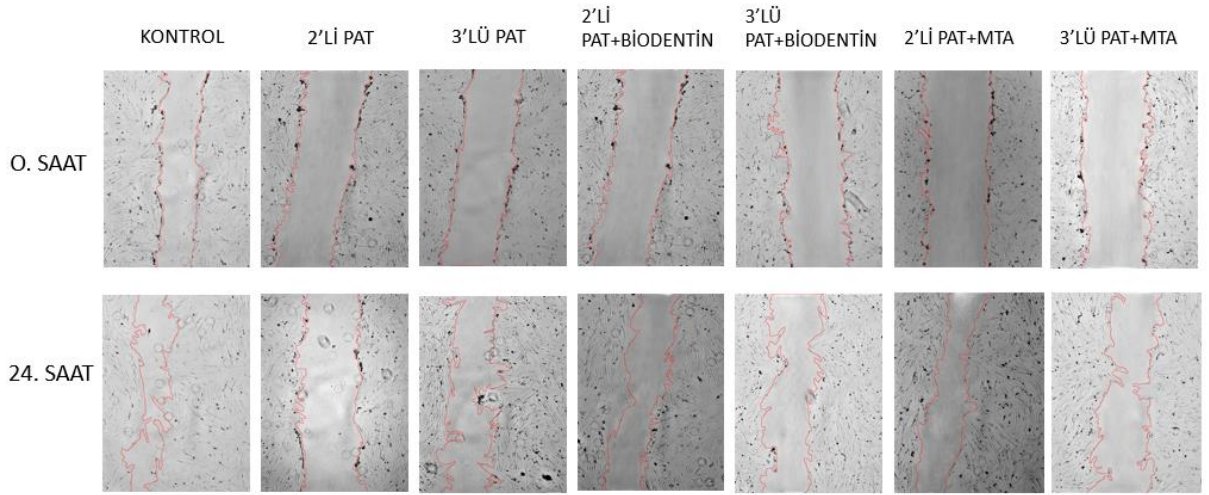
Antibiyotik patları arasındaki genotoksisite sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; 3'lü pat, 3'lü pat+ MTA, 3'lü pat+ Biodentin benzer sonuçlar vermiştir ($p<0.01$). 3'lü pat ve 3'lü pat+ MTA kontrol grubuna göre daha yüksek hasar oranı göstermiştir ($p<0.01$).

4.3. Yara Çizik Deneyi

Yara çizik deneyi sonucunda test edilen materyallerin yara iyileşme şekilleri şekil 20 ve 21'de özetlenmiştir.



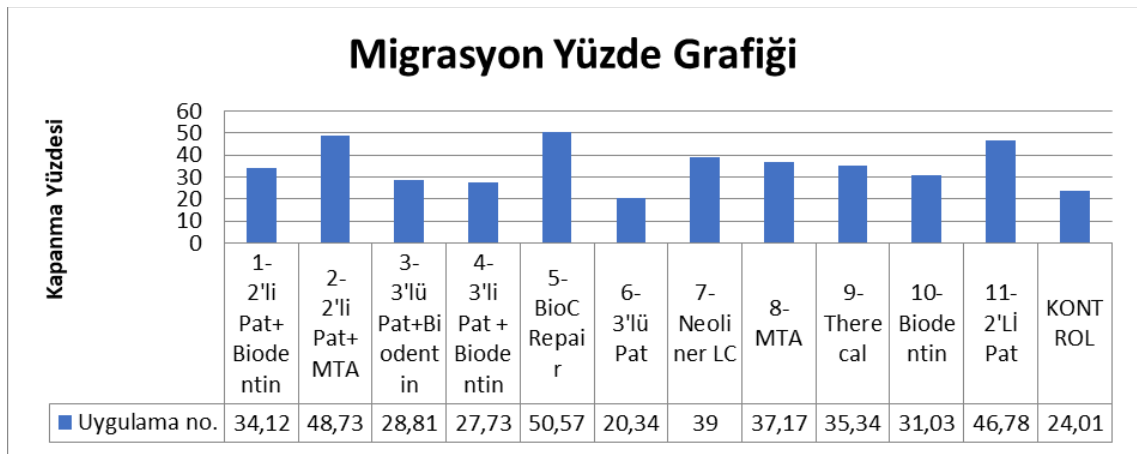
Şekil 19. Yara çizik deneyi sonucu biyoaktif materyallerin mikroskop görüntüsü



Şekil 20. Yara çizik deneyi sonucu antibiyotik patlarının mikroskop görüntüsü

24 saat sonundaki yara kapanma miktarının mikroskop görüntüsü şekil 20 ve 21’de gösterilmiş olup sonuçlar tablo 22’de özetlenmiştir. Çıkan sonuçlara göre hiçbir materyalin muamele edilmediği kontrol grubu %24 bir kapanma oranı göstermiştir. MTA ve Biodentin’in hücre göçü arttırdığı görülmüş olup kapanma yüzdesi sırasıyla %37 ve %31 bulunmuştur. Rezin içerikli NeoLiner LC ve Theracal PT’de hücre göçünü uyarılmış olup kontrol grubuna göre artmış yüzde oranı göstermiştir. En yüksek hücre göçü %50 ile Bio C Repair’de gözlenmiştir. Elde edilen veriler ikili antibiyotik patında da hücre göçünün arttırdığı göstermiş; ancak üçlü pat, kontrol grubuna göre daha düşük bir yüzde vermiştir.

Tablo 23. Test edilen materyallerin migrasyon yüzdeleri



5. TARTIŞMA

Çocuk diş hekimliğinde sıklıkla uygulanan tedavilerden biri de vital pulpa tedavileridir. Çürük veya travma sonucunda hastaların süt veya daimi dişlerine çeşitli pulpal tedaviler uygulanmaktadır. Bu tedaviler sonucunda eğer başarı sağlanırsa dişler vital bir şekilde korunabilmektedir. Vital pulpa tedavileri; direkt pulpa kaplaması, indirekt pulpa kaplaması ve pulpotomidir (Endodontology 2006).

Vital pulpa tedavilerinin geçmişte kalsiyum hidroksit ile yapılması önerilmekteydi. Malzeme biliminin ilerlemesiyle süt ve daimi dişler için günümüzde yeni tip materyaller geliştirilmiştir [174]. Artık tamirden ziyade peri-radiküler ve pulpal dokuların rejenerasyonunu sağlayabilecek biyouyumlu ve biyoaktif materyaller geliştirilmiştir. Özellikle biyoseramikler iyi biyouyumluluk ve biyolojik aktivite göstermesinden dolayı klinik pratik uygulamalarda yaygın olarak tercih edilmektedir [175].

Biz bu çalışmada vital pulpa tedavilerinde kullanılan yeni materyallerin sitotoksik ve genotoksik özelliklerini inceleyerek, günümüzde altın standart olarak kabul edilen MTA ve Biodentin ile karşılaştırdık. Bu yüzden yeni geliştirilen ve henüz üzerinde çok çalışma yapılmamış Bio C Repair, Theracal PT, NeoLiner LC materyallerini çalışmamıza dahil ettik. Bu materyaller arasında olası bir doz-yanıt ilişkisini gözlemleyebilmek adına tüm materyaller %1, %5, %10'luk konsantrasyonlarda hücrelere muamele edilmiştir.

Kolay uygulanabilmesi ve maliyet açısından daha avantajlı olması nedeniyle in vitro çalışmalar önem taşımaktadır. Genotoksisite ve sitotoksisite değerlendirilmesinde de sıklıkla hücre kültürü çalışmaları kullanılmaktadır [176], [177], [178]. Bu nedenle çalışmamızda in vitro testlerden faydalandık.

Laboratuvar ortamında sitotoksisite testleri planlanırken, test edilecek malzemelerin pratikteki kullanım şeklinin doğrudan ya da dolaylı temas ile taklit edilmesi hedeflenmelidir. İndirekt temas yönteminde, malzemeler ile hücreler arasına milipor filtre, dentin bariyeri ya da agar kaplama gibi katı bir katman yerleştirilmesi önerilir. Direkt temas yöntemi ise malzemelerden elde edilen ekstraktların hücrelere uygulanması veya malzemelerin doğrudan hücrelerin üzerine yerleştirilmesi ile gerçekleştirilir [179], [180]. Çalışmamızda direkt temas yöntemiyle elde edilen ekstratlar hücrelere muamele edilmiştir.

Vital pulpa tedavilerinde dentin tübülleri ile aracılığıyla veya doğrudan pulpa dokusuyla materyal arasında bir temas olmaktadır. Bu temas nedeniyle materyalin biyoyumluluğu klinisyenler açısından önemlidir. Sitotoksikite gösteren materyaller pulpada enflamasyona yol açabilir; bu da geri dönüşümsüz şekilde pulpayı tehlikeye atıp, ve pulpa nekrozuna yol açabilir [181], [182], [183]. Bu durum seçilecek malzemenin biyoyumlu olması açısından önem taşımaktadır. Çalışmamızda biyoyumluluğu değerlendirmek amacıyla hücrelere MTT testi uygulanmıştır.

Biyoyumluluk sadece MTT testi ile değerlendirilmez. Bu test biyoyumluluğun sadece bir yönüdür. İlave olarak sitokompabilite açısından hücre apoptozu, hücre göçü ve yapışması gibi bazı parametreler de değerlendirilmelidir [184]. Yaptığımız çalışmada MTT testine ilaveten hücrelerdeki genotoksikite tespiti için Comet testi ve hücre göçünü değerlendirmek için de Wound Healing Yara Çizik deneyi uygulanmıştır.

Çok derin kavitelerde dentin kalınlığı 0.25 ile 0.1 mm kaldığında ya da direkt pulpa açığa çıktığında pulpa hücreleri ilgili bölgeye göç edip farklılaşarak tersiyer dentin oluşumunu uyarır [185]. Biyoaktif materyallerin iyileşme sürecini geciktirebilecek ya da hızlandırabilecek maddeler saldırdığı iyi bilinmektedir [186]. Bu nedenle, hücrelerin migrasyonu iyileşme için önem bir rol oynar. Pulpal inflamasyon veya yaralanma sonrası hücre göçünü belirtmek amacıyla yara iyileşme testi gerçekleştirilmiştir. Bu test ile materyaller arası göç yeteneği karşılaştırması yapılmıştır.

Singh ve arkadaşları 1988'de, X-ışınlarına ve hidrojen peroksit maruz kalan hücrelerdeki DNA hasarını kantitatif olarak ölçmek için basit bir teknik tanımladılar. Bu teknik, daha sonra "Comet testi" olarak tanındı. Bu test duyarlılığı ile tek hücrelerde DNA hasarını tespit etme kabiliyetiyle öne çıktı. Genotoksikiteyi ölçen başka testler olmasına rağmen, düşük maliyeti, çok yönlülüğü ve güvenilir sonuçlar elde etme yeteneği sayesinde, Comet testi günümüzde çok popülerdir [187], [188]. Yaptığımız çalışmada materyallerin ne kadar gen hasarı bıraktığını tespit edebilmek için hücrelere Comet testi yapılmıştır.

Mevcut çalışmada, SDPKH hücrelerinin sinir krest hücrelerinden doğrudan türemiş olmaları ve daha düşük olgunluk düzeyine sahip olmaları sebebiyle tercih edilmiştir. Bu hücreler, diğer kök hücre kaynaklarına nazaran daha hızlı bir çoğalma oranı sergilemektedir. SDPKH'in, daimi diş pulpası kök hücreleri (DPKH) ve kemik iliği mezenkimal kök hücrelerine (KIMKH) kıyasla farklı hücre tiplerine dönüşme kapasitesi

daha yüksektir. SDPKH, odontoblast, osteoblast, kondroblast, nöronlar ve adipositler gibi çeşitli hücre türlerine dönüşebilme yeteneğine sahiptir. SDPKH'in popülasyonun iki katına çıkma (PD) değeri 140'ın üzerinde olup, bu oran DPSC (60–120 PD) ve BMMSC (30–50 PD) ile karşılaştırıldığında oldukça iyidir [189].

Diğer çalışmalardan farklı olarak [190], [191] mevcut çalışmamızda; MTA, Biodentine, Neoliner LC, Theracal PT, Bio-C Repair gibi biyoaktif materyallerin işlevsel farklılaşma özelliklerini doğrudan temas yöntemiyle test etmek için model hücre hattı olarak SDPKH'i kullanılmıştır.

Çalışmamızda kalsiyum silikat içerikli materyalleri yüksek biyouyumlulukları, rejeneratif özellikleri sayesinde dentin köprüsü oluşturmaları ve osteokondüktif özellikleri sebebiyle tercih ettik [192]. Kalsiyum silikat içeren materyallerden en yaygın kullanılan ve bilineni MTA'dır [193]. MTA'nın renkleşme, geç sertleşmesi gibi dezavantajlarından dolayı yeni bir materyal olan Biodentin geliştirilmiştir. Biodentin trikalsiyum silikat, dikalsiyum silikat ve zirkonyum oksit içermektedir [194]. Mevcut çalışmamızda, tüm malzemelerin (%5 ve %10'luk antibiyotik patları hariç) ISO 10993-5 standardına göre önerilen minimum %70 bağıl hücre canlılığını sağladığı görülmüştür. Aynı zamanda bu malzemeler hücre proliferasyonunu gösteren %100'ün üzerinde hücre canlılığı değerleri göstermiştir. Bu çalışmada MTA Angelus'un tüm seyreltmelerinde hücre sayısı artmış olup en yüksek hücre artışı %1'lik dilüsyonda (%134,9) görülmüştür. Aynı şekilde Biodentin'in tüm dilüsyonlarında hücre artışı görülmüş olup en yüksek %1'lik dilüsyonda (%150,4) hücre artışı olmuştur. %1 dilüsyondaki Biodentin MTA Angelus'dan daha fazla hücre artışı göstermiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Gonzalez ve arkadaşları, çeşitli Biodentin dilüsyonlarının mevcut olduğu çalışmalarında hücre canlılığının MTA Angelus ve Theracal LC'den anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmiştir. Biz de çalışmamızda Gonzalez ve arkadaşları gibi SDPKH'ni kullandık ve onların çalışmalarıyla uyumlu sonuçlara ulaştık [191]. Farklı bir çalışmada Poggio ve arkadaşları da, fare odontoblast hücre hattı (MDPC23) kullanarak Biodentin'in MTA Angelus ve ProRoot MTA'ya kıyasla daha biyouyumlu olduğu sonucunu rapor etmişlerdir [195].

Bir başka çalışmada, insan periodontal ligament fibroblastları ile farklı inkübasyon sürelerinin ardından MTA, CEM (Kalsiyumla zenginleştirilmiş siman) ve

Biodentin'in etkileri incelenmiştir. MTA ve CEM, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrasında %90'ın üzerinde hücre canlılığı sergilemiş; ancak 72 saatlik inkübasyon süresinin ardından hücre canlılığında belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Biodentin, 24 saatlik inkübasyon süresinin ardından anlamlı derecede daha düşük bir hücre canlılığı (%73) göstermiş, buna karşın 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde %90'ın üzerinde hücre canlılığı gözlemlenmiştir [196].

Zanini ve arkadaşları, Biodentin ile uyarıldıktan 2 gün sonra fare pulpa hücrelerinin çoğalmasında belirgin bir düşüş gözlemlediler; bu durumun materyalden kalsiyum hidroksit salınımı ve pH seviyesindeki artıştan kaynaklanabileceğini öne sürdüler [197]. Benzer bir bulgu, Luo ve meslektaşları tarafından Biodentin'e maruz kalan insan dental pulpa kök hücreleri ile elde edildi [198]. Bu sonuçlardaki farklılık, değerlendirilen hücre tipine, sitotoksiteyi belirleme yöntemine, hücrelerin materyallerle doğrudan temas durumuna, kullanılan materyallerin konsantrasyonuna ve incelenen zaman dilimlerine bağlı olabilir.

Yaptığımız çalışmada yara çizik deneyi uygulanmış olup MTA' da hücre göçü yüzdesi %37, Biodentin'de %31 olarak bulunmuştur. Her iki malzeme de hiçbir materyal uygulanmayan kontrol grubuna göre daha fazla göç yüzdesi vererek hücrelerin migrasyon yeteneğini indüklediğini düşündürmektedir. Sonuçlarımız Biodentin ve MTA'nın SDPKH'inde hücre göçünü arttırdığını gösteren benzer bir çalışmayla uyumludur [191]. Zhu ve arkadaşları da bizim çalışmamızda bulduğumuz sonuçlara benzer olarak MTA'nın DPKH'in göçünü arttırdığını bildirmişlerdir [199]. Benzer bir çalışmada da ProRoot MTA ve Biodentin'in 24 saat içinde hücre göçünü teşvik ettiği rapor edilmiştir [200].

Omidi ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada CEM ve Biodentin'in hücre göçünü MTA'dan daha çok uyardığını gözlemlediler [201]. Sonuçlarımızdaki bu farklılık yazarların hücre göçü için Transwell göç testi gibi farklı bir test metodu kullanmasından, MTA'nın hazırlandıktan sonra hücrelere muamele edilme süresinin farklılığından ve test edilen hücrenin farklılığından kaynaklı olabilir.

Kim ve arkadaşları yara çizik deneyi ile Biodentin, MTA, Theracal LC'yi değerlendirdikleri bir çalışmada MTA ile Biodentin arasında hiçbir zaman diliminde hücre göçü açısından anlamlı bir fark gözlemlemediler bununla birlikte Theracal LC'nin hücre göçünü azalttığını buldular [202]. Mevcut çalışmada 24 saatlik test sonucunda

MTA ve Biodentin'in hücre göçünü arttırmış olduğunu bulduk. Bu sonuç literatürdeki benzer çalışmalar ile uyum içindedir.

Hasweh ve arkadaşları SDPKH hücrelerinde bakılan migrasyon ve sitotoksosite testi sonuçlarına göre Biodentin'in 2 mg/ml, 0.2 mg/ml ve 0.02 mg/ml konsantrasyonlarında proliferasyon ve hücre göçünde önemli bir artış gözlemlediler, ancak daha yüksek Biodentin konsantrasyonunun (20 mg/ml) hücreler üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini rapor etmişlerdir [203]. Bir başka çalışmada, Biodentin, MTA ve Kalsiyum hidroksitin SDPKH'ler üzerindeki migrasyon etkisi incelenmiş ve Kalsiyum hidroksit ile karşılaştırıldığında Biodentin ve MTA'da artmış hücre göçü rapor edilmiştir [204].

Kunert ve arkadaşları Biodentin, MTA Angelus, ProRoot MTA, Activa BioACTIVE gibi biyoaktif materyallerin genotoksositeye değerlendirdikleri bir çalışmada Theracal LC dışındaki malzemelerde önemli bir DNA hasarı rapor etmemişlerdir [205]. Yapılan başka bir çalışmada da Biodentin, MTA ve Theracal LC'nin Comet testi ile fare fibroblastları üzerindeki genotoksik etkisine bakılmış ve hiçbir materyal genotoksik bulunmamıştır [206]. Bu çalışmaların sonuçlar genotoksosite açısından MTA ve Biodentin bulgularımızla uyumludur.

Başka bir çalışmada L929 hücreleri üzerinde yapılan Comet testinde Dermabond ve MTA'nın, hiçbir zaman diliminde DNA hasarına neden olmadığı; TheraCal'in tüm zaman dilimlerinde DNA hasarına neden olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendiği rapor edilmiştir. Yazarlar Genotoksosite verilerinde, MTA ve Dermabond'un pozitif kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark göstermediğini bulmuşlardır [207]. Bizim çalışmamızda da MTA materyali genotoksosite göstermemiştir ve kontrol grubuyla benzer sonuçlar vermiştir. Bu çalışmadaki Theracal ilk nesil olduğu için sitotoksosite açısından bizim çalışmamızdan farklı sonuç verdiği düşünülmektedir.

Test edilen bir diğer biyoaktif materyalimiz Theracal PT'dir. Çalışmamızın MTT test sonuçlarına göre, aralarında anlamlı bir fark olmaksızın Theracal PT'nin her üç dilüsyonunda da hücre çoğalması görülmüştür. Bu çoğalma Biodentinin en yüksek çoğalma gösteren %1'lik dilüsyonuna yakındır. Yapılan başka çalışmalarda da konsantrasyonlar arası fark bulunamamıştır ve sitotoksik etki gözlemlenmemiştir [208], [209]. Sanz ve arkadaşları TheraCal PT, öncüsü olan TheraCal LC'ye kıyasla DPKH'ler üzerinde in vitro sitotolerans ve mineralizasyon potansiyeli açısından iyileştirilmiş bir

performans gösterdiğini ve Biodentine ile karşılaştırılabilir biyolojik özelliklere sahip olduğunu raporlamışlardır [208].

Rodriguez-Lozano ve arkadaşlarının Theracal PT ve Theracal LC'yi karşılaştırdığı çalışmada çıkan sonuç yaptığımız çalışmayla uyumlu olarak Theracal PT'yi daha biyoyumlu bulmuş ancak MTA grubu diğer gruplardan daha fazla hücre canlılığı göstermiştir. Bizim çalışmamızda MTA ile Theracal PT arasında hücre çoğalması açısından anlamlı bir fark tespit edilememiştir [209].

Çalışmamızda yara çizik deneyi ile 24. saatteki göç yüzdesi açısından Theracal PT, Biodentin'den yüksek MTA'dan düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar Theracal PT'nin migrasyonu desteklediğini düşündürmektedir. Yapılan başka bir çalışmada yara çizik deneyi ile hem Biodentin hem Theracal PT'nin 1:4'lük dilüsyonları 48. ve 72. saatte kontrol grubuna benzer göç sergileyerek çalışmamızla benzer sonuçlar göstermiştir [208]. Başka bir çalışmada migrasyon için yara çizik deneyine bakılmış ve seyreltilmemiş Theracal PT ile kültürlenmiş DPKH'lerin sergilediği hücre migrasyonu oranları, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72. saatlerde önemli ölçüde düşük bulunmuş, ancak bu etki 1:2 ve 1:4 dilüsyonlarında belirgin bulunmamıştır [209]. Bunun sebebi olarak bakılan hücrelerin farklılığı, seyreltme oranları ve bakılan süre gösterilebilir.

Küden ve arkadaşlarının Theracal PT, Theracal LC ve MTA'yı değerlendirdikleri çalışmalarının test sonucuna göre; Theracal PT ve Theracal LC'de 3.gün canlı hücre tespit ederken, 7.gün canlı hücre kalmadığını göstermişlerdir [210]. Çalışmalarında bu sonucu elde etmelerinin nedeni olarak, materyallerin konsantrasyonlarını ve çalışma sürelerini göstermişlerdir.

Panda ve arkadaşları yaptığı çalışmada MTT testi ile hücre canlılığını 24, 48 ve 72 saat olarak incelemiş ve PRF'nin Theracal PT ve MTA'dan daha fazla hücre proliferasyonunu uyardığını göstermişlerdir. Theracal PT'nin 72.saat MTT test sonuçlarının 24 ve 48. saatten belirgin şekilde yüksek olduğu ve en yüksek sonucu PRF'ten sonra Theracal PT'nin gösterdiği sonucuna varmışlardır [211]. Saber ve arkadaşları yaptıkları başka bir çalışmada Theracal PT, NeoPutty ve Biodentin'i sitotoksikite ve hücre göçü bakımından karşılaştırmışlardır. Asıl amaçları rezin içeren ve içermeyen kalsiyum silikat içerikli materyalleri karşılaştırmak olan çalışmalarında bizimle benzer şekilde MTT testi ve Yara çizik deneyini kullanmışlar. Materyallerin 1:1, 1:2, 1:4 dilüsyonlarda 7 gün boyunca hücrelere etkisini incelemişler ve sonucunda 1:1

seyreltmede Theracal PT en düşük hücre canlılığını gösterirken diğer dilüsyonlarda 3. ve 7.gün tüm materyallerin benzer hücre canlılığı gösterdiğini rapor etmişlerdir. Hücre göçü sonuçlarına göre de TheraCal PT'nin, açık yara kapanma yüzdesi açısından en düşük değeri verdiğini göstermişlerdir [212]. Bizim çalışmamızda Theracal PT'nin en düşük dilüsyonunda Biodentin'den daha az hücre çoğalması görülürken diğer dilüsyonlarda Theracal PT de daha fazla hücre çoğalması görüldü ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yara kapanma yüzdesi olarak Biodentin, Theracal PT'den düşük etkili bulunmuş olup her iki materyalin de kontrole kıyasla hücre çoğalmasını indüklemiş olabileceği düşünülmektedir. Çalışmalarımız arasındaki farklılığın nedenini kullanılan hücre tipine ve test süresine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Novotna ve arkadaşları farklı konsantrasyonlarda ApaCal ART, Theracal LC gibi rezin içerikli pulpa kaplama ajanlarını MTT testi kullanarak Biodentin ile karşılaştırdılar. Çalışmalarında tüm konsantrasyonlarda, incelenen tüm rezin içerikli malzemeler için hücre canlılığının Biodentin'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğunu buldular. Theracal PT'de büyük düşüşler gözlemlendiğini bildirdiler [213]. Bizim çalışmamızda konsantrasyonlar %10, %5, %1 olduğu için aksine hücre çoğalması görülmüştür. Aynı zamanda %1'lik dilüsyon haricinde Theracal PT, Biodentin'den daha fazla çoğalma göstermiştir. Bu farklılık sebebinin konsantrasyonlardan kaynaklı olabilir. Ayrıca mevcut çalışmada proliferasyon potansiyeli yüksek SDPKH hücrelerinde inceleme yapmışken yazarlar çalışmalarında fare fibroblastı kullanmışlardır. İn vitro sitokompalite testlerinden elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda Theracal PT tüm seyreltilerinin SDPKH'lere karşı bir sitotoksosite göstermediğini görülmüştür.

Bilgilerimiz dahilinde dental literatürde Theracal PT ile ilgili hiçbir genotoksosite çalışması bulunamamıştır. Mevcut veriler ışığında Biodentin ve yine rezin esaslı NeoLiner LC ile karşılaştırmamız sonucunda; genetik hasar indeksi Theracal PT için, NeoLiner'den ve Biodentin yüksek bulundu. İstatistiksel olarak kontrol grubu ve diğer biyoaktif materyallerden daha yüksek genotoksosite gösteren Theracal PT; Bio C Repair ile benzer genotoksosite göstermiştir.

Çalışmamızda Bio-C Repair'in sitotoksitesine, hücresel göçe etkisine ve genotoksitesine bakılmıştır. Yapılan MTT testi sonucuna göre tüm derişimlerinde hücre çoğalmasını uyarmış olup %10'luk derişiminde en az hücre çoğalması görülmüştür; ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Benetti ve arkadaşları da yaptıkları

çalışmada MTA Repair HP ve Bio-C Repair'ın biyouyumlu olduğunu ve biyomineralizasyon kapasitesine sahip olduğunu bildirdiler [214]. Aynı şekilde Pedrosa ve arkadaşları da Biodentine, Bio-C Repair ve MTA Repair HP, PDLKC'lerin proliferasyonunu indükleyebildiğini göstermişlerdir [215].

Yapılan başka bir çalışmada NIH 3T3 üzerinde yapılan MTT testi sonuçlarına göre; Bio-C Repair dahil test edilen Biodentin, MTA Repair HP ve Bio-C Repair İon+ gibi diğer materyallerinde sitotoksik davranış sergilediğini ve MTA'nın en toksik olduğunu bulunmuştur. Ayrıca mineralize doku oluşumunu arttırmak amacıyla metal iyonları eklenen Bio-C Repair İon+'ın orijinal versiyonundan daha az hücre canlılığı göstermiş olduğu sonucuna varılmıştır. Buna sebep olarak da metal iyonlarını gösterilmiştir [216]. Çalışma sonuçlarının farklılık gösterme sebebi; her biri materyallere farklı tepki veren farklı hücre grubunun kullanılması olabilir. Aynı zamanda bu çalışmada biyoaktif materyaller farklı derişimlerde bakılmamıştır.

Abrao ve arkadaşları MC3TE osteoblastik hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmalarında Bio-C Repair ve farklı biyoaktif materyallerin sitotoksitesini ve genotoksitesini incelemişlerdir. MTT test sonucuna göre MTA Angelus ve MTA-HP kontrol grubuna göre fark göstermezken Bio-C Repair ve Endosequence BC Root Repair'in (ERRM) hücrelerde azalma gösterdiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacı ERRM'nin hücre canlılığının Bio-C Repair'den az olduğunu; ancak hücre canlılığı %70'in altına düşmediği için sitotoksik olabileceğini rapor etmişlerdir. Yazarlar Bio-C Repair'in üretici talimatlarında yazdığı gibi 12 saatte sertleşmediği için hücrelere temasta daha sitotoksik çıkmış olabileceğini tartışmışlardır [217]. Bizde malzemelerin karıştırma aşamasında Bio-C Repair'in belirtilen koşullarda bekletildiği halde tam olarak sertleşmediğini gözlemledik. Ancak bizim çalışmamızda MTT testi malzeme 4 gün bekletildikten sonra yapıldığı için sonuçlar farklı çıkmış olabilir. Aynı zamanda çalışmada test edilen hücrelerimizin farklılığı da sonuçları etkilediğini düşünmekteyiz. Aynı çalışmada genotoksositeye de bakılmış testin 1.günü tüm grupların benzer sonuçlar verdiğini ancak 7.gün Bio-C Repair ve ERRM'nin MTA-HP ve MTA Angelus'tan önemli ölçü de daha yüksek sonuçlar verdiğini gözlemlediler. Bu çalışmada [217] genotoksositeye mikronükleus testiyle bakılmış ve Bio-C Repair'in diğer materyallere göre daha genotoksik olduğu sonucuna varmışlardır. Mevcut çalışmamızda da bu

çalışmayla uyumlu olarak Bio-C Repair'in diğer baktığımız biyoaktif materyallere göre daha genotoksik olduğunu gözlemledik.

Immich ve arkadaşlarının L929 hücrelerini kullanarak yaptığı hücre canlılığı testinde Bio-C Repair'in hücre canlılığına etkisi, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla uyumludur. Biodentin, ProoRoot MTA, MTA Angelus, EndoSequence inceledikleri diğer materyal gruplarıdır. Çalışmalarında tedavi edilmeyen kontrol hücrelerinin canlılığını %100 olarak kabul etmişlerdir. Yazarlar çalışmalarında TheraCal'in en yüksek hücre canlılığını gösterdiğini bulmuşlardır [218].

Bio-C Repair ile ilgili yapılan başka bir çalışmada; karşılaştırılan Biodentin, ProRoot MTA ve Bio- Repair C arasında MTT testi sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ve hiçbir DPKH'ler üzerinde herhangi bir sitotoksik etki göstermediği rapor edilmiştir [219].

Silveira ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada; Bio C Repair, Biodentin, Theracal LC ve Bbio membran'ın SDPKH'ler üzerindeki sitotoksik etkisini MTT testi ile incelediler. Testin sonucunda 1:1 dilüsyonda Bio C Repair ve Biodentin düşük hücre canlılığı göstermiş olduğunu ve negatif kontrolle anlamlı bir fark tespit edilmediğini gözlemlediler. 48. saatte yine 1:1 dilüsyonda Bio C Repair'in sitotoksikite gösterdiğini rapor etmişlerdir. 1:2 dilüsyonda Bio C Repair; Biodentin hariç tüm materyallerden daha yüksek canlılık gösterdiğini ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğunu buldular. Tüm sürelerde (24, 48, 72 saat) Biodentin ve Bio C Repair 1:1 dilüsyonunu 1:2 dilüsyondan sitotoksik buldular. Bizde de daha seyreltik dilüsyonlarda hücre çoğalması daha fazla olmuştur. Ancak bizim çalışmamızda hiçbir dilüsyonda Bio C Repair sitotoksik etki göstermemiştir bunun sebebini tüm örneklerimizin daha fazla seyreltilmiş olmasıyla açıklayabiliriz [220].

Maru ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Bio C Repair, Biodentin ve MTA Repair HP'nin sitotoksikitesi karşılaştırıldı. MTT testi sonuçlarına göre 1:4 dilüsyonda hücre canlılığı sıralamasını yüksekten düşüğe doğru Biodentin, Bio C Repair ve MTA Repair HP olarak buldular [221]. Bizim çalışmamızda yüzde olarak en çok Biodentin sonra Bio C Repair ve MTA Angelus olsa da MTA ve Bio C Repair arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiş ve hepsi birbirine yakın sonuçlar göstermiştir. Bunun sebebi bizim kullandığımız dilüsyonların daha seyreltik olması olabilir.

Campi ve arkadaşları çalışmalarında MTA, Biodentine ve Bio-C Repair'in sitotoksitesine ve hücre göçüne baktıkları çalışmalarında. 1:1 seyreltmede tüm materyaller kontrol grubuna göre daha düşük hücre canlılığı gösterdiğini ancak diğer seyreltilerinde kontrol grubuna benzer ya da daha yüksek hücre canlılığı gösterdiğini buldular. Hücre göçü testinde MTA ve Biodentin 2. günde daha fazla hücre göçü gösterdiğini ve tüm materyallerde 3 günde tam göç sağlandığını buldular [222]. Çalışma bizim sonuçlara uyumlu olsa da göç sonuçlarındaki bu farklılık incelenen farklı hücre gruplarına bağlı olabilir.

Mevcut çalışma bilgilerimiz dahilinde, bu NeoLiner LC'yi değerlendiren ilk çalışmadır. Bu çalışmada vital pulpa tedavilerinin başarısı açısından önemli olan hücre proliferasyonu, göçü ve genotoksitesini değerlendirilmiştir. Çıkan sonuçlar doğrultusunda MTT testine göre NeoLiner LC kendisi gibi rezin içeren Theracal PT ile karşılaştırıldığında her ikisi de hücre çoğalmasını uyarmış olup hiçbir dilüsyonunda aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Ayrıca MTA ile karşılaştırdığımızda her üç dilüsyonunda da MTA'dan daha fazla hücre çoğalmasını uyarmış olsa da aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlenmiştir.

Genotoksitesiyi değerlendirmek için yaptığımız Comet testi sonuçlarına göre; NeoLiner LC'nin genotoksitesini MTA'dan yüksek bulsak da; Theracal PT ve Bio C Repair'e göre daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Her ne kadar üretici firma NeoLiner LC'nin direkt pulpa kaplaması için uygun olmadığını belirtmiş olsa da konu hakkında ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Wound healing hücre göçü testi sonuçlarına göre NeoLiner LC'nin Theracal PT'ye oranla daha yüksek yara kapanma yüzdesi verdiğini ve her iki materyalinde kontrole oranla hücre göçünü arttırdığı gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda değindiğimiz bir diğer konu da Lezyon sterilizasyonu ve doku onarımı (LSDO)'dır. Çocuklarda kök kanal sisteminin karmaşıklığı, kooperasyon eksikliği ve bazı komplikasyonların yaşanması LSDO'nun kanal tedavisine bir alternatif olarak uygulanmasına yol açmıştır [223]. LSDO'nun en önemli aşamalarından biri pulpa kanal sisteminin dezenfeksiyonu için antibiyotik patının hazırlanmasıdır. En çok kullanılan kombinasyonlardan biri de, Takushige ve arkadaşları tarafından önerilen metronidazol- siprofloksasin-minosiklin karışımıdır [224]. Ancak antibiyotik patları içerisine katılan Minosiklinin dişlerde renklenme yapması sebebiyle yeni

kombinasyonlar aranmaya başlanmıştır. Amoksisilin, tetrasiklin, fosfomisin, klindamisin ve sefaklor yeni denenen antibiyotikler arasında gösterilmiştir [225].

Minosiklin çıkartılarak yerine klindamisin eklendiği bir çalışmada; metronidazol-siprofloksasin-minosiklin patıyla metronidazol-siprofloksasin-klindamisin patı karşılaştırılmıştır. MTT bulgularının analizi, 100 µg/ml mikrosiklin-siprofloksasin-klindamisin ve 200 µg/ml mikrosiklin-siprofloksasin-minosiklin kullanımının, kontrol grubuna kıyasla ilk 24 saat içinde kök hücreler üzerinde olumsuz bir sitotoksik etki yaratmadığı gösterilmiştir. Hücre canlılığı daha yüksek konsantrasyonlarda azaldığını, ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olmadığını raporlanmıştır [226].

Dr. Takushige, Dr. Hoshino, ve Dr. Sato Lezyon sterilizasyonu ve doku onarımı için ikili antibiyotik patı (Siprofloksasin-Metronidazol) kullanan ilk araştırmacılarıdır. Araştırmacılar, başlangıçta üçlü antibiyotik patını geliştirmişlerdir, ancak daha sonra, ikili antibiyotik patının da etkili olabileceğini gösteren çalışmalar yapmışlardır.

Üçlü antibiyotik patı aynı zamanda revaskülarizasyonda da kullanılmaktadır; ancak kullanılan kesin doz henüz belirlenememiştir. Görünüşü göre şu anda aşırı dozlar kullanılmakta ve bu durum kalan hücrelere zarar vererek dokunun iyileşmesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Yüksek konsantrasyonlu üçlü patın kalan pulpa dokusuna ve periradiküler alana zarar verebileceği birçok araştırmacı tarafından tartışılmıştır [227], [228].

Mevcut çalışmamızda ikili antibiyotik patının ve tetrasiklin-metronidazol-siprofloksasin içeren üçlü antibiyotik patının sitotoksitesi değerlendirilmiştir. Aynı zamanda kliniği birebir taklit etmesi amacıyla önce antibiyotik patları daha sonra MTA veya Biodentin hücrelere muamele edilmiştir. Çıkan sonuçlarda %1'lik derişimde üçlü patın %1'lik ikili pattan daha az hücre çoğalmasını uyarmasına rağmen aralarında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Artan derişimlerde (%5 ve %10) her iki antibiyotik patı da hücreler için sitotoksik etki göstermiştir ancak ikili patın her iki dilüsyonunda da bu hücre azalma anlamlı olmamıştır.

Sabrah ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ikili ve üçlü antibiyotik patını karşılaştırdıkları çalışmalarında LDH sitotoksite testleri için ikili patın en yüksek iki dilüsyonu (10 ve 1 mg/ml), üçlü patın işe en yüksek üç dilüsyonunun (10, 1 ve 0.5 mg/ml) DPKH'ler için sitotoksik olduğunu göstermiştir. WST-1 testlerinde ise 0.125 mg/ml hariç ikili ve üçlü patların tüm dilüsyonları canlılığı olumsuz etkilediğini gözlemlediler. Ayrıca

üçlü patın 0.125 mg/ml'lik dilüsyonu DPKH canlılığını arttırdığını bularak bizim çalışmayla benzer sonuçlara ulaşılar. Yaptıkları bu çalışmayla ikili ve üçlü antibiyotik patlarının 0.125 mg/ml konsantrasyonunun hem sitotoksik olmadığını hem de bakteriyel biyofilmi önemli ölçüde azalttığını buldular [229]. Tespit edilen sitotoksik konsantrasyonlar arasındaki fark, kullanılan hücre türünün farklılığıyla (onlarda DPKH biz de SDPKH) açıklanabilir. Sonuçlarımız Ruperal ve arkadaşları tarafından bildirilen ikili ve üçlü patın kök hücreler üzerindeki güvenli konsantrasyonunu 0.1 mg/ml bulan çalışmayla uyumludur [230].

Yapılan tüm bu çalışmalar gibi bizim çalışmamız da antibiyotik kombinasyonlarının yüksek konsantrasyonlarının kök hücreler üzerinde sitotoksik etki yaratabileceğini göstermektedir. Ancak seyreltilmiş formlarının kullanılamama sebebi, bu formların macun kıvamında değil de sıvı olması ve bu nedenle uygulama zorluğu olabilir. Seyreltilmiş antibiyotiklerin bir taşıyıcı madde içinde kullanılması, antibiyotiklerin kök kanalına etkili bir şekilde iletilmesi için iyi bir seçenek olabilir. Bu düşük antibiyotik konsantrasyonlarını kök kanalına iletmenin bir diğer yolu da 3D bir iskele sistemi kullanmak olabilir. Son çalışmalar, endodontik rejenerasyonda kök kanal alanını dezenfekte etmek için biyobozunur antibiyotik yüklü bir iskele kullanmayı önermektedir [231], [232].

Çalışmamızda biyoaktif materyaller için MTT, Comet ve Wound Healing yara çizik deneyi sadece 24 saat değerlendirilebilmiştir. Yapılacak yeni çalışmalarda bu sürenin arttırılması materyalin zamana bağlı etkisini daha iyi anlamamıza sebep olabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Mevcut çalışmada test edilen biyoaktif materyallerin rejeneratif endodontik tedavide ve LSDO'da kullanılan antibiyotik patlarının sitotoksitesi, genotoksitesi ve hücre göçü değerlendirildi ve aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı;

- 1- Test edilen tüm biyoaktif materyallerinin SDPKH'de proliferasyona sebep olduğu ve en çok çoğalma materyallerin %1'lik konsantrasyonunda görülmüştür.
- 2- Antibiyotik patlarının %5'lik ve %10'luk konsantrasyonları, %30'dan daha fazla hücre ölümüne sebep olarak sitotoksik etki göstermiştir. Bu durumda LSDO, rejeneratif endodontik tedavi gibi tedavilerde düşük konsantrasyonlarda kullanımı daha doğru olabilir.
- 3- Comet testi sonuçlarına göre Bio C Repair ve Theracal PT'nin genotoksik indeksi ve hasarlı hücre sayısı diğer materyallere ve kontrole oranla istatistiksel olarak daha yüksek gözlemlenmiştir. Bu bulgu sonucunda indirekt kuafaj gibi tedavilerde kullanımı daha doğru olabilir.
- 4- Theracal PT, öncüsü olan Theracal LC'ye göre daha umut vaad edici sonuçlar vermiş olsa da göstermiş olduğu genotoksik verilerden ötürü daha dikkatli kullanımı önerilebilir. Bu materyal ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.
- 5- Yara çizik deneyi sonucunda tüm biyoaktif materyallerin hücre göçünü uyardığı görülmüştür. En yüksek hücre göçü Bio C Repair'da bulunmuştur.
- 6- Yeni üretilen NeoLiner LC hücrelere sitotoksik etki göstermemiş, Comet testinde kabul edilebilir sonuçlar vermiştir. Aynı zamanda hücre göçünü arttırmış olup umut verici bir materyal olarak görülebilir. Bu materyal ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

- [1] A. BaniHani, C. Deery, J. Toumba, T. Munyombwe, ve M. Duggal, “The impact of dental caries and its treatment by conventional or biological approaches on the oral health-related quality of life of children and carers.”, *Int J Paediatr Dent*, c. 28, sy 2, ss. 266-276, Mar. 2018, doi: 10.1111/ipd.12350.
- [2] A. L. Andreasen JO, Andreasen FM, *Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth*, 4 th. oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2007.
- [3] C. Primus, *Bioactive Ceramics for Pediatric Dentistry*. 2023. doi: 10.1007/978-3-031-23980-9_11.
- [4] R. J. Lamont ve P. G. Egland, “Dental Caries”, içinde *Molecular Medical Microbiology*, sy 4, 2014, ss. 945-955. doi: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00052-4.
- [5] E. Reich, A. Lussi, ve E. Newbrun, “Caries-risk assessment”, *Int Dent J*, c. 49, sy 1, ss. 15-26, Şub. 1999, doi: 10.1111/j.1875-595X.1999.tb00503.x.
- [6] F. (2004) Harris, N. O., ve Garcia-Godoy, *Primary Preventive Dentistry*. 2004.
- [7] G. H. W. Bowden, “The Microbial Ecology of Dental Caries”, *Microb Ecol Health Dis*, c. 12, sy 3, ss. 138-148, Oca. 2000, doi: 10.1080/089106000750051819.
- [8] J. R. Chin, J. E. Kowolik, ve G. K. Stookey, “Dental Caries in the Child and Adolescent”, içinde *McDonald and Avery's Dentistry for the Child and Adolescent*, Elsevier, 2016, ss. 155-176. doi: 10.1016/B978-0-323-28745-6.00009-0.
- [9] N. Tinanoff ve C. A. Palmer, “Dietary determinants of dental caries and dietary recommendations for preschool children”, *J Public Health Dent*, c. 60, sy 3, ss. 197-206, 2000, doi: 10.1111/j.1752-7325.2000.tb03328.x.
- [10] K. Peker ve G. Bermek, “Diş çürüklerinin etyolojisinde ve önlenmesinde fermente olabilen karbonhidratların önemi”, *J. Istanbul Univ. Fac. Dent.*, c. 42, s. 1, 2008.
- [11] A. G. Ferreira Zandoná, A. V. Ritter, ve R. S. Eidson, “Dental Caries”, içinde *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry*, Elsevier, 2019, ss. 40-94. doi: 10.1016/B978-0-323-47833-5.00002-2.

- [12] M. Balakrishnan, R. S. Simmonds, ve J. R. Tagg, “Dental caries is a preventable infectious disease”, *Aust Dent J*, c. 45, sy 4, ss. 235-245, 2000, doi: 10.1111/j.1834-7819.2000.tb00257.x.
- [13] ADA and DQA, “Guidance on caries risk assessment in children”, sy June, ss. 3-64, 2018, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: https://www.ada.org/~media/ADA/DQA/CRA_Report.pdf?la=en
- [14] American Academy of Pediatric Dentistry, “Considerations for Caries-Risk Assessment in an Essential Health Benefits Dental Plan for Children”, sy March, ss. 1-6, 2012.
- [15] Q. Zhang ve W. H. van Palenstein Helderma, “Caries experience variables as indicators in caries risk assessment in 6-7-year-old Chinese children”, *J Dent*, c. 34, sy 9, ss. 676-681, 2006, doi: 10.1016/j.jdent.2005.12.010.
- [16] D. T. Zero, “Dental caries process.”, *Dent Clin North Am*, c. 43, sy 4, ss. 635-64, Eki. 1999, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10553248>
- [17] L. Gorelick, A. M. Geiger, ve A. John, “Incidence of white spot Jbmxation after bonding and banding”, *Am J Orthod.*, c. 81, ss. 93-98, 1982.
- [18] Buchalla W, *Caries Management: Science and Clinical Practice*. 2013.
- [19] S. J. Roberson MT HO, *Sturdevant’s Art & Science Of Operative Dentistry*. 2002.
- [20] A. Mazzoni vd., “Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability”, *J Dent Res*, c. 94, sy 2, ss. 241-251, 2015, doi: 10.1177/0022034514562833.
- [21] L. Bjørndal ve I. A. Mjör, “Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 4: Dental caries--characteristics of lesions and pulpal reactions.”, *Quintessence Int*, c. 32, sy 9, ss. 717-36, Eki. 2001, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11695140>
- [22] C. M. S. Harald Heymann, Edward J. Swift, Andre V. Ritter, *Sturdevant’s art and science of operative dentistry*, 6 th. 2013.
- [23] T. Fusayama, K. Okuse, ve H. Hosoda, “Relationship between Hardness, Discoloration, and Microbial Invasion in Carious Dentin”, *J Dent Res*, c. 45, sy 4, ss. 1033-1046, Tem. 1966, doi: 10.1177/00220345660450040401.

- [24] C. P. Chan vd., “Effects of TGF- β s on the growth, collagen synthesis and collagen lattice contraction of human dental pulp fibroblasts in vitro”, *Arch Oral Biol*, c. 50, sy 5, ss. 469-479, 2005, doi: 10.1016/j.archoralbio.2004.10.005.
- [25] A. J. Smith, N. Cassidy, H. Perry, C. Begue-Kirn, J. V. Ruch, ve H. Lesot, “Reactionary dentinogenesis”, *International Journal of Developmental Biology*, c. 39, sy 1, ss. 273-280, 1995.
- [26] I. Mjor, “Dentin and pulp, Reaction patterns in human teeth”, 1983.
- [27] A. B. Fuks, “Vital Pulp Therapy with New Materials for Primary Teeth: New Directions and Treatment Perspectives”, *J Endod*, c. 34, sy 7, ss. S18-S24, Tem. 2008, doi: 10.1016/j.joen.2008.02.031.
- [28] T. J. Hilton, “Keys to Clinical Success with Pulp Capping: A Review of the Literature”, *Oper Dent*, c. 34, sy 5, ss. 615-625, Eyl. 2009, doi: 10.2341/09-132-0.
- [29] B. J. Ingle JI, Bakland LK, “Ingle’s Endodontics”, 2008.
- [30] G. Bergenholtz vd., “Treatment of pulps in teeth affected by deep caries – A systematic review of the literature”, *Singapore Dent J*, c. 34, sy 1, ss. 1-12, Ara. 2013, doi: 10.1016/j.sdj.2013.11.001.
- [31] E. Bimstein ve I. Rotstein, “Cvek pulpotomy – revisited”, *Dental Traumatology*, c. 32, sy 6, ss. 438-442, 2016, doi: 10.1111/edt.12297.
- [32] C. Löst, “Quality guidelines for endodontic treatment: Consensus report of the European Society of Endodontology”, *Int Endod J*, c. 39, sy 12, ss. 921-930, 2006, doi: 10.1111/j.1365-2591.2006.01180.x.
- [33] C. D. Fong ve M. J. Davis, “Partial pulpotomy for immature permanent teeth, its present and fixture”, *Pediatr Dent*, c. 24, sy 1, ss. 29-32, 2002.
- [34] C. M. Kang vd., “A randomized controlled trial of various MTA materials for partial pulpotomy in permanent teeth”, *J Dent*, c. 60, ss. 8-13, 2017, doi: 10.1016/j.jdent.2016.07.015.
- [35] S. Asgary ve M. Ahmadyar, “Vital pulp therapy using calcium-enriched mixture: An evidence-based review”, *Journal of Conservative Dentistry*, c. 16, sy 2, ss. 92-98, 2013, doi: 10.4103/0972-0707.108173.
- [36] A. Diogenes, M. A. Henry, F. B. Teixeira, ve K. M. Hargreaves, “An update on clinical regenerative endodontics”, *Endod Topics*, c. 28, sy 1, ss. 2-23, 2013, doi: 10.1111/etp.12040.

- [37] A. R. Diogenes ve N. B. Ruparel, “Irrigation in Regenerative Endodontic Procedures”, içinde *Endodontic Irrigation*, Cham: Springer International Publishing, 2015, ss. 301-312. doi: 10.1007/978-3-319-16456-4_18.
- [38] Fahmy SH, Hassanien EES, Nagy MM, El Batouty KM, Mekhemar M, Fawzy El Sayed K, Hassanein EH, Wiltfang J, Dorfer C, *Investigation of the regenerative potential of necrotic mature teeth following different revascularisation protocols*. 2017.
- [39] K. M. Galler vd., “European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures”, *Int Endod J*, c. 49, sy 8, ss. 717-723, 2016, doi: 10.1111/iej.12629.
- [40] N. Shokouhinejad, M. Khoshkhounejad, M. Alikhasi, P. Bagheri, ve J. Camilleri, “Prevention of coronal discoloration induced by regenerative endodontic treatment in an ex vivo model”, *Clin Oral Investig*, c. 22, sy 4, ss. 1725-1731, 2018, doi: 10.1007/s00784-017-2266-0.
- [41] E. G. Kontakiotis, C. G. Filippatos, G. N. Tzanetakis, ve A. Agrafioti, “Regenerative endodontic therapy: A data analysis of clinical protocols”, *J Endod*, c. 41, sy 2, ss. 146-154, 2015, doi: 10.1016/j.joen.2014.08.003.
- [42] A. Glynis, F. Foschi, I. Kefalou, D. Koletsi, ve G. N. Tzanetakis, “Regenerative Endodontic Procedures for the Treatment of Necrotic Mature Teeth with Apical Periodontitis: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials”, *J Endod*, c. 47, sy 6, ss. 873-882, 2021, doi: 10.1016/j.joen.2021.03.015.
- [43] P. E. Murray, F. Garcia-Godoy, ve K. M. Hargreaves, “Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for Action”, *J Endod*, c. 33, sy 4, ss. 377-390, 2007, doi: 10.1016/j.joen.2006.09.013.
- [44] E. HOSHINO, N. ANDO, M. SATO, ve K. KOTA, “Bacterial invasion of non-exposed dental pulp”, *Int Endod J*, c. 25, sy 1, ss. 2-5, 1992, doi: 10.1111/j.1365-2591.1992.tb00941.x.
- [45] N. JH. WHITWORTH JM, *No Title*. 2001.
- [46] E. S. Barr, C. M. Flatiz, ve M. J. Hicks, “A retrospective radiographic evaluation of primary molar pulpectomies.”, *Pediatr Dent*, c. 13, sy 1, ss. 4-9, 1991.

- [47] A. Katz, E. Mass, ve A. Y. Kaufman, "Electronic apex locator: A useful tool for root canal treatment in the primary dentition", *J Dent Child*, c. 63, sy 6, ss. 414-417, 1996.
- [48] E. Kim ve S. J. Lee, "Electronic apex locator", *Dent Clin North Am*, c. 48, sy 1, ss. 35-54, 2004, doi: 10.1016/j.cden.2003.10.005.
- [49] P. Nelson-Filho, P. C. Romualdo, K. C. Bonifácio, M. R. Leonardo, R. A. B. Silva, ve L. A. B. Silva, "Accuracy of the iPex multi-frequency electronic apex locator in primary molars: An ex vivo study", *Int Endod J*, c. 44, sy 4, ss. 303-306, 2011, doi: 10.1111/j.1365-2591.2010.01827.x.
- [50] Dr. M. Torabinejad, Ed., *Mineral Trioxide Aggregate*. Wiley, 2014. doi: 10.1002/9781118892435.
- [51] S. G. Kim, M. Malek, A. Sigurdsson, L. M. Lin, ve B. Kahler, "Regenerative endodontics: a comprehensive review", *Int Endod J*, c. 51, sy 12, ss. 1367-1388, 2018, doi: 10.1111/iej.12954.
- [52] P. C. FOREMAN ve I. E. BARNES, "A review of calcium hydroxide", *Int Endod J*, c. 23, sy 6, ss. 283-297, 1990, doi: 10.1111/j.1365-2591.1990.tb00108.x.
- [53] A. L. Frank, "Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation.", *J Am Dent Assoc*, c. 72, sy 1, ss. 87-93, 1966, doi: 10.14219/jada.archive.1966.0017.
- [54] B. Thibodeau ve M. Trope, "Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature.", *Pediatr Dent*, c. 29, sy 1, ss. 47-50, 2007, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18041512>
- [55] A. Dominguez Reyes, L. Muñoz Muñoz, ve T. Aznar Martín, "Study of calcium hydroxide apexification in 26 young permanent incisors", *Dental Traumatology*, c. 21, sy 3, ss. 141-145, Haz. 2005, doi: 10.1111/j.1600-9657.2005.00289.x.
- [56] V. Aggarwal, S. Miglani, ve M. Singla, "Conventional apexification and revascularization induced maturogenesis of two non-vital, immature teeth in same patient: 24 months follow up of a case", *Journal of Conservative Dentistry*, c. 15, sy 1, s. 68, 2012, doi: 10.4103/0972-0707.92610.
- [57] S. J. J. Lopes HP, *Endodontia: biologia e técnica*. 1999.

- [58] P. V. Abbott, "Apexification with calcium hydroxide-when should the dressing be changed? The case for regular dressing changes", *Australian Endodontic Journal*, c. 24, sy 1, ss. 27-32, 1998, doi: 10.1111/j.1747-4477.1998.tb00254.x.
- [59] G. T. J. Huang, "Apexification: The beginning of its end", *Int Endod J*, c. 42, sy 10, ss. 855-866, 2009, doi: 10.1111/j.1365-2591.2009.01577.x.
- [60] B. Farik, M. E. C. Long-term, ve C. Munksgaard, "Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture", sy 11, ss. 134-137, 2002.
- [61] T. Jeeruphan vd., "Mahidol Study 1 : Comparison of Radiographic and Survival Outcomes of Immature Teeth Treated with Either Regenerative Endodontic or Apexification Methods":, *J Endod*, c. 38, sy 10, ss. 1330-1336, 2012, doi: 10.1016/j.joen.2012.06.028.
- [62] S. Y. Shin, J. S. Albert, ve R. E. Mortman, "CASE REPORT One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess : a case report", sy August, ss. 1118-1126, 2009, doi: 10.1111/j.1365-2591.2009.01633.x.
- [63] B. Rosenberg, M. Pe, ve K. The, "The effect of calcium hydroxide root filling on dentin fracture strength", sy 14, ss. 26-29, 2007, doi: 10.1111/j.1600-9657.2006.00453.x.
- [64] L. K. Bakland ve J. O. Andreasen, "Will mineral trioxide aggregate replace calcium hydroxide in treating pulpal and periodontal healing complications subsequent to dental trauma? A review", *Dental Traumatology*, c. 28, sy 1, ss. 25-32, Şub. 2012, doi: 10.1111/j.1600-9657.2011.01049.x.
- [65] M. Torabinejad, "Clinical applications of mineral trioxide aggregate.", *Alpha Omegan*, c. 97, sy 4, ss. 23-31, Ara. 2004, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15651581>
- [66] W. M. Nowak A, Christensen JR, Mabry TR, Townsend JA, *Pediatric Dentistry-EBook: infancy through adolescence*. 2018.
- [67] S. Thakur, S. Thakur, A. Parthi, S. Bakshi, ve V. Kridutt, "Management of an open apex with mineral trioxide aggregate apexification: A case report", *International Journal of Preventive and Clinical Dental Research*, c. 7, sy 2, s. 36, 2020, doi: 10.4103/INPC.INPC_6_20.

- [68] R. A. Araújo, C. F. M. Silveira, R. S. Cunha, A. S. De Martin, C. E. Fontana, ve C. E. S. Bueno, “Single-session use of mineral trioxide aggregate as an apical barrier in a case of external root resorption”, c. 52, sy 2, ss. 325-328, 2010.
- [69] “Witherspoon 2001.pdf”.
- [70] S. Shabahang ve M. Torabinejad, “SCIENTIFIC ARTICLES A Comparative Study of Root-End Induction Using Osteogenic Protein-I, Calcium Hydroxide, and Mineral Trioxide Aggregate in Dogs”, sy 1, 1999.
- [71] B. B. Patel MH, Yagnik KN, Patel NK, “Obturing the pink tooth: An in vitro comparative evaluation of different materials”, 2018.
- [72] F. Ayoub, H. Nasrallah, B. El Noueiri, ve C. Pilipili, “Evaluation of Biodentine Pulpotomies in Deciduous Molars with Physiological Root Resorption (Stage 3)”, *Int J Clin Pediatr Dent*, c. 11, sy 5, ss. 393-398, Eki. 2018, doi: 10.5005/jp-journals-10005-1546.
- [73] S. Thakur, S. Thakur, A. Parthi, S. Bakshi, ve V. Kridutt, “Management of an open apex with mineral trioxide aggregate apexification: A case report”, *International Journal of Preventive and Clinical Dental Research*, c. 7, sy 2, s. 36, 2020, doi: 10.4103/INPC.INPC_6_20.
- [74] M. Torabinejad, T. R. P. Ford, D. J. Mckendry, H. R. Abedi, D. A. Miller, ve S. P. Kariyawasam, “Histologic Assessment of Mineral Trioxide Aggregate as a Root-End Filling in Monkeys”, c. 23, sy 4, ss. 0-3, 1997.
- [75] A. Purra, F. Ahangar, S. Chadgal, ve R. Farooq, “Mineral trioxide aggregate apexification: A novel approach”, *Journal of Conservative Dentistry*, c. 19, sy 4, s. 377, 2016, doi: 10.4103/0972-0707.186443.
- [76] K. Bücher, D. M. D. F. Meier, D. M. D. C. Diegritz, D. M. D. C. Kaaden, R. Hickel, ve J. Kühnisch, “Long-term outcome of MTA apexification in teeth with open apices”, c. 47, sy 6, ss. 473-482, 2016, doi: 10.3290/j.qi.a35702.
- [77] N. Shah, A. Logani, U. Bhaskar, ve V. Aggarwal, “Efficacy of Revascularization to Induce Apexification / Apexogenesis in Infected , Nonvital , Immature Teeth : A Pilot Clinical Study”, *JOEN*, c. 34, sy 8, ss. 919-925, 2008, doi: 10.1016/j.joen.2008.05.001.

- [78] K. M. Hargreaves, A. Diogenes, ve F. B. Teixeira, "Treatment Options : Biological Basis of Regenerative Endodontic Procedures", *J Endod*, c. 39, sy 3, ss. S30-S43, 2013, doi: 10.1016/j.joen.2012.11.025.
- [79] Finn, *Clinical Pedodontics*, 2nd ed., 4th bs. 1973.
- [80] R. C. B. Stephen Cohen, *Pathways of the Pulp*, 6th bs. Mosby-Year Book, 1994.
- [81] *Guideline on pulp therapy of primary and immature permanent teeth*, sy 6. 2009.
- [82] A. B. . Kılınç E, "Çocuk Diş Hekimliğinde Yeni Nesil Endodontik Tedavi Yaklaşımları", Prof. Dr. Sema ÇELENK, Ed., 2023, ss. 21-25.
- [83] S. Sain, R. J, A. S, S. George, J. S. Issac, ve S. A. John, "Lesion Sterilization and Tissue Repair–Current Concepts and Practices", *Int J Clin Pediatr Dent*, c. 11, sy 5, ss. 446-450, Eki. 2018, doi: 10.5005/jp-journals-10005-1555.
- [84] B. ŞENGÜLER vd., "Pediatrik Diş Hekimliğinde Lezyon Sterilizasyonu ve Doku Tamiri Lesion Sterilization And Tissue Repair In Pediatric Dentistry", *AYDIN DENTAL*, c. 8, sy 1, ss. 27-41, 2015, doi: 10.17932/IAU.DENTAL.2015.009/dental_v08i1003.
- [85] G. Kayalvizhi, B. Subramaniyan, ve G. Suganya, "Topical application of antibiotics in primary teeth: an overview.", *J Dent Child (Chic)*, c. 80, sy 2, ss. 71-9, 2013, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24011295>
- [86] C. Trairatvorakul ve T. Sastararuji, "Indirect pulp treatment vs antibiotic sterilization of deep caries in mandibular primary molars", *Int J Paediatr Dent*, c. 24, sy 1, ss. 23-31, Oca. 2014, doi: 10.1111/ipd.12022.
- [87] A. Shetty, G. Geethanjali, ve A. Hegde, "Lesion sterilization and tissue repair in primary teeth", *SRM Journal of Research in Dental Sciences*, c. 11, sy 2, s. 99, 2020, doi: 10.4103/srmjrds.srmjrds_87_19.
- [88] S. Goswami, "Lesion sterilization and tissue repair in pediatric dentistry", *SRM Journal of Research in Dental Sciences*, c. 9, sy 2, s. 79, 2018, doi: 10.4103/srmjrds.srmjrds_69_17.
- [89] S. M. Alyas, B. I. Fischer, Y. Ehrlich, K. Spolnik, R. L. Gregory, ve G. H. Yassen, "Direct and indirect antibacterial effects of various concentrations of triple antibiotic pastes loaded in a methylcellulose system", *J Oral Sci*, c. 58, sy 4, ss. 575-582, 2016, doi: 10.2334/josnurd.16-0384.

- [90] A. Garrocho-Rangel, C. Jalomo-Ávila, M. Á. Rosales-Berber, ve A. Pozos-Guillén, “Lesion Sterilization Tissue Repair (LSDO) Approach Of Non-Vital Primary Molars With A Chloramphenicol-Tetracycline-ZOE Antibiotic Paste: A Scoping Review”, *J Clin Pediatr Dent*, c. 45, sy 6, ss. 369-375, 2021, doi: 10.17796/1053-4625-45.6.1.
- [91] T. Takushige, E. V Cruz, A. Asgor Moral, ve E. Hoshino, “Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs.”, *Int Endod J*, c. 37, sy 2, ss. 132-8, Şub. 2004, doi: 10.1111/j.0143-2885.2004.00771.x.
- [92] J.-H. Kim, Y. Kim, S.-J. Shin, J.-W. Park, ve I.-Y. Jung, “Tooth Discoloration of Immature Permanent Incisor Associated with Triple Antibiotic Therapy: A Case Report”, *J Endod*, c. 36, sy 6, ss. 1086-1091, Haz. 2010, doi: 10.1016/j.joen.2010.03.031.
- [93] O. M. Poulsen ve F. Fleit, “United States Patent [19]”, sy 19, ss. 1-5, 1992.
- [94] J. Camilleri, F. E. Montesin, K. Brady, R. Sweeney, R. V. Curtis, ve T. R. P. Ford, “The constitution of mineral trioxide aggregate”, *Dental Materials*, c. 21, sy 4, ss. 297-303, 2005, doi: 10.1016/j.dental.2004.05.010.
- [95] J. Camilleri, “The chemical composition of mineral trioxide aggregate”, *Journal of Conservative Dentistry*, c. 11, sy 4, s. 141, 2008, doi: 10.4103/0972-0707.48834.
- [96] D. FERRIS ve J. BAUMGARTNER, “Perforation Repair Comparing Two Types of Mineral Trioxide Aggregate”, *J Endod*, c. 30, sy 6, ss. 422-424, Haz. 2004, doi: 10.1097/00004770-200406000-00011.
- [97] J. Camilleri, “Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate”, *Int Endod J*, c. 40, sy 6, ss. 462-470, Haz. 2007, doi: 10.1111/j.1365-2591.2007.01248.x.
- [98] J. Camilleri, “Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate”, *Int Endod J*, c. 41, sy 5, ss. 408-417, May. 2008, doi: 10.1111/j.1365-2591.2007.01370.x.
- [99] M. TORABINEJAD, C. HONG, F. MCDONALD, ve T. PITTFORD, “Physical and chemical properties of a new root-end filling material”, *J Endod*, c. 21, sy 7, ss. 349-353, Tem. 1995, doi: 10.1016/S0099-2399(06)80967-2.
- [100] T. Dammaschke, H. U. V. Gerth, H. Züchner, ve E. Schäfer, “Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and

- two Portland cements”, *Dental Materials*, c. 21, sy 8, ss. 731-738, Ağu. 2005, doi: 10.1016/j.dental.2005.01.019.
- [101] M. Parirokh ve M. Torabinejad, “Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties”, *J Endod*, c. 36, sy 1, ss. 16-27, Oca. 2010, doi: 10.1016/j.joen.2009.09.006.
- [102] M. FRIDLAND ve R. ROSADO, “Mineral Trioxide Aggregate (MTA) Solubility and Porosity with Different Water-to-Powder Ratios”, *J Endod*, c. 29, sy 12, ss. 814-817, Ara. 2003, doi: 10.1097/00004770-200312000-00007.
- [103] J. F. Siqueira ve I. N. Rôças, “Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures”, *J Endod*, c. 34, sy 11, ss. 1291-1301.e3, Kas. 2008, doi: 10.1016/j.joen.2008.07.028.
- [104] M. Maroto, E. Barbería, P. Planells, ve F. García Godoy, “Dentin bridge formation after mineral trioxide aggregate (MTA) pulpotomies in primary teeth.”, *Am J Dent*, c. 18, sy 3, ss. 151-4, Haz. 2005, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16158803>
- [105] P. Laurent, J. Camps, M. De Méo, J. Déjou, ve I. About, “Induction of specific cell responses to a Ca₃SiO₅-based posterior restorative material”, *Dental Materials*, c. 24, sy 11, ss. 1486-1494, Kas. 2008, doi: 10.1016/j.dental.2008.02.020.
- [106] W. ANDELIN, S. SHABAHANG, K. WRIGHT, ve M. TORABINEJAD, “Identification of Hard Tissue After Experimental Pulp Capping Using Dentin Sialoprotein (DSP) as a Marker”, *J Endod*, c. 29, sy 10, ss. 646-650, Eki. 2003, doi: 10.1097/00004770-200310000-00008.
- [107] D. Tziafas, O. Pantelidou, A. Alvanou, G. Belibasakis, ve S. Papadimitriou, “The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments”, *Int Endod J*, c. 35, sy 3, ss. 245-254, Mar. 2002, doi: 10.1046/j.1365-2591.2002.00471.x.
- [108] I. Islam, H. Kheng Chng, ve A. U. Jin Yap, “Comparison of the Physical and Mechanical Properties of MTA and Portland Cement”, *J Endod*, c. 32, sy 3, ss. 193-197, Mar. 2006, doi: 10.1016/j.joen.2005.10.043.
- [109] V. SRINIVASAN, P. WATERHOUSE, ve J. WHITWORTH, “Mineral trioxide aggregate in paediatric dentistry”, *Int J Paediatr Dent*, c. 19, sy 1, ss. 34-47, Oca. 2009, doi: 10.1111/j.1365-263X.2008.00959.x.

- [110] Ö. Malkondu, M. K. Kazandağ, ve E. Kazazoğlu, “A Review on Biodentine, a Contemporary Dentine Replacement and Repair Material”, *Biomed Res Int*, c. 2014, ss. 1-10, 2014, doi: 10.1155/2014/160951.
- [111] M. Kaup, E. Schäfer, ve T. Dammaschke, “An in vitro study of different material properties of Biodentine compared to ProRoot MTA”, *Head Face Med*, c. 11, sy 1, s. 16, Ara. 2015, doi: 10.1186/s13005-015-0074-9.
- [112] L. Grech, B. Mallia, ve J. Camilleri, “Characterization of set Intermediate Restorative Material, <scp>B</scp> iodentine, <scp>B</scp> ioaggregate and a prototype calcium silicate cement for use as root-end filling materials”, *Int Endod J*, c. 46, sy 7, ss. 632-641, Tem. 2013, doi: 10.1111/iej.12039.
- [113] J. Camilleri, F. Sorrentino, ve D. Damidot, “Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus”, *Dental Materials*, c. 29, sy 5, ss. 580-593, May. 2013, doi: 10.1016/j.dental.2013.03.007.
- [114] M. R. Priyalakshmi.S, “Review on Biodentine-A Bioactive Dentin Substitute”, *Journal of Dental and Medical Sciences*, ss. 51-57, 2014.
- [115] M. B. Kayahan vd., “Effect of Acid Etching Procedures on the Compressive Strength of 4 Calcium Silicate-based Endodontic Cements”, *J Endod*, c. 39, sy 12, ss. 1646-1648, Ara. 2013, doi: 10.1016/j.joen.2013.09.008.
- [116] S. Rajasekharan, L. C. Martens, R. G. E. C. Cauwels, ve R. M. H. Verbeeck, “Biodentine™ material characteristics and clinical applications: a review of the literature”, *European Archives of Paediatric Dentistry*, c. 15, sy 3, ss. 147-158, Haz. 2014, doi: 10.1007/s40368-014-0114-3.
- [117] M. Kaur, “MTA versus Biodentine: Review of Literature with a Comparative Analysis”, *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*, 2017, doi: 10.7860/JCDR/2017/25840.10374.
- [118] H. Zhou vd., “In Vitro Cytotoxicity Evaluation of a Novel Root Repair Material”, *J Endod*, c. 39, sy 4, ss. 478-483, Nis. 2013, doi: 10.1016/j.joen.2012.11.026.
- [119] Ç. Atalayın, “Diş hekimliğinde kök hücre ve dental pulpa kök hücreleri”, *G.Ü. Diş Hek. Fak. Derg*, c. 29, sy 2, ss. 115-120, 2012.
- [120] M. S. Rao, “Stem Sense: A Proposal for the Classification of Stem Cells”, *Stem Cells Dev*, c. 13, sy 5, ss. 452-455, Eki. 2004, doi: 10.1089/scd.2004.13.452.

- [121] C. Morsczeck, G. Schmalz, T. E. Reichert, F. Völlner, K. Galler, ve O. Driemel, “Somatic stem cells for regenerative dentistry”, *Clin Oral Investig*, c. 12, sy 2, ss. 113-118, Haz. 2008, doi: 10.1007/s00784-007-0170-8.
- [122] O. Maria, R. Khosravi, E. Mezey, ve S. Tran, “Cells from bone marrow that evolve into oral tissues and their clinical applications”, *Oral Dis*, c. 13, sy 1, ss. 11-16, Oca. 2007, doi: 10.1111/j.1601-0825.2006.01324.x.
- [123] Y. Aktaş, S. Aydoğdu, ve E. Diker, “[New horizons in cardiovascular treatment: cellular cardiomyoplasty and stem cell transplantation].”, *Anadolu Kardiyol Derg*, c. 3, sy 4, ss. 340-7, Ara. 2003, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14675886>
- [124] Y. Jiang vd., “Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow”, *Nature*, c. 418, sy 6893, ss. 41-49, Tem. 2002, doi: 10.1038/nature00870.
- [125] A.-R. Prusa, “Oct-4-expressing cells in human amniotic fluid: a new source for stem cell research?”, *Human Reproduction*, c. 18, sy 7, ss. 1489-1493, Tem. 2003, doi: 10.1093/humrep/deg279.
- [126] H. E. Broxmeyer vd., “Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells.”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, c. 86, sy 10, ss. 3828-3832, May. 1989, doi: 10.1073/pnas.86.10.3828.
- [127] W. Murrell vd., “Multipotent stem cells from adult olfactory mucosa”, *Developmental Dynamics*, c. 233, sy 2, ss. 496-515, Haz. 2005, doi: 10.1002/dvdy.20360.
- [128] K. K. Johe, T. G. Hazel, T. Muller, M. M. Dugich-Djordjevic, ve R. D. McKay, “Single factors direct the differentiation of stem cells from the fetal and adult central nervous system.”, *Genes Dev*, c. 10, sy 24, ss. 3129-3140, Ara. 1996, doi: 10.1101/gad.10.24.3129.
- [129] Y. Zhao, D. Glesne, ve E. Huberman, “A human peripheral blood monocyte-derived subset acts as pluripotent stem cells”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, c. 100, sy 5, ss. 2426-2431, Mar. 2003, doi: 10.1073/pnas.0536882100.

- [130] K.-L. Laugwitz vd., “Postnatal isl1⁺ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages”, *Nature*, c. 433, sy 7026, ss. 647-653, Şub. 2005, doi: 10.1038/nature03215.
- [131] J. M. Lemire, N. Shiojiri, ve N. Fausto, “Oval cell proliferation and the origin of small hepatocytes in liver injury induced by D-galactosamine.”, *Am J Pathol*, c. 139, sy 3, ss. 535-52, Eyl. 1991, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1716045>
- [132] M. Wu ve Y.-Q. Wei, “Development of Respiratory Stem Cells and Progenitor Cells”, *Stem Cells Dev*, c. 13, sy 6, ss. 607-613, Ara. 2004, doi: 10.1089/scd.2004.13.607.
- [133] C. Niemann ve F. M. Watt, “Designer skin: lineage commitment in postnatal epidermis”, *Trends Cell Biol*, c. 12, sy 4, ss. 185-192, Nis. 2002, doi: 10.1016/S0962-8924(02)02263-8.
- [134] S. Gronthos, M. Mankani, J. Brahimi, P. G. Robey, ve S. Shi, “Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, c. 97, sy 25, ss. 13625-13630, Ara. 2000, doi: 10.1073/pnas.240309797.
- [135] H. M. Blau, T. R. Brazelton, ve J. M. Weimann, “The Evolving Concept of a Stem Cell”, *Cell*, c. 105, sy 7, ss. 829-841, Haz. 2001, doi: 10.1016/S0092-8674(01)00409-3.
- [136] R. L. Gardner, “Stem cells: potency, plasticity and public perception*”, *J Anat*, c. 200, sy 3, ss. 277-282, Mar. 2002, doi: 10.1046/j.1469-7580.2002.00029.x.
- [137] C. Estrela, A. H. G. de Alencar, G. T. Kitten, E. F. Vencio, ve E. Gava, “Mesenchymal stem cells in the dental tissues: perspectives for tissue regeneration”, *Braz Dent J*, c. 22, sy 2, ss. 91-98, 2011, doi: 10.1590/S0103-64402011000200001.
- [138] V. Todorovic vd., “Dental pulp stem cells: Potential significance in regenerative medicine”, *Stomatol Glas Srb*, c. 55, sy 3, ss. 170-179, 2008, doi: 10.2298/SGS0803170T.
- [139] M. Miura vd., “SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, c. 100, sy 10, ss. 5807-5812, May. 2003, doi: 10.1073/pnas.0937635100.

- [140] C. T. Hanks, J. C. Wataha, ve Z. Sun, “In vitro models of biocompatibility: A review”, *Dental Materials*, c. 12, sy 3, ss. 186-193, May. 1996, doi: 10.1016/S0109-5641(96)80020-0.
- [141] G. Schmalz, “Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials”, *Clin Oral Investig*, c. 1, sy 4, ss. 154-162, Oca. 1998, doi: 10.1007/s007840050027.
- [142] Kenneth J, *Phillips’ science of dental materials*. 1996.
- [143] A. HENSTEN-PETTERSEN, “Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity”, *Int Endod J*, c. 21, sy 2, ss. 89-99, Mar. 1988, doi: 10.1111/j.1365-2591.1988.tb00961.x.
- [144] G. Schmalz, “Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials—advantages and limitations”, *J Dent*, c. 22, ss. S6-S11, Oca. 1994, doi: 10.1016/0300-5712(94)90032-9.
- [145] B. A. Çiçek C, “KLİNİK VİROLOJİ LABORATUVARINDA UZMANLIK ÖĞRENCİSİNE VERİLEN HÜCRE KÜLTÜRÜ EĞİTİM PROGRAMI: BİR MODEL”, *İnfeksiyon Dergisi*, c. 20, sy 3, ss. 231-41, 2006.
- [146] D. P. Tuncer DS, “DENTAL MATERYALLERDE BIYOUYUMLULUK DEĞERLENDİRMELERİ”, ss. 141-149, 2011.
- [147] G. K. Pişkin B, Avsever H, “Dişhekimliğinde kullanılan materyallerin biyouyumluluk değerlendirme yöntemleri”, *Ondokuz Mayıs Univ Dis Hekim Fak Ders*, c. 10, sy 2, ss. 41-49, 2009.
- [148] G. SCHMALZ, K. HILLER, L. NUNEZ, J. STOLL, ve K. WEIS, “Permeability Characteristics of Bovine and Human Dentin under Different Pretreatment Conditions”, *J Endod*, c. 27, sy 1, ss. 23-30, Oca. 2001, doi: 10.1097/00004770-200101000-00007.
- [149] G. SCHMALZ, U. SCHUSTER, B. THONEMANN, M. BARTH, ve S. ESTERBAUER, “Dentin Barrier Test with Transfected Bovine Pulp-Derived Cells”, *J Endod*, c. 27, sy 2, ss. 96-102, Şub. 2001, doi: 10.1097/00004770-200102000-00009.
- [150] T. Cao, T. Y. Saw, B. C. Heng, H. Liu, A. U. J. Yap, ve M. L. Ng, “Comparison of different test models for the assessment of cytotoxicity of composite resins”,

- Journal of Applied Toxicology*, c. 25, sy 2, ss. 101-108, Mar. 2005, doi: 10.1002/jat.1041.
- [151] R. I. F. Amanda Capes-Davis, *Freshney's Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*. 2015.
- [152] H. Schweikl, G. Schmalz, ve M. Federlin, "Mutagenicity of the root canal sealer AHPlus in the Ames test", *Clin Oral Investig*, c. 2, sy 3, ss. 125-129, Kas. 1998, doi: 10.1007/s007840050057.
- [153] G. Schmalz, H. Schweikl, ve M. Eibl, "Growth kinetics of fibroblasts on bovine dentin", *J Endod*, c. 20, sy 9, ss. 453-456, Eyl. 1994, doi: 10.1016/S0099-2399(06)80037-3.
- [154] M. J. Tyas, "A Method for the In Vitro Toxicity Testing of Dental Restorative Materials", *J Dent Res*, c. 56, sy 10, ss. 1285-1290, Eki. 1977, doi: 10.1177/00220345770560103401.
- [155] W. J. Craig R, Powers J, *Dental Materials : Properties and Manipulation*. 2004.
- [156] J. C. Wataha, "Principles of biocompatibility for dental practitioners", *J Prosthet Dent*, c. 86, sy 2, ss. 203-209, Ağu. 2001, doi: 10.1067/mpd.2001.117056.
- [157] T. Mosmann, "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays", *J Immunol Methods*, c. 65, sy 1-2, ss. 55-63, Ara. 1983, doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- [158] T. F. Slater, B. Sawyer, ve U. Sträuli, "Studies on succinate-tetrazolium reductase systems", *Biochim Biophys Acta*, c. 77, ss. 383-393, Oca. 1963, doi: 10.1016/0006-3002(63)90513-4.
- [159] A. A. van de Loosdrecht, E. Nennie, G. J. Ossenkoppele, R. H. J. Beelen, ve M. M. A. C. Langenhuijsen, "Cell mediated cytotoxicity against U 937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay", *J Immunol Methods*, c. 141, sy 1, ss. 15-22, Tem. 1991, doi: 10.1016/0022-1759(91)90205-T.
- [160] Sittampalam GS et al, *HPLC-MS/MS for Hit Generation--Assay Guidance Manual*. 2004.
- [161] N. J. Marshall, C. J. Goodwin, ve S. J. Holt, "A critical assessment of the use of microculture tetrazolium assays to measure cell growth and function.", *Growth Regul*, c. 5, sy 2, ss. 69-84, Haz. 1995, [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7627094>

- [162] R. M. Mihaela Roxana Cimpan, “The effect of heat- and auto-polymerized denture base polymers on clonogenicity, apoptosis, and necrosis in fibroblasts: denture base polymers induce apoptosis and necrosis”, *Acta Odontol Scand*, c. 58, sy 5, ss. 217-228, Oca. 2000, doi: 10.1080/000163500750051773.
- [163] A. ERGÜN, G., SAĞESEN, L. M., DOĞAN, A., ÖZKUL, “Metilmetakrilat monomerlerinin primer insan gingival fibroblastları üzerine sitotoksik etkisinin in vitro değerlendirilmesi”, *Acta Odontol Turcica*, c. 23, sy 2, 2006.
- [164] Holst-Hansen C, *MTT-cell proliferation assay. Cell Biology-A Laboratory Handbook*. 1998.
- [165] H. Ding, J., & Yang, “No Scratch Assay and Wound Healing in Cellular Research. Methods in Title”, *Molecular Biology*, 1991, ss. 227-236, 2019.
- [166] G. C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon, ve M. T. Longaker, “Wound repair and regeneration.”, *Nature*, c. 453, sy 7193, ss. 314-21, May. 2008, doi: 10.1038/nature07039.
- [167] N. P. Singh, M. T. McCoy, R. R. Tice, ve E. L. Schneider, “A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells.”, *Exp Cell Res*, c. 175, sy 1, ss. 184-91, Mar. 1988, doi: 10.1016/0014-4827(88)90265-0.
- [168] O. Ostling ve K. J. Johanson, “Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells.”, *Biochem Biophys Res Commun*, c. 123, sy 1, ss. 291-8, Ağu. 1984, doi: 10.1016/0006-291x(84)90411-x.
- [169] D. Martinez Saez, R. T. Sasaki, A. da C. Neves, ve M. C. P. da Silva, “Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth: A Growing Literature”, *Cells Tissues Organs*, c. 202, sy 5-6, ss. 269-280, 2016, doi: 10.1159/000447055.
- [170] M. Pavlica, G. I. Klobucar, N. Mojas, R. Erben, ve D. Papes, “Detection of DNA damage in haemocytes of zebra mussel using comet assay.”, *Mutat Res*, c. 490, sy 2, ss. 209-14, Şub. 2001, doi: 10.1016/s1383-5718(00)00162-5.
- [171] N. P. Singh, M. T. McCoy, R. R. Tice, ve E. L. Schneider, “A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells.”, *Exp Cell Res*, c. 175, sy 1, ss. 184-91, Mar. 1988, doi: 10.1016/0014-4827(88)90265-0.
- [172] A. R. Collins, “The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations.”, *Mol Biotechnol*, c. 26, sy 3, ss. 249-61, Mar. 2004, doi: 10.1385/MB:26:3:249.

- [173] C. V. Bitirim, “Ticagrelor-Pretreated Cardiomyocyte Derived Exosomes Provide Cardioprotection Under Hyperglycemia Through Alleviation In Oxidative”, *Res Sq*, ss. 1-24, 2021.
- [174] S. Najeeb, Z. Khurshid, M. Sohail Zafar, S. Zohaib, ve F. Siddiqui, “Efficacy of Enamel Matrix Derivative in Vital Pulp Therapy: A Review of Literature.”, *Iran Endod J*, c. 12, sy 3, ss. 269-275, 2017, doi: 10.22037/iej.v12i3.12036.
- [175] X. Dong ve X. Xu, “Bioceramics in Endodontics: Updates and Future Perspectives”, *Bioengineering*, c. 10, sy 3, s. 354, Mar. 2023, doi: 10.3390/bioengineering10030354.
- [176] D. A. Ribeiro, M. A. Matsumoto, M. A. H. Duarte, M. E. A. Marques, ve D. M. F. Salvadori, “In vitro biocompatibility tests of two commercial types of mineral trioxide aggregate”, *Braz Oral Res*, c. 19, sy 3, ss. 183-187, Eyl. 2005, doi: 10.1590/S1806-83242005000300005.
- [177] N. NAGHAVI, J. GHODDUSI, H. R. SADEGHNIA, E. ASADPOUR, ve S. ASGARY, “Genotoxicity and cytotoxicity of mineral trioxide aggregate and calcium enriched mixture cements on L929 mouse fibroblast cells”, *Dent Mater J*, c. 33, sy 1, ss. 64-69, 2014, doi: 10.4012/dmj.2013-123.
- [178] A. Zakerzadeh, E. Esnaashari, ve S. Dadfar, “In Vitro Comparison of Cytotoxicity and Genotoxicity of Three Vital Pulp Capping Materials.”, *Iran Endod J*, c. 12, sy 4, ss. 419-425, 2017, doi: 10.22037/iej.v12i4.15104.
- [179] E.-C. Lönnroth ve J. E. Dahl, “Cytotoxicity of liquids and powders of chemically different dental materials evaluated using dimethylthiazol diphenyltetrazolium and neutral red tests.”, *Acta Odontol Scand*, c. 61, sy 1, ss. 52-6, Şub. 2003, doi: 10.1080/ode.61.1.52.56.
- [180] G. Sjögren, G. Sletten, ve J. E. Dahl, “Cytotoxicity of dental alloys, metals, and ceramics assessed by millipore filter, agar overlay, and MTT tests.”, *J Prosthet Dent*, c. 84, sy 2, ss. 229-36, Ağu. 2000, doi: 10.1067/mpr.2000.107227.
- [181] M. S. Pedano vd., “Freshly-mixed and setting calcium-silicate cements stimulate human dental pulp cells”, *Dental Materials*, c. 34, sy 5, ss. 797-808, May. 2018, doi: 10.1016/j.dental.2018.02.005.

- [182] X. Li vd., “Preclinical effectiveness of an experimental tricalcium silicate cement on pulpal repair”, *Materials Science and Engineering: C*, c. 116, s. 111167, Kas. 2020, doi: 10.1016/j.msec.2020.111167.
- [183] M. S. Pedano, X. Li, K. Yoshihara, K. Van Landuyt, ve B. Van Meerbeek, “Cytotoxicity and Bioactivity of Dental Pulp-Capping Agents towards Human Tooth-Pulp Cells: A Systematic Review of In-Vitro Studies and Meta-Analysis of Randomized and Controlled Clinical Trials”, *Materials*, c. 13, sy 12, s. 2670, Haz. 2020, doi: 10.3390/ma13122670.
- [184] O. A. Peters, “Research that matters – biocompatibility and cytotoxicity screening”, *Int Endod J*, c. 46, sy 3, ss. 195-197, Mar. 2013, doi: 10.1111/iej.12047.
- [185] J. S. Lutfi A, T P Kannan, M N Fazliah, M A Jamaruddin, “Proliferative activity of cells from remaining dental pulp in response to treatment with dental materials”, *austalian dental journal*, ss. 79-85, 2010, doi: DOI: 10.1111/j.1834-7819.2009.01185.x.
- [186] S. López-García vd., “Cytocompatibility, bioactivity potential, and ion release of three premixed calcium silicate-based sealers”, *Clin Oral Investig*, c. 24, sy 5, ss. 1749-1759, May. 2020, doi: 10.1007/s00784-019-03036-2.
- [187] P. Møller, “The comet assay: ready for 30 more years.”, *Mutagenesis*, c. 33, sy 1, ss. 1-7, Şub. 2018, doi: 10.1093/mutage/gex046.
- [188] N. P. Singh, M. T. McCoy, R. R. Tice, ve E. L. Schneider, “A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells.”, *Exp Cell Res*, c. 175, sy 1, ss. 184-91, Mar. 1988, doi: 10.1016/0014-4827(88)90265-0.
- [189] M. Zainuri, R. R. Putri, ve E. W. Bachtiar, “Establishing methods for isolation of stem cells from human exfoliated deciduous from carious deciduous teeth.”, *Interv Med Appl Sci*, c. 10, sy 1, ss. 33-37, Mar. 2018, doi: 10.1556/1646.10.2018.06.
- [190] J. V. N. B. de Menezes, E. R. Takamori, M. F. T. B. Bijella, ve J. M. Granjeiro, “In vitro toxicity of MTA compared with other primary teeth pulpotomy agents.”, *J Clin Pediatr Dent*, c. 33, sy 3, ss. 217-21, 2009, doi: 10.17796/jcpd.33.3.cq7677j4l532r1rg.

- [191] M. Collado-González vd., “Cytotoxicity and bioactivity of various pulpotomy materials on stem cells from human exfoliated primary teeth”, *Int Endod J*, c. 50, sy Special Issue 2, ss. e19-e30, 2017, doi: 10.1111/iej.12751.
- [192] M. Kunert ve M. Lukomska-Szymanska, “Bio-Inductive Materials in Direct and Indirect Pulp Capping-A Review Article.”, *Materials (Basel)*, c. 13, sy 5, Mar. 2020, doi: 10.3390/ma13051204.
- [193] C. Prati ve M. G. Gandolfi, “Calcium silicate bioactive cements: Biological perspectives and clinical applications.”, *Dent Mater*, c. 31, sy 4, ss. 351-70, Nis. 2015, doi: 10.1016/j.dental.2015.01.004.
- [194] S. Rajasekharan, L. C. Martens, R. G. E. C. Cauwels, ve R. M. H. Verbeeck, “Biodentine™ material characteristics and clinical applications: a review of the literature.”, *Eur Arch Paediatr Dent*, c. 15, sy 3, ss. 147-58, Haz. 2014, doi: 10.1007/s40368-014-0114-3.
- [195] C. Poggio, M. Ceci, A. Dagna, R. Beltrami, M. Colombo, ve M. Chiesa, “In vitro cytotoxicity evaluation of different pulp capping materials: a comparative study.”, *Arh Hig Rada Toksikol*, c. 66, sy 3, ss. 181-8, Eyl. 2015, doi: 10.1515/aiht-2015-66-2589.
- [196] S. Küçükaya, M. Ö. Görduysus, N. D. Zeybek, ve S. F. Müftüoğlu, “In Vitro Cytotoxicity of Calcium Silicate-Based Endodontic Cement as Root-End Filling Materials.”, *Scientifica (Cairo)*, c. 2016, s. 9203932, 2016, doi: 10.1155/2016/9203932.
- [197] M. Zanini, J. M. Sautier, A. Berdal, ve S. Simon, “Biodentine induces immortalized murine pulp cell differentiation into odontoblast-like cells and stimulates biomineralization.”, *J Endod*, c. 38, sy 9, ss. 1220-6, Eyl. 2012, doi: 10.1016/j.joen.2012.04.018.
- [198] Z. Luo, M. R. Kohli, Q. Yu, S. Kim, T. Qu, ve W. He, “Biodentine induces human dental pulp stem cell differentiation through mitogen-activated protein kinase and calcium-/calmodulin-dependent protein kinase II pathways.”, *J Endod*, c. 40, sy 7, ss. 937-42, Tem. 2014, doi: 10.1016/j.joen.2013.11.022.
- [199] L. Zhu, J. Yang, J. Zhang, ve B. Peng, “A comparative study of BioAggregate and ProRoot MTA on adhesion, migration, and attachment of human dental pulp

- cells.”, *J Endod*, c. 40, sy 8, ss. 1118-23, Ağu. 2014, doi: 10.1016/j.joen.2013.12.028.
- [200] C. Manaspon vd., “Human dental pulp stem cell responses to different dental pulp capping materials”, *BMC Oral Health*, c. 21, sy 1, ss. 1-13, 2021, doi: 10.1186/s12903-021-01544-w.
- [201] S. Omid, M. Bagheri, M. Fazli, ve N. Ahmadiankia, “The effect of different pulp-capping materials on proliferation, migration and cytokine secretion of human dental pulp stem cells”, *Iran J Basic Med Sci*, c. 23, sy 6, ss. 768-775, 2020, doi: 10.22038/IJBMS.2020.41511.9814.
- [202] Y. Kim, D. Lee, D. Song, H.-M. Kim, ve S.-Y. Kim, “Biocompatibility and Bioactivity of Set Direct Pulp Capping Materials on Human Dental Pulp Stem Cells.”, *Materials (Basel)*, c. 13, sy 18, Eyl. 2020, doi: 10.3390/ma13183925.
- [203] N. Hasweh vd., “Characterization of the biological effect of Biodentine™ on primary dental pulp stem cells.”, *Indian J Dent Res*, c. 29, sy 6, ss. 787-793, 2018, doi: 10.4103/ijdr.IJDR_28_18.
- [204] L. B. Araújo vd., “Effects of mineral trioxide aggregate, Biodentine™ and calcium hydroxide on viability, proliferation, migration and differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth.”, *J Appl Oral Sci*, c. 26, s. e20160629, Şub. 2018, doi: 10.1590/1678-7757-2016-0629.
- [205] M. Kunert vd., “The Cytotoxicity and Genotoxicity of Bioactive Dental Materials”, *Cells*, c. 11, sy 20, 2022, doi: 10.3390/cells11203238.
- [206] A. Zakerzadeh, E. Esnaashari, ve S. Dadfar, “In Vitro Comparison of Cytotoxicity and Genotoxicity of Three Vital Pulp Capping Materials.”, *Iran Endod J*, c. 12, sy 4, ss. 419-425, 2017, doi: 10.22037/iej.v12i4.15104.
- [207] R. Mhlanga CHINHEYA, M. YILMAZ, A. ÜSTÜNDAĞ, S. İPEK, Y. DUYDU, ve C. AYDIN, “In vitro investigation of the cytotoxic, apoptotic and genotoxic effects of pulp capping materials on L929 mouse fibroblast cells”, *Journal of Research in Pharmacy*, c. 25(5), sy 25(5), ss. 608-617, 2021, doi: 10.29228/jrp.53.
- [208] J. L. Sanz vd., “Comparative Biological Properties and Mineralization Potential of 3 Endodontic Materials for Vital Pulp Therapy: Theracal PT, Theracal LC, and Biodentine on Human Dental Pulp Stem Cells”, *J Endod*, c. 47, sy 12, ss. 1896-1906, 2021, doi: 10.1016/j.joen.2021.08.001.

- [209] F. J. Rodríguez-Lozano vd., “Cytocompatibility and bioactive properties of the new dual-curing resin-modified calcium silicate-based material for vital pulp therapy”, *Clin Oral Investig*, c. 25, sy 8, ss. 5009-5024, 2021, doi: 10.1007/s00784-021-03811-0.
- [210] C. Küden, S. N. Karakaş, ve S. G. Batmaz, “Comparative chemical properties, bioactivity, and cytotoxicity of resin-modified calcium silicate-based pulp capping materials on human dental pulp stem cells”, *Clin Oral Investig*, c. 26, sy 11, ss. 6839-6853, 2022, doi: 10.1007/s00784-022-04713-5.
- [211] P. Panda vd., “Analysis of Pulp Tissue Viability and Cytotoxicity of Pulp Capping Agents”, *J Clin Med*, c. 12, sy 2, 2023, doi: 10.3390/jcm12020539.
- [212] S. M. Saber, S. M. Gomaa, M. M. Elashiry, A. El-Banna, ve E. Schäfer, “Comparative biological properties of resin-free and resin-based calcium silicate-based endodontic repair materials on human periodontal ligament stem cells”, *Clin Oral Investig*, c. 27, sy 11, ss. 6757-6768, 2023, doi: 10.1007/s00784-023-05288-5.
- [213] B. Novotná, P. Holík, Y. Morozova, M. Rosa, A. Galandáková, ve K. Langová, “Evaluation of Cytotoxicity of the Dental Materials TheraCal LC, TheraCal PT, ApaCal ART and Biodentine Used in Vital Pulp Therapy: In Vitro Study”, *Dent J (Basel)*, c. 12, sy 8, 2024, doi: 10.3390/dj12080249.
- [214] F. Benetti, Í. O. de A. Queiroz, L. Cosme-Silva, L. C. Conti, S. H. P. de Oliveira, ve L. T. A. Cintra, “Cytotoxicity, Biocompatibility and Biomineralization of a New Ready-for-Use Bioceramic Repair Material.”, *Braz Dent J*, c. 30, sy 4, ss. 325-332, Tem. 2019, doi: 10.1590/0103-6440201902457.
- [215] M. da S. Pedrosa, T. Alves, J. G. Rahhal, F. N. Nogueira, ve C. R. Sipert, “Cytotoxicity of Reparative Endodontic Cements on Human Periodontal Ligament Stem Cells”, *Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr*, c. 22, ss. 1-8, 2022, doi: 10.1590/pboci.2022.004.
- [216] C. A. Klein-Junior vd., “Cytotoxicity assessment of bio-c repair Íon+: A new calcium silicate-based cement”, *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*, c. 15, sy 3, ss. 152-156, 2021, doi: 10.34172/JODDD.2021.026.
- [217] S. M. S. Abrão, D. Gregorio, M. K. C. De Azevedo, G. G. Mori, R. C. Poli-Frederico, ve L. P. Maia, “Cytotoxicity and genotoxicity of Bio-C Repair,

- Endosequence BC Root Repair, MTA Angelus and MTA Repair HP.”, *Braz Dent J*, c. 34, sy 2, ss. 14-20, 2023, doi: 10.1590/0103-6440202305047.
- [218] F. Immich vd., “Evaluation of Antimicrobial Properties, Cell Viability, and Metalloproteinase Activity of Bioceramic Endodontic Materials Used in Vital Pulp Therapy”, *J Funct Biomater*, c. 15, sy 3, 2024, doi: 10.3390/jfb15030070.
- [219] J. Ghilotti vd., “Comparative surface morphology, chemical composition, and cytocompatibility of Bio-C repair, biodentine, and proroot MTA on hDPCs”, *Materials*, c. 13, sy 9, ss. 1-13, 2020, doi: 10.3390/ma13092189.
- [220] A. B. V. da SILVEIRA, B. L. S. OLIVEIRA, M. T. de O. P. BERGAMO, N. LOURENÇO NETO, M. A. M. MACHADO, ve T. M. OLIVEIRA, “Cytotoxicity of dilutions of bioceramic materials in stem cells of human exfoliated deciduous teeth”, *Journal of Applied Oral Science*, c. 32, 2024, doi: 10.1590/1678-7757-2023-0462.
- [221] V. Maru, M. Madkaikar, A. Gada, V. Pakhmode, D. Padawe, ve S. Bapat, “Response of stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth to Bio-C Repair and Mineral Trioxide Aggregate Repair HP: Cytotoxicity and gene expression assessment”, *Dent Res J (Isfahan)*, c. 20, sy 1, ss. 1-7, 2023, doi: 10.4103/1735-3327.374812.
- [222] L. B. Campi, E. M. Rodrigues, F. F. E. Torres, J. M. dos S. N. Reis, J. M. Guerreiro-Tanomaru, ve M. Tanomaru-Filho, “Physicochemical properties, cytotoxicity and bioactivity of a ready-to-use bioceramic repair material”, *Braz Dent J*, c. 34, sy 1, ss. 29-38, Şub. 2023, doi: 10.1590/0103-6440202304974.
- [223] M. Moskovitz, E. Sammara, ve G. Holan, “Success rate of root canal treatment in primary molars.”, *J Dent*, c. 33, sy 1, ss. 41-7, Oca. 2005, doi: 10.1016/j.jdent.2004.07.009.
- [224] T. Takushige, E. V Cruz, A. Asgor Moral, ve E. Hoshino, “Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs.”, *Int Endod J*, c. 37, sy 2, ss. 132-8, Şub. 2004, doi: 10.1111/j.0143-2885.2004.00771.x.
- [225] J.-H. Kim, Y. Kim, S.-J. Shin, J.-W. Park, ve I.-Y. Jung, “Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report.”, *J Endod*, c. 36, sy 6, ss. 1086-91, Haz. 2010, doi: 10.1016/j.joen.2010.03.031.

- [226] R. Rafatjou, A. K. Sabeti, B. Ahmadi, S. S. Asl, ve M. Farhadian, "Evaluation of the Cytotoxicity of Two Types of Triple Antibiotic Paste on Human Permanent Dental Apical Papilla Stem Cells: an in vitro Study", *Journal of Dentistry (Iran)*, c. 23, ss. 230-237, 2022, doi: 10.30476/DENTJODS.2021.89588.1422.
- [227] N. Shah, A. Logani, U. Bhaskar, ve V. Aggarwal, "Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study.", *J Endod*, c. 34, sy 8, ss. 919-25; Discussion 1157, Ağu. 2008, doi: 10.1016/j.joen.2008.05.001.
- [228] L.-H. Chueh, Y.-C. Ho, T.-C. Kuo, W.-H. Lai, Y.-H. M. Chen, ve C.-P. Chiang, "Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth.", *J Endod*, c. 35, sy 2, ss. 160-4, Şub. 2009, doi: 10.1016/j.joen.2008.10.019.
- [229] A. H. A. Sabrah, G. H. Yassen, W. C. Liu, W. S. Goebel, R. L. Gregory, ve J. A. Platt, "The effect of diluted triple and double antibiotic pastes on dental pulp stem cells and established *Enterococcus faecalis* biofilm", *Clin Oral Investig*, c. 19, sy 8, ss. 2059-2066, 2015, doi: 10.1007/s00784-015-1423-6.
- [230] N. B. Ruparel, F. B. Teixeira, C. C. R. Ferraz, ve A. Diogenes, "Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla.", *J Endod*, c. 38, sy 10, ss. 1372-5, Eki. 2012, doi: 10.1016/j.joen.2012.06.018.
- [231] M. C. Bottino vd., "Bioactive nanofibrous scaffolds for regenerative endodontics.", *J Dent Res*, c. 92, sy 11, ss. 963-9, Kas. 2013, doi: 10.1177/0022034513505770.
- [232] M. C. Bottino vd., "A novel three-dimensional scaffold for regenerative endodontics: materials and biological characterizations.", *J Tissue Eng Regen Med*, c. 9, sy 11, ss. E116-23, Kas. 2015, doi: 10.1002/term.1712.

EKLER

Ek 1. Tıp Fakültesi Araştırma Etik kurulu

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ARAŞTIRMA ETİK KURULU

Toplantı Sayısı		Tarih
145		14.06.2024

KARAR 37. Kurulumuzun 2 Haziran 2023 tarihli ve 134 sayılı toplantısında alınan 54 numaralı karara konu olan, Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda, Doç. Dr. Volkan Çiftçi yönetiminde, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet Bertan Yılmaz'ın katkılarıyla, Araş. Gör. Dt. Nuran Gökdoğan tarafından yürütülmesi öngörülen, "Çocuklarda Pulpa Tedavilerde Kullanılan Materyallerin Süt Dişi Pulpa Kök Hücreleri ve Dental Folikül Hücrelerine Etkisi" başlıklı diş hekimliğinde uzmanlık tez projesinin başlığının bütçe yetersizliği nedeniyle "Çocuklarda Pulpal Tedavilerde Kullanılan Materyallerin Süt Dişi Pulpa Kök Hücrelerine Etkisi" olarak değiştirilmesi ile ilgili değişiklik bildirimi bilgi edinilme amacıyla değerlendirildi.