

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**PROANTOSİYANİDİN'İN DENTİN MİKROSERTLİĞİNE VE  
BİODENTİN'İN BAĞLANMA DAYANIMINA ETKİSİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dt. Büşra TAVŞAN**

**Endodonti Programı  
UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA  
2022**

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**PROANTOSİYANİDİN'İN DENTİN MİKROSERTLİĞİNE VE  
BİODENTİN'İN BAĞLANMA DAYANIMINA ETKİSİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dt. Büşra TAVŞAN**

**Endodonti Programı  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Zeliha YILMAZ**

**ANKARA**

**2022**

## ONAY SAYFASI

Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığına

Dt. Büşra TAVŞAN'nın 15/11/2022 tarihinde jürimiz önünde yaptığı savunmasında “Proantosiyanidin’in Dentin Mikrosertliğine ve Biodentin’in Bağlanma Dayanımına Etkisinin Değerlendirilmesi” başlıklı çalışması jürimiz tarafından Diş Hekimliğinde Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı ve Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zeliha YILMAZ

Üye : Doç. Dr. Derya Deniz SUNGUR

Üye : Prof. Dr. Emel Olga ÖNAY

ONAY: Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıda jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tülin TANER

Dekan

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

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

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

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
  - Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

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

(İmza)

Dt. Büşra TAVŞAN

<sup>1</sup>“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.  
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Zeliha YILMAZ danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dt. Büşra TAVŞAN

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana hep destek olan, ihtiyaç duyduğum her zaman bilgi birikimi ve tecrübeleriyle her daim yol gösteren, tez çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Zeliha YILMAZ'a,

Birlikte çalıştığımız süre boyunca ve tezimin oluşum aşamasında bana hep destek olan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Doç. Dr. Selen KÜÇÜKKAYA EREN ve Doç. Dr. Emel UZUNOĞLU ÖZYÜREK'e,

Uzmanlık eğitim sürecim boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, eğitimime katkı sağlayan çok değerli hocalarım; Prof. Dr. Bahar ÖZÇELİK, Prof. Dr. Ahmet SERPER'e, Prof. Dr. Hatice DOĞAN BUZOĞLU, Prof. Dr. M. Özgür UYANIK, Doç. Dr. Behram TUNCEL, Doç. Dr. Emre ALTUNDAŞAR, Doç. Dr. Derya DENİZ SUNGUR, Doç. Dr. Ayhan EYMİRLİ, Dr. Öğr. Üyesi Eda Ezgi ASLANTAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Sevinç ASKERBEYLİ ÖRS'e, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KELEŞ ve,

Tez çalışmamın istatistiksel analizlerinde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Sevilay KARAHAN'A,

Desteklerini ve dostluklarını her zaman hissettiğim asistan arkadaşlarım Uzm. Dt. Fatma Nur YİĞİTÇE, Uzm. Dt. Sena Nihan ŞENGÜL, Uzm. Dt. Mert Deniz ERTEKİN, Uzm. Dt. Nilay EZENTAŞ, Uzm. Dt. Begüm CÖMERT, Uzm. Dt. Gizem ÖZDEMİR, Uzm. Dt. Sıla Nur USTA, Dt. Gonca ŞAHİN'e,

Desteklerini her zaman hissettiğim arkadaşlarım Dt. İrem YAMAN ve Fzt. Merve BORA'ya,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve beni destekleyen, bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan CANIM AİLEME,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**TAVŞAN B. Proantosiyanidin'in Dentin Mikrosertliğine ve Biodentin'in Bağlanma Dayanımına Etkisinin Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara, 2022.**

Çalışmamızın amacı yeni bir irrigasyon solüsyonu olan Proantosiyanidin'in (PA) dentinin mikrosertliğine ve bariyer materyali olarak kullanılan Biodentin'in bağlanma dayanımına etkisini diğer irrigasyon ajanları ile karşılaştırmalı olarak incelemektir. Çalışmada 112 adet tek kanallı insan dişi kullanılmıştır. Dişlerin kronlarının uzaklaştırılmasını takiben, standart bir iç çap elde etmek için kök kanalları ProTaper ege sistemi (F5) ve #1-6 numara Peeso reamerlar ile şekillendirilmiştir. Mikrosertlik testi için dişler, %1,5 NaOCl, %2 CHX ve PA (%25 GSE)'nin uygulandığı 3 deney (n=30) ve 1 adet (n=10) kontrol (DW) grubuna ayrılmıştır. Her kökün koronalinden 2 mm kalınlığında 2 dentin kesiti elde edilmiştir. Solüsyonların dentin mikrosertliğine etkilerini değerlendirmek için Vickers mikrosertlik test cihazı kullanılmıştır. Bağlanma dayanımı testi için 3 adet deney (n=54) ve 1 adet (n=18) kontrol grubu oluşturulmuştur. Solüsyonların uygulanmasının ardından tüm gruplara Ca(OH)<sub>2</sub> yerleştirilmiştir. 2 hafta sonra Ca(OH)<sub>2</sub> uzaklaştırılarak köklerin koronal kısımlarından 2 mm kalınlığında 2 dentin kesiti elde edilmiştir. Dentin kesitlerine Biodentin yerleştirilmiş ve bağlanma dayanımı Push-out testi ile ölçülmüştür. Ayrılma tipleri kaydedilmiştir. Tüm veriler IBM SPSS 23.0 yazılımı kullanılarak p<0.05 anlamlılık düzeyinde, tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi (ANOVA) ve ikili karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmesi kullanılarak analiz edilmiştir. DW, PA ve CHX grupları arasında mikrosertlik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05). NaOCl grubundaki mikrosertlik değerleri, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (p<0,05). PA grubunda bağlanma dayanımı, NaOCl grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur (p<0,05). CHX'in, NaOCl ve PA grupları ile arasında bağlanma dayanımı değerleri açısından anlamlı bir fark yoktur (p>0,05). Tüm gruplarda karışık tip ayrılma daha yüksek oranda gözlenmiştir. Adeziv tip ayrılma, en fazla PA grubundadır ancak diğer gruplarla arasında anlamlı fark yoktur (p>0,05). Koheziv tip ayrılma ise, en fazla kontrol grubundadır ve sadece PA grubu ile aralarından anlamlı fark görülmüştür (p<0,05).

**Anahtar Kelimeler:** bağlanma dayanımı, GSE, mikrosertlik, Proantosiyanidin

## ABSTRACT

**TAVŞAN B. The Effect of Proanthocyanidin on Dentin Microhardness and the Bond Strength of Biodentin. Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Endodontics, Ankara, 22.** The aim of our study is to examine the effect of Proanthocyanidin (PA), a new irrigation solution, on the dentin microhardness and the bond strength of Biodentin, which is used as a barrier material, in comparison with other irrigation agents. 112 single-canal teeth were decorated, then prepared with the ProTaper file system (F5) and #1-6 Peeso reamers to obtain a standard internal diameter. For the microhardness test, the teeth were divided into 3 experimental (n=30) in which 1.5% NaOCl, 2% CHX and PA (25% GSE) were applied and 1 control (n=10) groups. Two dentin sections of 2 mm thickness were obtained from the coronal of each root. Vickers microhardness test was used to evaluate the effects of solutions for microhardness. For the bond strength test, 3 experimental (n=54) and 1 control (n=18) groups were formed. After the application of the solutions, Ca(OH)<sub>2</sub> was placed in all groups. After two weeks, Ca(OH)<sub>2</sub> was removed and two dentin sections of 2 mm thickness were obtained from the coronal parts of the roots. Biodentin was placed on dentin sections and bond strength was measured by push-out test. The failure types were categorized. All data were analyzed using repeated measures Analysis of Variance (ANOVA) at p<0.05 significance level. Pairwise comparisons were made using Bonferroni correction. There was no statistically significant difference among the DW, PA and CHX groups in terms of microhardness (p>0.05). Microhardness values in the NaOCl group decreased significantly with all groups (p<0.05). There was a statistically significant difference among the groups in Bond strength evaluation. It was found significantly lower in the PA group than in the NaOCl group (p<0.05). There was no significant difference between CHX and NaOCl, PA groups in terms of bond strength values (p>0.05). Mix failures was observed at a higher rate in all groups. Adhesive failures was most common in the PA group, but there was no significant difference among the other groups (p>0.05). Cohesive failures was most common in the control group, and there was only a significant difference between them and the PA group (p<0.05).

**Keywords:** Bond strength, GSE, microhardness, Proanthocyanidin, push-out

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                |      |
|--------------------------------------------------------------------------------|------|
| ONAY SAYFASI .....                                                             | iii  |
| YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI.....                                | iv   |
| ETİK BEYAN.....                                                                | v    |
| TEŞEKKÜR.....                                                                  | vi   |
| ÖZET .....                                                                     | vii  |
| ABSTRACT.....                                                                  | viii |
| İÇİNDEKİLER .....                                                              | ix   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                                   | xii  |
| ŞEKİLLER.....                                                                  | xiv  |
| TABLOLAR .....                                                                 | xv   |
| 1. GİRİŞ .....                                                                 | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                        | 5    |
| 2.1. Kök Oluşum Süreci .....                                                   | 5    |
| 2.2. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Gerektiren Durumlar .....              | 6    |
| 2.3. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Yöntemleri.....                        | 7    |
| 2.3.1. Apeksogenezis .....                                                     | 8    |
| 2.3.2. Apeksifikasyon .....                                                    | 8    |
| 2.3.2.1. Ca(OH) <sub>2</sub> ile Apeksifikasyon.....                           | 8    |
| 2.3.2.2. MTA ile Apeksifikasyon.....                                           | 9    |
| 2.4. Rejeneratif Endodontik Tedavi.....                                        | 11   |
| 2.5. Doku Mühendisliği.....                                                    | 17   |
| 2.5.1. Kök Hücreler.....                                                       | 18   |
| 2.5.2. Büyüme Faktörleri .....                                                 | 21   |
| 2.5.3 Doku İskelesi/Çatısı (Scaffolds) .....                                   | 22   |
| 2.6. Rejeneratif Endodontik Tedavilerin Avantajları .....                      | 23   |
| 2.7 Rejeneratif Endodontik Tedavilerin Dezavantajlar .....                     | 24   |
| 2.8. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Kök Kanal Sisteminin Dezenfeksiyonu    | 24   |
| 2.8.1. Rejeneratif Endodontik Tedavide Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları..... | 25   |
| 2.8.1.1. NaOCl .....                                                           | 26   |
| 2.8.1.2. EDTA .....                                                            | 30   |
| 2.8.1.3. CHX .....                                                             | 32   |

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.8.1.4. Proantosiyanidin.....                                                     | 34 |
| 2.8.2. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Kullanılan Kanal İçi                     |    |
| Medikamentler.....                                                                 | 37 |
| 2.8.2.1. Ca(OH) <sub>2</sub> .....                                                 | 37 |
| 2.8.2.2. Antibiyotik Patları.....                                                  | 38 |
| 2.9. Rejeneratif Endodontik Tedavide Kullanılan Kalsiyum Silikat Esaslı            |    |
| Simanlar .....                                                                     | 39 |
| 2.9.1. Mineral Trioksit Agregat (MTA).....                                         | 39 |
| 2.9.2. Biodentin.....                                                              | 41 |
| 2.10. Mikrosertlik Testi .....                                                     | 45 |
| 2.11. Bağlanma-Adezyon .....                                                       | 46 |
| 2.12. Push-out Testi.....                                                          | 47 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                                           | 49 |
| 3.1. İrrigasyon Solüsyonlarının Dentinin Mikrosertliği Üzerine Etkisinin           |    |
| Değerlendirilmesi.....                                                             | 49 |
| 3.1.1. Dişlerin Seçimi Hazırlanması ve Kök Kanal Sistemlerinin                     |    |
| Şekillendirilmesi.....                                                             | 49 |
| 3.1.2. Dişlerin Gruplara Ayrılması ve Kanallara İrrigasyon Solüsyonlarının         |    |
| Uygulanması.....                                                                   | 50 |
| 3.1.3. Mikrosertlik testinin uygulanması .....                                     | 51 |
| 3.2. İrrigasyon Solüsyonlarının Bariyer Materyalinin Bağlanma Dayanımına           |    |
| Etkisi .....                                                                       | 52 |
| 3.2.1. Dişlerin Gruplara Ayrılması ve Ca(OH) <sub>2</sub> 'nin Uygulanması.....    | 52 |
| 3.2.2. Kanal İçi İlacın [Ca(OH) <sub>2</sub> ] Uzaklaştırılması ve Dişlerden Kesit |    |
| Alınması.....                                                                      | 53 |
| 3.2.3 Bariyer Materyalinin (Biodentin) Uygulanması .....                           | 54 |
| 3.3. Push-out Bağlanma Dayanımı Testinin Uygulanması .....                         | 54 |
| 3.4 Ayrılma Tiplerinin Analizi .....                                               | 56 |
| 3.5. İstatistiksel Analiz .....                                                    | 57 |
| 4. BULGULAR.....                                                                   | 58 |
| 4.1. Solüsyonların Dentin Mikrosertliğine Etkisine Ait Bulgular.....               | 58 |
| 4.2. Bağlanma Dayanımına Ait Bulgular .....                                        | 59 |

|                                                   |     |
|---------------------------------------------------|-----|
| 4.3. Ayrılma Tipinin Analizine Ait Bulgular ..... | 60  |
| 5. TARTIŞMA .....                                 | 63  |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                        | 75  |
| 7. KAYNAKLAR .....                                | 76  |
| 8. EKLER.....                                     | 107 |
| EK-1. Tez Çalışması Orijinallik Raporu .....      | 107 |
| EK-2. Tez Çalışması Dijital Makbuz .....          | 110 |



## SİMGELER VE KISALTMALAR

|                           |                                                   |
|---------------------------|---------------------------------------------------|
| <b>AAE</b>                | : Amerikan Endodonti Derneği                      |
| <b>AFM</b>                | : Otojen Fibrin Matriks                           |
| <b>BMP</b>                | : Kemik Morfojenik Proteini                       |
| <b>Ca(OH)<sub>2</sub></b> | : Kalsiyum Hidroksit                              |
| <b>Ca<sup>+2</sup></b>    | : Kalsiyum İyonu                                  |
| <b>CaCl<sub>2</sub></b>   | : Kalsiyum Klorür                                 |
| <b>CHX</b>                | : Klorheksidin                                    |
| <b>CSH</b>                | : Kalsiyum Silikat Hidrat                         |
| <b>DAP</b>                | : Double Antibiotic Paste (2'li Antibiyotik Patı) |
| <b>DFSCs</b>              | : Dental Folikül Kök Hücreleri                    |
| <b>DPSCs</b>              | : Dental Pulpa Kök Hücreleri                      |
| <b>E. Faecalis</b>        | : Enterococcus Faecalis                           |
| <b>EDTA</b>               | : Etilen Diamin Tetra Asetik Asit                 |
| <b>ESE</b>                | : Avrupa Endodonti Derneği                        |
| <b>FDA</b>                | : Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi                   |
| <b>FGF-2</b>              | : Fibroblast Büyüme Faktörü                       |
| <b>GSE</b>                | : Grape Seed Extract (Üzüm Çekirdeği Ekstresi)    |
| <b>HBF</b>                | : Hepatosit Büyüme Faktörü                        |
| <b>HERS</b>               | : Hertwig Epitelyal Kök Kını                      |
| <b>HOCl<sup>-</sup></b>   | : Hipokloröz Asit                                 |
| <b>IGF</b>                | : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü                  |
| <b>İPAPCs</b>             | : İnflamatuar Periapikal Progenitör Kök Hücreleri |
| <b>MTA</b>                | : Mineral Trioksit Agregat                        |
| <b>MSC</b>                | : Mezenşimal Kök Hücreleri                        |
| <b>MPa</b>                | : Megapaskal                                      |
| <b>NaOCl</b>              | : Sodyum Hipoklorit                               |
| <b>NH</b>                 | : Amino Grubu                                     |

|                                      |                                                   |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------|
| <b>OCI</b>                           | : Hipoklorit iyonları                             |
| <b>OH</b>                            | : Hidroksil İyonu                                 |
| <b>PA</b>                            | : Proantosiyanidin                                |
| <b>PDGF</b>                          | : Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü                |
| <b>PDLSCs</b>                        | : Periodontal Ligament Kök Hücreleri              |
| <b>PGA</b>                           | : Poliglikolik Asid                               |
| <b>PLA</b>                           | : Polilaktik Asit                                 |
| <b>PLGA</b>                          | : Polilaktikkoglikolik Asit                       |
| <b>(PO<sub>4</sub>)<sup>-3</sup></b> | : Fosfat İyonu                                    |
| <b>PRF</b>                           | : Trombositten Zengin Fibrin                      |
| <b>PRP</b>                           | : Trombositten Zengin Plazma                      |
| <b>RET</b>                           | : Rejeneratif Endodontik Tedavi                   |
| <b>SCAPs</b>                         | : Apikal Papilla Kök Hücreleri                    |
| <b>SH</b>                            | : Sülfidril Grubu                                 |
| <b>SHEDs</b>                         | : Süt Dişi Pulpası Kök Hücreleri                  |
| <b>TAP</b>                           | : Triple Antibiotic Paste (3'lü Antibiyotik Patı) |
| <b>TGFβ</b>                          | : Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta            |
| <b>VEGF</b>                          | : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü              |
| <b>VHN</b>                           | : Vickers Mikrosertlik Testi                      |
| <b>VHT</b>                           | : Vickers Mikrosertlik Numarası                   |

## ŞEKİLLER

| Şekil                                                                                                                                                          | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. Kök oluşum süreci.....                                                                                                                              | 5     |
| Şekil 2.2. Revaskularizasyon aşamaları şematik gösterimi. ....                                                                                                 | 14    |
| Şekil 2.3. Kök gelişim evreleri .....                                                                                                                          | 16    |
| Şekil 2.4. Doku mühendisliğinin 3 temel bileşeni.....                                                                                                          | 18    |
| Şekil 2.5. Dental kök hücreleri .....                                                                                                                          | 21    |
| Şekil 2.6. Büyüme faktörleri.....                                                                                                                              | 22    |
| Şekil 2.7. NaOCl'nin etki mekanizmasının şematik gösterimi .....                                                                                               | 27    |
| Şekil 2.8. Proantosiyanidin oluşum reaksiyonu.....                                                                                                             | 35    |
| Şekil 3.1. Dekronize edilmiş ve immatür kök formu verilmiş tek köklü dişlerin<br>şekillendirilmesi .....                                                       | 50    |
| Şekil 3.2. Hazırlanan örneklerin kök uçlarının mum ile kapatılması, akril<br>kalıplarına dikey olarak yerleştirilmesi ve dentin kesitlerinin<br>alınması. .... | 51    |
| Şekil 3.3. Mikrosertlik cihazı(a), örneklerle mikrosertlik testinin uygulama<br>görüntüsü (b), sertlik değerlerinin ölçüm yöntemi(c).....                      | 52    |
| Şekil 3.4. Kesit alma cihazı (a) örneklerin yerleştirilmesi ve kesit alınma<br>görüntüsü (b) .....                                                             | 53    |
| Şekil 3.5. Biodentine'nin hazırlanması (a), örneklerle Biodentine uygulama<br>sonrası görüntüsü (b) .....                                                      | 54    |
| Şekil 3.6. Push-out testinde kullanılan evrensel test cihazı .....                                                                                             | 55    |
| Şekil 3.7. Örneklerle 1 mm/dk olacak şekilde kuvvet uygulanması.....                                                                                           | 55    |
| Şekil 3.8. Nexygen 2.0 Software veri analiz programı.....                                                                                                      | 56    |
| Şekil.3.9. Ayrılma tipinin analizinde kullanılan stereomikroskop .....                                                                                         | 56    |
| Şekil 4.1. Grupların Mikrosertlik Değerlerinin Başlangıç Ve Solüsyon Sonrası<br>Değişim Grafiği. ....                                                          | 59    |
| Şekil 4.2. Biodentine'nin bağlanma dayanımı değerlerinin dağılım grafiği. ....                                                                                 | 60    |
| Şekil 4.3. Gruplar arasında ayrılma tiplerinin yüzdeleri.....                                                                                                  | 61    |
| Şekil 4.4. A; Adeziv tipi ayrılma, B; Koheziv tipi ayrılma, C; Karışık tip<br>ayrılma örnekleri .....                                                          | 62    |

**TABLÖLAR**

| <b>Tablo</b>                                                                                                                                               | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Tablo 3.1.</b> Ayrılma Tiplerinin Sınıflandırılması.....                                                                                                | 57           |
| <b>Tablo 4.1.</b> Başlangıç ve Solüsyon Sonrası Mikrosertlik Değerleri Ort± SS<br>(VHN) .....                                                              | 58           |
| <b>Tablo 4.2.</b> Kontrol ve Deney gruplarının Bağlanma Dayanımı Minimum,<br>Maksimum, Ortalama ve Standart Sapma değerleri (MPa=N/mm <sup>2</sup> ) ..... | 60           |
| <b>Tablo 4.3.</b> Ayrılma Tipi Analizi .....                                                                                                               | 61           |

## 1. GİRİŞ

Kök kanal tedavisinin amacı, etkili bir kök kanal dezenfeksiyonu sağlamak, bakteri yükünü periradiküler doku iyileşmesiyle uyumlu seviyelere düşürmek ve kök kanal boşluğunun tekrar enfekte olmasını önlemektir (1). Mekanik şekillendirme ile kök kanal sistemindeki organik ve inorganik artıkların temizlenmesi, apikal foramenin konumunun korunması, kök kanalı boyunca konik bir form oluşturulması hedeflenmektedir (2). Bu amaçla; geleneksel paslanmaz çelik el eğeleri, ultrasonik ve nikel-titanyum aletler kullanılarak kök kanalının temizleme/şekillendirmesi yapılmaktadır (3). Kanal isthmusları, apikal aksesuar kanallar ve ulaşılamayan kök kanal bağlantıları gibi anatomik varyasyonlar nedeniyle kök kanal sistemini tamamen şekillendirmek ve temizlemek zorlaşmaktadır (4). Tam olarak temizlenemeyen bu alanlarda doku kalıntıları, bakteri ve bunların yan ürünleri kalabilmekte, bu da kök kanal dolgu materyalinin adaptasyonunu önleyebilmekte ve kalıcı periradiküler enflamasyona neden olabilmektedir. Bu nedenle kök kanal sisteminin irrigasyon ajanları ile kimyasal olarak dezenfeksiyonu, tedavilerin başarısını arttıran önemli bir aşamadır (5).

Daimi dişlerin gelişimi sırasında, diş çürüğü, travma veya anatomik varyasyonlarla ilişkili olarak pulpa dokusunda meydana gelen değişiklikler ile kök gelişim süreci bozulabilmektedir. Kök ucu gelişimini tamamlamamış (immatür) dişlerde pulpanın canlılığını yitirmesi, kök dentininin oluşumunun durmasına neden olabilmekte ve bu durum açık kök apeksi, ince dentin duvarları ve kısa kök kanal boyu ile sonuçlanabilmektedir (6, 7). Bu anatomik ve fonksiyonel koşullar; tedavi başarısızlıklarına, kırıklara ve diş kayıplarına neden olabilmektedir (8, 9). Canlılığını yitiren pulpa varlığı, kök kanal sistemini savunmasız hale getirmektedir. Patojenite geliştirme ve periradiküler dokularda enflamatuvar hastalığı indüklemeye potansiyeli olan mikroorganizmaların çoğalmasına sebep olan bir ortam sağlamaktadır. Bu durumda, kök kanal sistemini mümkün olduğunca dezenfekte etmek; mikroorganizmaların kolonizasyonuna yol açan tüm potansiyel besin kaynaklarını uzaklaştırmak, kök kanal tedavisinde daha da önem kazanmaktadır (3). İmmatür nekrotik pulpalı dişlerin ince dentin duvarları ve açık kök uçları nedeniyle, kök kanal sisteminin dezenfeksiyonu ve ardından da sızdırmaz bir şekilde doldurulması zorlaşmaktadır (10). Bu amaçla

araştırmacılar çeşitli tedavi seçenekleri sunmuşlardır. Bunlardan birincisi “apeksifikasyon” tedavisidir. Apeksifikasyon; kök kanalının dezenfekte edilmesini ve kanal boşluğunun onarıcı materyaller ile doldurularak kalsifiye apikal bariyerin oluşturulmasını içeren bir tedavi işlemidir (11). Geleneksel apeksifikasyon yöntemi uzun süreli kalsiyum hidroksit ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) uygulanmasını içerir. Ancak çalışmalar, immatür dişlerde uzun süreli  $\text{Ca(OH)}_2$  kullanımının dentinin mekanik özelliklerini değiştirip, kök yapısını zayıflatarak dişleri kök kırığına daha yatkın hale getirebildiğini göstermiştir (12, 13). Daha yeni bir apeksifikasyon yöntemi olan “Apikal Plug” ise kalsiyum silikat esaslı materyaller (Mineral Trioksit Agregat (MTA), Biodentine) kullanılarak apikalde bariyer oluşturma esasına dayanır (10, 14). Bu tedaviler genellikle hastalık semptomlarının geçmesini sağlasa da kök oluşumunun devamlılığı ve dentin duvarlarının kalınlığının artması için çok az fayda sağlar veya hiç fayda sağlamazlar (8, 15, 16).

Son yıllarda araştırmacılar, immatür nekrotik pulpalı dişlerde hasarlı dokunun canlılığını geri kazanmasını ve kök gelişiminin (kök kanal duvarlarının kalınlaşması ve/veya apikal kapanması) devam etmesini sağlamak amacıyla pulpa dokusunun revaskülarizasyonu ve revitalizasyonu olarak tanımlanan ‘Rejeneratif Endodontik Tedaviler’ (RET’ler) üzerinde çalışmışlardır (17, 18). Bu tedavi protokolünde, kök kanal boşluğunda yeni dokuların büyümesini destekleyen stratejiler 4 temel varsayım üzerine kuruludur. Bunlar; etkili dezenfeksiyon/asepsi, apikal bölgeden farklılaşmamış mezenşimal kök hücrelerin göçü, yeni dokunun büyümesine izin veren bir iskele oluşturulması ve yeniden enfeksiyonu önlemek için uygun bir koronal restorasyondur (19, 20). MTA (ProRoot MTA, ABD) biyouyumluluğu, rejeneratif potansiyeli, antibakteriyel özellikleri ile bu sızdırmazlığı gerçekleştirmek için en çok kullanılan materyaldir (21). Bu tedavilerde, istenilen sızdırmazlığı sağlamak için de MTA bariyerinin 3-4 mm olması yeterlidir (19). Ancak MTA’nın zor manipülasyonu, uzun sertleşme süresi, renklenme gibi dezavantajları sebebiyle Biodentine (Septodont, Fransa) kullanımı tavsiye edilmektedir. Biodentine, MTA’ya kıyasla basınç dayanımı, mikrosertlik, eğilme dayanımı, sızdırmazlık ve bağlanma dayanımı açısından üstün özellikler göstermektedir (22, 23).

Kök kanal tedavilerinde Sodyum Hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ), güçlü doku çözme özelliği ve hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı geniş bir

antibakteriyel aktivite göstermesi sebebiyle sıklıkla tercih edilen irrigasyon solüsyonudur. Fakat kıyafetleri ağartma, göze temasında tahriş, alerjik reaksiyonlar ve kök apeksinin dışına enjeksiyonu sonucu toksik reaksiyonlar oluşturabilmektedir (24). NaOCl'nin diğer ve önemli bir dezavantajı ise, dentinin mekanik özelliklerini; mikrosertliğini, eğilme dayanımını, elastisite modülünü ve gerilme dayanımını azaltmasıdır (25). RET'lerde %1-6 konsantrasyonlu NaOCl kullanılmıştır (26). Yüksek konsantrasyonlarda (%3'ten fazla) antimikrobiyal etkiye sahip olmasına rağmen, periodontal ligament hücreleri ve apikal papilla kök hücreleri için sitotoksik olduğu gösterilmiştir (27, 28). Amerikan Endodonti Derneği (AAE), rejeneratif tedaviler için klinik uygulamalarda sitotoksik etkiyi en aza indirmek için düşük konsantrasyonda NaOCl (1.5% 20mL/kanal, 5 dk) kullanılmasını tavsiye etmektedir (29). NaOCl, smear tabakasının inorganik bileşenleri üzerinde etkili olmadığından inorganik bileşenleri uzaklaştırmak için Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA) gibi bir şelasyon ajanı ile birlikte kullanılması önerilmiştir (30). Ayrıca EDTA, RET'de dentin matriksinden büyüme faktörlerinin salınmasını sağlamak için de kullanılmaktadır (31). Kök kanalına EDTA uygulanması, diş pulpası kök hücrelerinin dentine doğru yer değiştirmesini, yapışmasını ve farklılaşmasını desteklemektedir (32). Bu nedenle AAE'nin belirttiği rejeneratif protokolüne göre 20 ml %17 EDTA ile kök kanal sisteminin yıkanması önerilmektedir (29).

Kök kanal sisteminin dezenfeksiyonunda kullanılan bir diğer irrigasyon ajanı Klorheksidin (CHX)'dir. CHX, geniş spektrumlu antimikrobiyal kapasitesi, uzun süreli etkinliği ve NaOCl'ye göre düşük toksisite sağlamasıyla alternatif bir irrigasyon ajanı olarak gösterilmiştir (33, 34). Ancak CHX'in organik doku çözücü etkisinin olmaması (35, 36) nedeniyle kullanımı tartışmalıdır. Yapılan çalışmalarda, son yıkama solüsyonu olarak kullanımı yararlı olmasına rağmen endodontik tedavide ara yıkama solüsyonu olarak kullanımı desteklenmemiştir (37). Ayrıca %0,2 ve %2 konsantrasyonlarda 15 dakika süreyle CHX tedavisinin  $Ca^{+2}$  ve  $P^{-3}$  seviyelerini ve kök dentinin mikrosertliğini azalttığı da bildirilmiştir (38, 39).

Endodonti pratiğinde kullanılan irrigasyon ajanlarının yukarıda belirtilen dezavantajları nedeniyle araştırmacılar yeni irrigasyon solüsyonları arayışında olmuşlardır. İnsan pulpa hücrelerine düşük sitotoksisite gösteren (40) ve *E. Faecalis*'e karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olan Proantosiyanidin (PA) bakımından

zengin üzüm çekirdeği ekstresi (GSE) bu ajanlardan biridir (41-43). Flavan-3-ol alt birimlerinden oluşan ve çeşitli sebzelerde, meyvelerde, kabuklu yemişlerde, çekirdeklerde ve ağaç kabuğunda yaygın olarak bulunan PA'nın; antimikrobiyal aktivitesi dışında antioksidan, antiinflamatuvar, immünomodülatör, antimutajenik ve vazodilatör etkiler de gösterdiği bildirilmiştir (44, 45). GSE'nin dentinin biyomekanik özelliklerini, biyostabilitesini artırdığı ve kovalent kollajen çapraz bağlarını desteklediği gösterilmiştir (46-48).

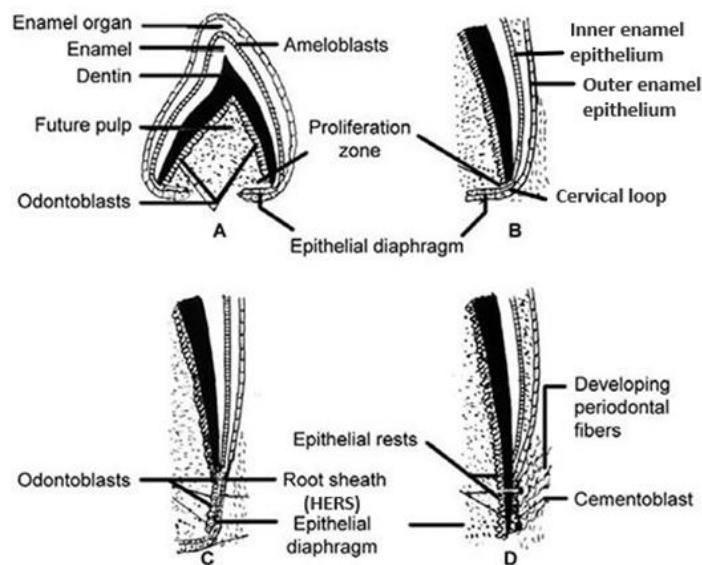
Rejeneratif tedavilerde; sızdırmazlık sağlamak için, koronal bölgeye biyomateriyallerin uygulanmasından önce kullanılan irrigantlar ve medikamentler yapılan tedaviyi birçok yönden etkilemektedir. Tedavinin başarısında biyomateriyallerin bağlanma dayanımı büyük önem taşımaktadır. Açık kök apeksi, ince dentin duvarları ve kısa kök kanal boyu nedeniyle immatür dişlerin mekanik özellikleri de kullanılan irrigant ve medikamentlerden etkilenmektedir. Zayıf yapıda olan immatür dişlere, irrigasyon solüsyonlarının uygulanmasının dentin mikrosertliğini ve kırılma direnci azalttığı dolayısıyla tedavi başarısını etkileyen önemli bir faktör olduğu görülmektedir.

Bu çalışmanın amacı; yeni bir irrigasyon solüsyonu olarak kullanılan PA'nın dentinin mikrosertliğine ve bariyer materyali olarak kullanılan Biodentin'in bağlanma dayanımına olan etkisini endodonti pratiğinde kullanılan irrigasyon ajanları ile karşılaştırmalı olarak incelemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kök Oluşum Süreci

Köklerin gelişim evresi, mine ve dentinin oluşumunu takiben, bu sürecin mine-sement birleşimine ulaşmasıyla başlamaktadır (49). İç ve dış mine epitelleri servikal düğüm olarak bilinen bir noktada birleşmekte ve bu anatomik kronun son aşamasını ve kök oluşumunun başladığı yeri tanımlanmaktadır (50). Servikal düğümün distalindeki iç ve dış mine epitelleri proliferere olarak ileride kök kanalı olacak yapının iç tarafına bakan epitelyal diyaframı ve devamında çift katlı Hertwig Epitelyal Kök Kınını (HERS) oluşturmaktadır. HERS, kök oluşumu tamamlanana kadar apikal yönde proliferere olmaya devam etmektedir (51). HERS'nin uyarıcı ve şablon görevi görmesiyle odontoblastlar farklılaşmakta ve kök dentin yapımı gerçekleşmektedir. Daha sonra HERS'in parçalanması, dental folikül hücrelerinin sementoblastlara farklılaşmasına ve sement oluşumuna izin vermektedir. HERS, bu şekilde köklerin sayısını, boyutunu ve şeklini belirlemektedir. Birçok dişte HERS, kök gelişimi tamamlandıktan sonra parçalanarak Malassez epitel hücre artıklarını oluşturup periodonsiyumda kalabilmektedir (52). Kök gelişimi, pulpa ile periodonsiyum arasındaki ilişkiyi ve sinir-damar paketinin girişini sağlayan kökün en uç kısmı olan apikal foramenin oluşmasıyla tamamlanmaktadır (53). Ayrıca kök gelişiminin bitmesi ve apeksin kapanması dişin sürmesini takip eden 3 yıl içinde olmaktadır (54) (Şekil 1).



Şekil. 2.1. Kök oluşum süreci (55)

## 2.2. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Gerektiren Durumlar

İmmatür daimi dişler; kök gelişimi tam olarak gerçekleşmemiş ve kök ucu kapanmamış dişlerdir. Kök gelişimi devam eden daimi dişler; çürük, travma ayrıca dens invaginatus ve dens evaginatus gibi gelişimsel diş anomalileri nedeniyle pulpal enflamasyon ve nekroz riski altındadır (56, 57). Bu durum kök gelişiminin durmasına; dişlerin apekslerinin açık, dentin duvarlarının ince olmasına ve kron-kök oranlarının değişmesine yol açmaktadır. Bu yüzden nekroze pulpalı immatür daimi dişlerin endodontik tedavisi de normalden farklı olarak zorlaşmaktadır (58).

Travmatik Dental Yaralanmalar, çocukluk çağında sık görülen ve toplumun yaklaşık %20'sini etkileyen bir durumdur. İmmatür daimi kesici dişlerde pulpanın canlılığını kaybetmesinin en sık nedeni de travmatik dental yaralanmalardır. Yalnızca daimi dişlenme döneminde prevalansın %15,2 olduğunu bildirilmiştir (59). Travmayı takiben, ilgili dişin etrafındaki damarların sıkışması veya yer değiştirmesi sonucu dişin apikal kan akımı tamamen veya kısmen kesilebilmektedir. Apikalden gelen kan akımı tekrar sağlanamaz veya yetersiz kalırsa pulpa nekroze olabilmektedir (60). Çoğu durumda, travmanın kendisi, pulpa ve periradiküler nörovasküler beslemeyi bozmakta ve sement yüzeyinde yaralanmaya neden olabilmektedir. Bu durum, pulpayı ve periodontal dokuları, travmaya eşlik eden bakteri geçişine ve kök yüzeyini rezorpsiyona karşı daha az dirençli hale getirmektedir (61).

Pulpa hastalığının en sık nedeni çürüktür. Çürük içerdiği bakteriler ve toksinleri ile pulpa dokusunun enflamasyonuna ve fibrozisine sebep olan çok faktörlü bir hastalıktır. Bakteriler ve toksinleri kanal içinden uzaklaştırılmazsa kronik enflamasyon gelişebilmekte ve pulpa dokusunda kısmen nekroz başlamaktadır. Uzun süreli enflamasyon veya tekrarlayan uyaranlar pulpanın kendini onarma kapasitesini düşürmekte ve sonunda pulpayı tamamen nekroze edebilmektedir (60, 62).

İmmatür dişlerde pulpa nekrozunun başka bir etiyolojisi de; dens evaginatus veya dens invaginatus gibi anatomik varyasyonlardır. Bunlar RET'ler uygulanan vakaların yaklaşık %36'sını oluşturmaktadırlar. Dens evaginatus, bu iki dental anomali arasında daha yaygındır (56). Dens evaginatus, klinik ve radyografik muayenede, arka dişlerin (mandibular premolar) oklüzal yüzeylerinde veya ön dişlerin (maksiller anterior dişler) fasiyal veya lingual yüzeylerinde anormal bir tüberkül olarak tarif

edilen aksesuar bir çıkıntı olarak görülmektedir. Tüberküller, ince bir pulpa uzantısını kaplayan mine-dentin tabakasına sahiptir (63). Bu tüberküllerin, okluzal travmatik kuvvet nedeniyle anormal aşınması veya kırılması; pulpanın açığa çıkarak erken kaybedilmesiyle sonuçlanmaktadır (64). Dens invaginatus ise, kalsifikasyon tamamlanmadan mine organının dental papilla içine invajinasyonu sonucu oluşmaktadır. Dens invaginatus en sık maksiller lateral kesicilerde görülmektedir. İnvajinasyon minede başlamaktadır ve köke kadar uzanabilmektedir. Bu lezyonlar klinik olarak önemlidir, çünkü ağız boşluğundan gelen bakteriler bu varyasyonlar içine kontamine olabilmekte ve çoğalabilmektedirler, bu durum da erken çürüklerin gelişmesine ve sonuç olarak da pulpa nekrozuna yol açabilmektedir (65).

### **2.3. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Yöntemleri**

Pulpa nekrozu, kök kanal sistemini savunmasız hale getirmektedir. Patojenite geliştirme ve periradiküler dokularda enflamatuvar hastalığı oluşturabilme potansiyeli olan mikroorganizmaların çoğalmasına sebep olan bir ortam sağlamaktadır. Kök kanal sistemini mümkün olduğunca dezenfekte etmek, mikroorganizmaların yeniden kolonizasyonuna yol açan tüm potansiyel besin kaynaklarını uzaklaştırmak için gerekmektedir (3). İmmatür dişlerin, apekslerinin açık, dentin duvarlarının ince ve kök boyunun kısa olması; kök kanal tedavisini zorlaştırmakta ve dişleri kırılmaya eğilimli hale getirmektedir (66, 67). Bu dişlere geleneksel kök kanal tedavisi ile apikal bariyer oluşturmak istenirken gutta-perkanın dişin apikalinden taşması ve kök kanalının şekillendirilmesi sırasında dentin duvarlarının daha da kırılma riski gibi istenmeyen sonuçlar oluşabilmektedir. Bu sonuçlar tedavide başarısızlıklara veya kırılmalar sonucu dişlerin erken kayıplarına neden olmaktadır (68).

İmmatür daimi dişlere yapılan tedavilerde amaç; mevcut apikal patolojiyi iyileştirmek, semptomların klinik olarak çözülmesini sağlamak, devam eden kök gelişimini desteklemek ve pulpa dokusunun fonksiyonel yeterliliğini geri kazandırmaktır (10). Kök kırılma riskini azalttığı ve dişin kron/kök oranını iyileştirdiği için kök gelişiminin devam etmesi beklenmektedir. Bu dişleri fonksiyonel ve estetik nedenlerle tutmaya çalışmak önemlidir ve alternatif tedaviler genellikle büyüme tamamlanana kadar düşünülmemelidir (60). ). Etkilenen pulpanın canlılığına bağlı olarak tedavi yaklaşımı değişmektedir. Vital olması halinde apeksogenezis

düşünülürken (69); nekrotik pulpalı ve açık apeksleri olan immatür daimi dişler için üç ana tedavi seçeneği vardır. Bunlar;  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ile apeksifikasyon, kalsiyum silikat esaslı materyaller ile apikal bariyer oluşturmak ve rejeneratif endodontik tedavileri içermektedir (60).

### **2.3.1. Apeksogenezis**

Apeksogenezis; kök ucunun oluşumunu ve fizyolojik gelişimini teşvik etmek için gerçekleştirilen vital bir pulpa tedavisi olarak tanımlanmaktadır (70). İmmatür daimi dişlerin vital olması halinde direkt/indirekt pulpa kaplamaları ve parsiyel/total pulpotomiler ile; pulpanın canlılığını koruyarak kök kompleksinin normal gelişimini desteklenmesine dayanan bir tedavidir (71). Pulpanın canlılığını ve apikal gelişim düzeyini belirlemek için hastalar üç aylık aralıklarla takip edilmektedir. Pulpanın geri dönüşümsüz olarak enflamasyonu/nekrotik hale geldiği belirlenirse veya herhangi bir rezorpsiyon oluşur ise pulpa uzaklaştırılmalı ve alternatif tedavilere yönelilmelidir (69).

### **2.3.2. Apeksifikasyon**

Apeksifikasyon; nekrotik pulpalı immatür bir dişte kökün apikal gelişiminin devam etmesi veya apeksi açık olan bir kökte kalsifiye bariyer oluşturma esasına dayanan bir tedavi yöntemidir (70). Apikal bariyer oluşumunu indüklemek için uzun süreli  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'nin kanal içinde bekletilmesi veya kalsiyum silikat esaslı materyallerin yapay bir apikal bariyer olarak kanal içine yerleştirilmesi işlemleri içermektedir. Ancak bu yöntemler; semptomların geçmesini sağlasa da kök duvarının kalınlaşmasını veya kökün gelişimini desteklememektedir (72).

#### **2.3.2.1. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile Apeksifikasyon**

Apikal bariyer oluşumunun uyarılması için çeşitli materyaller önerilmiş olmasına rağmen,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  sıklıkla tercih edilen kanal içi ilaçtır. Periapikal dokuların bu materyale reaksiyonunun, pulpa dokusununkine benzer olduğu gösterilmiştir (73).  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , yarattığı çok katmanlı bir nekroz tabakası ile alttaki dokuda düşük dereceli tahriş oluşturarak matriks üretimi sağlamakta ve buna bağlı olarak da mineralizasyon

gerçekleşmektedir.  $\text{Ca}^{+2}$  iyonları bu kollajen matrikse çekilmekte ve kalsifikasyonu başlatmaktadır (74).

Apikal bir bariyerin mineralizasyonunun, mikroorganizmaların yokluğu ve yüksek pH düzeyi ile daha başarılı olduğu gösterilmiştir.  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , yüksek antibakteriyel özelliğe sahiptir. Ayrıca oldukça oksidan ve reaktif olan  $\text{OH}^{-1}$  iyonlarını serbest bırakarak bakteriyel sitoplazmik membranında ve DNA’da hasara ya da protein denatürasyonuna sebep olmaktadır (69).  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ’in yüksek pH’ının sert doku oluşumunu indüklemeye kabiliyetinde de önemli bir unsur olduğu gösterilmiştir (75).

Bu tedavi seçeneği, giriş kavitesinin açılmasının ardından kök kanalının mekanik/kimyasal olarak temizlenmesi ve daha hızlı bir iyileşme sağlamak için periyodik olarak değiştirilen bir  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  medikamentinin uygulanmasını içermektedir.  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ’in değiştirilmesi gerekip gerekmediği veya ne sıklıkla değiştirileceği konusunda tartışmalar mevcuttur. Ancak ilk değişimin 4-6 hafta sonra yapılması, daha sonra ise hekimin apeksi eği ile kontrolü esnasında bir bariyer hissetmesi ile sonlandırılmak üzere her 2-3 ayda bir değişimi tavsiye edilmektedir (76). Mineralize bariyer oluşmasından sonra kök kanalı pat ve gutta-perka ile doldurulmaktadır. Ne yazık ki bu işlem; uzun bir tedavi olması, tamamlanmasının 6-24 ay arasında sürmesi, hastadaki ilerlemeyi ve medikament değiştirme ihtiyacını değerlendirmek için birden fazla seans gerektirmesi ve seanslar arası enfeksiyon riski gibi bazı dezavantajlar sunmaktadır (21).

Bu yöntemin başka bir dezavantajı ise, kök kırığı riskini artırarak dentinin mekanik özelliklerini zayıflatmasıdır (15). Dentinin eğilme dayanımı, hidroksiapatit kristalleri ve kollajen arasındaki bağlantılar tarafından sağlanmaktadır.  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  alkalinitesi bu bağlantıları etkileyerek dentini zayıflatmakta ve kırılmaya meyilli hale getirmektedir (12). Literatürde,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ’nin bir aydan daha uzun süre kullanıldığında dentinin mekanik özelliklerinde olumsuz değişikliklere sebep olduğu da gösterilmiştir (77-79).

### **2.3.2.2. MTA ile Apeksifikasyon**

Daha yakın zamanlarda, yeni bir materyal olan MTA kullanılarak “Apikal Plug” olarak adlandırılan başka bir apeksifikasyon çeşidi tanımlanmıştır (80). Koronal

sızdırmazlığın endodontik başarısızlığı önlemedeki önemi iyi bilinmektedir (81, 82). Bu nedenlerle, tek seans apeksifikasyon önerilmiştir. Bu tek seansta apeksifikasyon tedavisi, “biyouyumlu bir materyalin kök kanalının apikal ucuna cerrahi olmayan uygulaması” olarak tanımlanmaktadır. Amaç, kök kanalının hemen doldurulmasını sağlayacak yapay bir apikal bariyer oluşturmaktır (83).

MTA ile apikal plug tekniği için klinik uygulamalar aşağıdaki şekilde özetlenebilir;

1. İlk seansta; giriş kavitesinin açılması, NaOCl ile irrigasyon yapılması ve bir hafta boyunca kalacak şekilde  $\text{Ca(OH)}_2$ 'in kanala yerleştirilmesi,
2. İkinci seansta;  $\text{Ca(OH)}_2$  kanaldan uzaklaştırılması, yıkama protokolü ve kanalın kağıt konilerle kurutulmasını takiben, bir taşıyıcı ile kanalın apikal kısmına 3-4 mm'lik MTA yerleştirilir. Materyalin koronal kısmının nemle sertleşmesini sağlamak için kanala nemli bir pamuk pelet yerleştirilir ve diş geçici bir restorasyon materyali ile kapatılır.
3. 72 saat sonra MTA sertleşince kanalın geri kalanı gutta-perka ve pat ile doldurulur (84).

Kanalda oluşturulması gereken bariyer materyalinin miktarının, sızıntıyı engelleyecek ve yer değiştirmeye karşı yeterli direnci gösterecek şekilde olması önemli bir aşamadır (85).

Son yıllarda, MTA,  $\text{Ca(OH)}_2$ 'e göre avantajları nedeniyle apeksifikasyon için ilk tercih edilen materyaldir. MTA, daha kısa tedavi süresi (2-3 randevu) ve daha iyi hasta uyumu sağlamaktadır (86). MTA'nın biyouyumluluğu, kök ucundan çıkan MTA'nın olumsuz bir doku cevabı üretmediğini veya periapikal iyileşmeyi etkilemediğini gösteren çalışmalarla desteklenmiştir (87). Aynı zamanda iyi bir sızdırmazlık özelliğine sahiptir ve nemli ortamda sertleşebilmektedir (88).

Tüm bu olumlu yönlerinin yanı sıra, MTA ile apikal bariyer tekniğinin bir dezavantajı, kök gelişiminin devam etmesine veya kron/kök oranında iyileşmeye izin vermemesidir (89). Dolayısıyla, MTA apikal bariyer tekniği ile kök kırığı riski mevcuttur, ancak  $\text{Ca(OH)}_2$  tedavisine göre daha az olabilmektedir (90). MTA'nın

yüksek maliyeti de apeksifikasyon materyali olarak kullanımında sınırlayıcı bir faktördür (86).

#### **2.4. Rejeneratif Endodontik Tedavi**

2001 yılında, apikal periodontitisli ve sinüs yolu bulunan immatür daimi diş tedavi etmek için endodontide “revaskülarizasyon” adı verilen yeni bir tedavi seçeneği tanıtılmıştır (17). Kök kanal sisteminde oluşan dokular sadece kan damarları değil aynı zamanda yumuşak ve sert dokular da olduğu için, revaskülarizasyon terimi yerine “revitalizasyon” daha geçerli bir terim olarak tavsiye edilmiştir (91). 'Rejeneratif endodonti' terimi, AAE tarafından 2007 yılında doku mühendisliği prensiplerine dayalı olarak benimsenmiştir (18). Rejeneratif endodontide; enfeksiyon, travma veya gelişimsel anomaliler nedeniyle hasar görmüş pulpa dokusunu yenilemek için kanal boşluğunda doku mühendisliğinin üçlü kavramı olan; kök hücreler, biyomimetik yapı iskelesi ve biyoaktif büyüme faktörleri uygulanmaktadır (92). Revitalizasyon terimi, Avrupa Endodonti Derneği (ESE) tarafından kullanılmıştır (93). Endodonti literatüründe rejeneratif endodonti tedavi, revitalizasyon ve revaskülarizasyon eş anlamlıdır ve birbirinin yerine geçebilmektedir. (7).

Rejeneratif endodonti; dentin, kök yapıları ve ayrıca pulpa-dentin kompleksinin hücreleri dahil olmak üzere hasarlı diş yapılarını değiştirmek için tasarlanmış biyolojik temelli işlemler olarak tanımlanmaktadır (94). Bu yöntem, tedavi edilen dişlerde kök gelişiminin devam etme potansiyelini koruması nedeni ile immatür dişlerin geri dönüşümsüz olarak hasar görmüş pulpaları için geliştirilmiş bir alternatif tedavi olarak önerilmiştir (66, 72).

#### **Rejeneratif Endodontik Tedavi Aşamaları**

Rejeneratif endodontik tedavide doğru endikasyon ve vaka seçimi son derece önemlidir. AAE'nin tavsiye ettiği tedavi protokolüne göre vaka seçimi için şu ölçütler dikkate alınmalıdır;

- Nekrotik pulpalı ve olgunlaşmamış apeksli dişler,
- Post/kor ya da final restorasyonu için pulpa boşluğunun dahil edilmesi gerekmeyen dişler,

- Uyumlu hasta/ebeveyn,
- İşlemi uygulamak için kullanılması gereken antibiyotiklere ve ilaçlara alerjisi olmayan hastalar,

AAE'nin yayınladığı ve 2018 yılında yenilenen, rejeneratif tedaviler için klinik uygulamalara yönelik aşamalar şu şekilde açıklanmıştır (Şekil 1).

### 1.SEANS

- Aydınlatılmış onam formunu takiben, tedavinin iki veya daha fazla randevuda gerçekleştirilmesi, sık takip gerektirmesi, kullanılan antimikrobiyallerin alerjenik potansiyeli ve dişte renk değişikliği yaratabilmesi, iyileşmeme, ağrı ve enflamasyon gibi olumsuz etkilerin oluşabileceği hastaya açıklanmalıdır. Apeksifikasyon, çekim veya hiç tedavi uygulanmaması gibi diğer alternatif tedavi seçenekleri hakkında hasta bilgilendirilmelidir.

- Lokal anesteziyi takiben dişi izole edebilmek için rubber-dam takılır ve giriş kavitesi açılır.

- Kök kanalına giriş yapıldıktan sonra küçük eğeler ile çalışma boyu belirlenir. Periapikal boşluğa taşma olasılığını en aza indirecek şekilde çalışma boyundan yaklaşık 1 mm kısa boyda irrigasyon iğnesi yerleştirilerek 20 mL NaOCl solüsyonu ile 5 dakika boyunca yıkanır. Apikal dokulardaki kök hücrelere sitotoksitesini azaltmak için daha düşük NaOCl konsantrasyonları (%1.5) önerilir. Ardından salin ya da EDTA (20 mL/kanal) ile 5 dk irrigasyon yapılır.

- Kanallar kağıt koniler ile kurutulduktan sonra kanal içi medikament uygulanır. Bu amaçla kanal içi medikament olarak sıklıkla  $\text{Ca(OH)}_2$ , üçlü (TAP) ve ikili (DAP) antibiyotik patlarından herhangi biri kullanılmaktadır. Eğer TAP kullanılıyorsa, minosiklin içeriği sebebiyle renklenmeye sebep olmaması için pulpa odası bir dentin bağlayıcı ajan kullanılarak kapatılabilir ya da TAP'ın mine-sement seviyesinin altında yerleştirilmesi sağlanabilir.

- 3- 4 mm'lik Cavit™, IRM™, cam iyonomer veya başka bir geçici materyal ile giriş kavitesi sızdırmaz bir şekilde kapatılır. Hastanın durumunu değerlendirmek için 1-4 hafta sonra tekrar randevu oluşturulur.

## 2.SEANS

- 1-4 hafta sonra takip randevusunda, hastanın semptomları devam ediyorsa ve/veya enflamasyon belirtileri varsa, aynı veya farklı bir antimikrobiyal ajan ile ek tedavi süresi gerekebilir.

- Herhangi bir semptom veya enflamasyon belirtisi yoksa, rejeneratif işlemin bir sonraki aşamasına devam edilir. Hastaya lokal anestezi olarak kanama indüksiyonunu engellememesi için vazokonstriktör içermeyen %3 Mepivakain yapılır ve diş izloasyonu rubber-dam ile sağlanır.

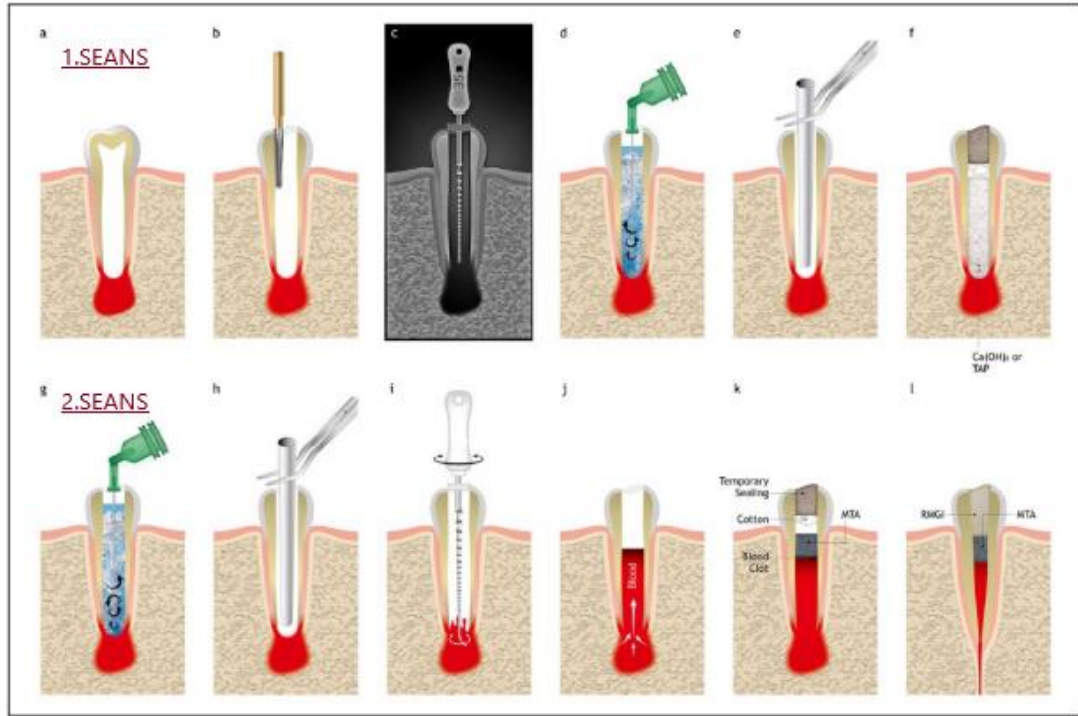
- 20 mL %17 EDTA ile irrigasyon yapılarak kanaldan medikamentler uzaklaştırılır. Kanallar kağıt koniler ile kurutulur.

- Periapikal bölgeden kanamayı indüklemek için önceden eğim verilmiş bir K tipi eğe apikal foramenden 2 mm ötede döndürülerek mine-sement birleşim seviyesine kadar tüm kanalın kanla dolması sağlanır. Kan pıhtısı oluşturmaya bir alternatif, trombosit zengin plazma (PRP), trombosit zengin fibrin (PRF) veya otolog fibrin matrisinin (AFM) kullanılmasıdır.

- Kanama seviyesi, 3-4 mm bariyer materyalinin yerleştirilmesine olanak sağlayacak düzeyde bırakılır. Ayrıca yerleştirilecek bariyer materyalinin daha apikale itilmesini engellemek için kan pıhtısının üzerine CollaPlug™, Collacote™, CollaTape™ gibi emilebilir bir matris kullanılabilir.

- Mine-sement birleşiminden 3-4 mm altında ve kollajen matriksinin üzerini örtecek şekilde bir kalsiyum silikat esaslı materyal uygulanır. Bunun için ilk akla gelen MTA olsa da renklenme yapabileceği için estetik kaygının olduğu dişlerde MTA'ya alternatifler olarak Biodentine ya da EndoSequenceBC düşünülmelidir. Daha sonra diş sızdırmaz bir şekilde daimi restorasyon ile kapatılır (Şekil 2.2.).

- Hasta 6., 12. ve 24. ayda takip randevularına çağrılarak klinik ve radyografik olarak değerlendirilir.



(a) Apeksleri açık, nekrotik pulpalı ve apikal periodontitisli immatür dişler, (b) Giriş kavitesinin açılması, (c) Radyografi alınarak çalışma uzunluğunun belirlenmesi, (d) % 1.5 NaOCl, ardından salin veya %17 EDTA ile irrigasyon, (e) kağıt koniler ile kanalların kurutulması, (f)  $\text{Ca(OH)}_2$  veya TAP gibi kanal içi ilaçların kanala yerleştirilmesi ve geçici dolgu materyali ile kapatılması. Herhangi bir enfeksiyon belirtisinin olmadığını doğruladıktan sonra 2. Seansta; (g) kanal içi ilacın %17 EDTA ile uzaklaştırılması ve ardından steril salin ile irrigasyon, (h) kağıt koniler ile kanalların kurutulması, (i ve j) apikal foramenin ötesinde önceden eğim verilmiş bir kanal eğesi ile kanama odağının oluşturulması, (k) kan pıhtısı üzerine MTA gibi kalsiyum silikat esaslı simanın yerleştirilmesi, (l) Pulpa-dentin rejenerasyonu, diş canlılığının korunmasının yanı sıra kanal duvarlarında kalınlaşma, kökte uzama ve apikal kapanma ile kök gelişiminin devam ettiği diş görüntüsü (95).

**Şekil 2.2.**Revaskularizasyon aşamaları şematik gösterimi.

Nekrotik pulpalı immatür dişlerin başarılı revaskularizasyonu esas olarak 3 ana bileşene bağlıdır;

- Dezenfeksiyon
- Mezenşimal kök hücrelerin (MSC) göçü ve bir iskele kurulması
- Koronal bariyerin yerleştirilmesi ve restorasyon

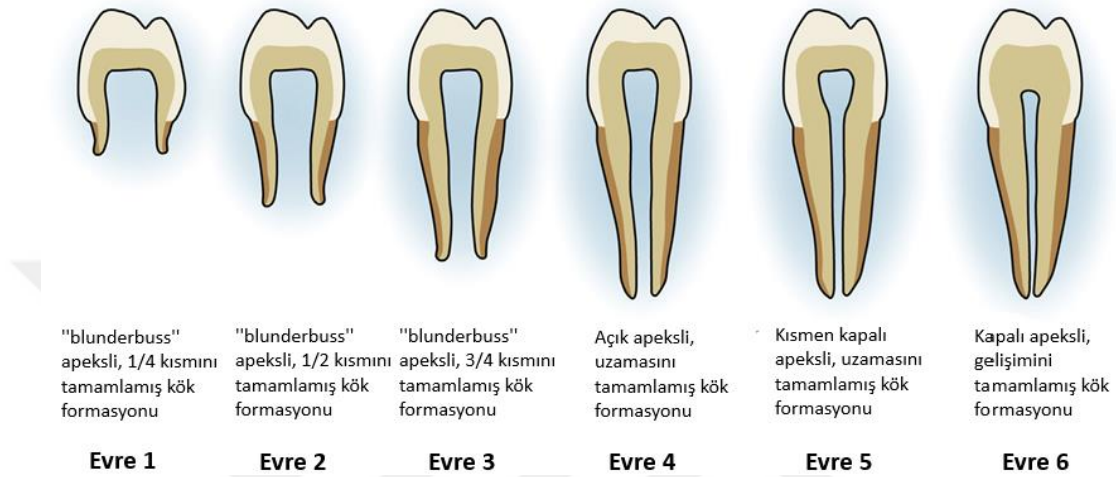
Tüm endodontik işlemlerde mikrobiyal biyofilmin ortadan kaldırılması çok önemlidir. RET'de dezenfeksiyon, kök hücrelere elverişli bir ortam için zemin hazırlamaktadır (96). Apikal papilla ve periodontal ligament gibi periapikal dokulardan gelen MSC'ler, kök kanal sistemine alınmaktadır ve MSC'lerin rejeneratif süreçlere aracılık ettiği düşünülmektedir. Kök hücrelerinin canlı kalmasını ve

farklılaşmasını etkileyen çeşitli faktörler nedeniyle, önceden var olan biyofilmlerin uzaklaştırılması ve dezenfeksiyon için kanal sisteminde kullanılan materyallerin dikkatli seçilmesi gerekmektedir (56). Mevcut AAE (29) ve ESE (93) kılavuzları, kalan dentini korumak için kanal sistemlerinde ya minimum şekillendirme yapılmasını veya hiç yapılmamasını önermektedir. Bu nedenle RET'ler, mikrobiyal biyofilmin ve yan ürünlerinin ortadan kaldırılması için tamamen kimyasal dezenfeksiyona güvenmektedir (20, 26).

RET'lerde indüklenmiş kanamanın ilk kullanımı (yani revaskülarizasyon), apikal iyileşmede bir kan pıhtısının rolünü araştıran Dr.Nyggard-Ostby'nin çalışmasına dayanmaktadır (97). 2011 yılında yapılan bir klinik çalışma ile kanama indüksiyonu için apikal dokuların tahriş edildiği hastalarda önemli konsantrasyonlarda MSC'lerin kök kanallarına göç ettiği gösterilmiştir (98). Uygun bir 3-boyutlu matriks, kök hücrelerin uygun organizasyonuna ve rejeneratif bir süreç sırasında hücreler arası etkileşime izin vermektedir. Bu nedenle, kan pıhtısında bir fibrin ağının oluşumu, 3 boyutlu bir matrikste çoğalan hücreler için iskele görevi görmektedir. Bazı çalışmalarda, yeterli kan pıhtısı eldesi öngörülememesi (56) nedeniyle; PRP (99), PRF (100), ve fibroblast türevli büyüme faktörünü içeren enjekte edilebilir yapı iskelesi (101) gibi diğer iskele matriksleri kullanılmış ve bir kan pıhtısı ile karşılaştırılarak başarı göstermiştir. Bu işlemin diğer önemli bir adımı, diğer biyoseramik materyallerin yanı sıra MTA veya Biodentine gibi mineralizasyon öncüsü, biyouyumlu ve antibakteriyel etkinliği olan materyaller ile biyoaktif bir “koronal plug”ın oluşturulmasıdır (26). Bu materyallerin, MSC'lerin proliferasyonuna izin verirken, MSC'lerin odontoblast benzeri hücrelere farklılaşmasını teşvik ettiği gösterilmiştir (102, 103). Kanal ağzının bakteri geçişine karşı sızdırmaz bir şekilde kapatılabilmesi için bu biyoaktif materyallerden kökün servikal kısmına mine-sement birleşiminin altında 3-4 mm kadar bir tabaka yerleştirilmesi önerilmiştir (94, 104). Ancak biyomateryalin yerleştirildiği bölgede yeni doku gelişimi olmadığı (66) ve daha kalın bir koronal bariyer kırılma direccine ek bir katkı sağlamadığı için hem biyolojik hem de mekanik olarak rejeneratif endodontik işlemler için 2-3 mm kalınlığında koronal bariyer uygulanması da önerilmektedir (105).

Apikal foramenlerin boyutu, rejeneratif endodontik tedavide başarıyı etkileyen bir diğer faktördür. Kök oluşumu ve diş olgunlaşma derecesi, önceden belirlenmiş

kriterlere göre geniş bir şekilde sınıflandırılabilir (106, 107). RET'ler uygulanan vakalar yüksek oranda; kökün en az yarısı oluşmuş ancak açık apeksi "*blunderbuss*" şeklinde olan evre 2 ile kök uzamasını tamamlamış ancak dentin duvarında kalınlaşma olmayan ve açık apeksli olan evre 5 arasındaki dişleri içermektedir (56) (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3.** Kök gelişim evreleri (56)

Geniş açık bir apeks, MSC'lerin kök kanal boşluğuna göç etmesini ve kök kanal boşluğunda doku büyümesini kolaylaştırmaktadır (98). Yeniden implante edilen insan daimi kesici dişlerinde başarılı bir revaskülarizasyon sağlamak için en az 1,1 mm çapında bir apikal foramenin gerektiği bildirilmiştir (108). Bu nedenle, nekrotik pulpalı ve tamamen kapanmış apekslere sahip daimi dişlerin rejeneratif endodontik tedavi için uygun olmadığı düşünülmüştür. Ancak endodontide RET'ler immatür dişlere özgü değildir, çünkü olgunlaşmanın 5. ve 6. evrelerindeki dişlerde de başarılı sonuçlar bildiren vakalar yayınlanmıştır (109, 110). Çalışmalardan birinde, 0.32 mm çapındaki apikal foramen boyutunun transplantasyondan sonra revaskülarizasyonu ve kök hücrelerini kanallara geçişini engellemediği gösterilmiştir (111).

Güçlü kök hücre rejenerasyonu potansiyeli nedeniyle 9-18 yaş grubundaki genç hastalar, RET'ler için uygun adaylar olarak kabul edilmektedir (112). MSC'lerin proliferasyonunun, farklılaşmanın ve genel rejeneratif potansiyelinin yaşla birlikte azaldığına dair güçlü kanıtlar mevcuttur. Ancak daha ileri yaşlardaki hastalarda denenen RET'lerin de başarı gösterdiği görülmüştür (113, 114).

AAE, rejeneratif endodontik tedaviler için klinik başarıyı üç ölçüt ile değerlendirmektedir.

- Birincil amaç, semptomların giderilmesi ve apikal periodontitisin iyileşmesinin radyografik olarak da gözlemlenmesi,
- İkincil amaç, kök duvar kalınlaşmasının ve/veya kök uzunluğunda artış görülmesi,
- Üçüncül amaç ise canlılık testine olumlu yanıt alınmasıdır (115).

İki sistematik incelemede, RET'nin birincil amacına yüksek oranlarda (periapikal iyileşmenin %91-94'ü) güvenilir bir şekilde ulaşılabilceği gösterilmiştir (14, 116). Ancak başarısız vakalar dezenfeksiyon protokollerinin yerine getirilmemesi ile ilişkilendirilmiştir (58).

Çalışmaların çoğu, RET'nin nekrotik pulpalı immatür dişlerin kanal duvarlarının kalınlaşmasını ve/veya kök gelişiminin sürdürülmesini sağlama potansiyeline sahip olduğu bildirmiştir. RET'nin kanal boşluğunda hasar görmüş dokunun canlılığını geri kazandırmak için pulpa-dentin kompleksini yenileyebildiğine ve kırılan immatür daimi dişleri güçlendirmek için kanal duvarlarının kalınlığını artırabildiğine inanılmaktadır (17, 117). Ancak bu beklentiler nekrotik pulpalı immatür daimi dişlerin RET'inden sonra her zaman gözlemlenmemektedir (118, 119).

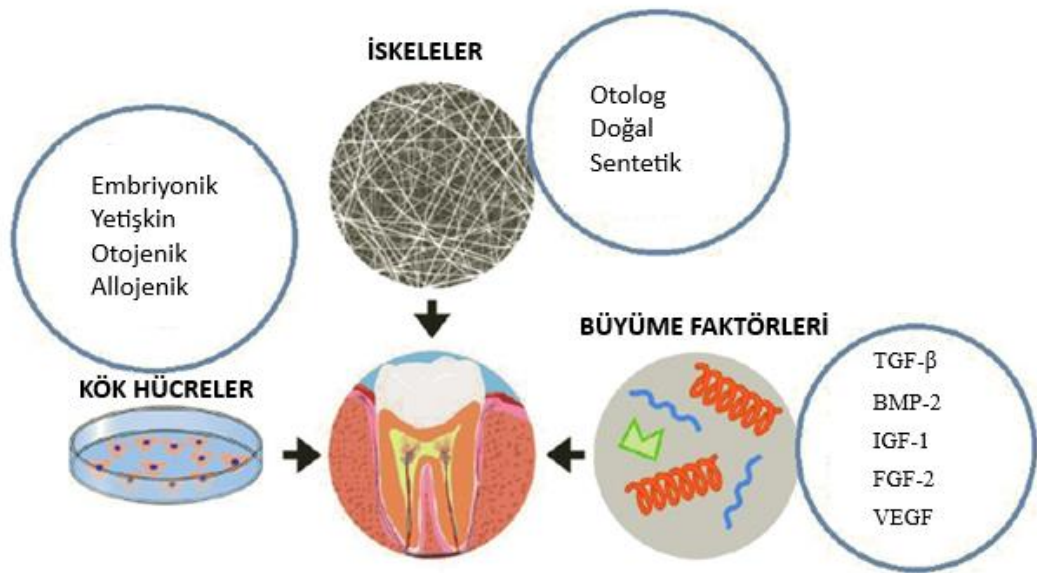
Kanal boşluğunda canlı dokunun varlığının göstergesi olarak radyografik kök olgunlaşması gözlenen birçok vakada, dişlerin soğuk veya elektriksel uyarılar gibi duyarlılık testlerine olumsuz yanıt vermesi, pulpanın ya da benzeri bir dokunun var olmadığı anlamına gelmemektedir (21). Bu durum kökün servikaline yerleştirilen bariyer ve üst restorasyon ya da kök kanal kalsifikasyonu sebebiyle testlerin kanal boşluğundaki canlı doku ile arasındaki etkileşimin sağlanamamasına bağlanmaktadır (58).

## **2.5. Doku Mühendisliği**

Doku mühendisliği; yetersiz veya hasar görmüş dokuların yerine yeni dokuların fonksiyonunun değiştirilmesini, onarılmasını, korunmasını ve/veya

arttırılmasını amaçlayan biyolojik terapötik stratejileri uygulayan multidisipliner bir alandır (18). Bu süreç 3 temel bileşenin etkileşimi üzerine kuruludur;

1. Yeni doku matriksinin sentezlenmesinden sorumlu hücreler (kök hücreler/progenitör hücreler),
2. İşlevsellikleri desteklemek ve kolaylaştırmak için gerekli sinyalleşme/büyüme faktörleri/Morfojenler,
3. Hücre dışı matriks olarak işlev gören hücre farklılaşması, çoğalması ve biyosentez için gerekli olan biyomateriyal yapı iskeleleri (Şekil 2.4)



**Şekil 2.4.** Doku mühendisliğinin 3 temel bileşeni (120)

### 2.5.1. Kök Hücreler

Kök hücre, kendini yenileyebilen, çeşitli hücre türlerine farklılaşabilen sürekli olarak bölünme yeteneğine sahip özelleşmemiş hücreler olarak tanımlanmaktadır (121).

Kök Hücrelerin Sınıflandırılması;

#### *I. Plastisitesi/ Farklılaşma Potansiyeline Göre*

a. Totipotent; veya omnipotent hücreler en farklılaşmamış hücrelerdir ve erken gelişim döneminde bulunurlar. Totipotent kök hücreler bir canlıdaki tüm hücre

tiplerine farklılaşabilme potansiyeline sahiptirler. Dölllenmiş oosit, hem embriyonik hem de ekstraembriyonik dokulara farklılaşarak embriyo ve plasentayı oluşturabildiği için totipotent hücredir (122).

b. Pluripotent: Embriyonik zarın hücreleri hariç tüm doku ve organların geliştiği 3 germ tabakasından (ektoderm, endoderm ve mezoderm) ortaya çıkan hücelere farklılaşabilmektedirler (123).

c. Multipotent: Çoğu dokuda bulunur ve tek bir germ tabakasından hücelere farklılaşır (124). MSC'ler, en çok tanınan multipotent hücelerdir. Bu hüceler yağ dokusu, kemik, kıkırdak ve kas gibi mezodermden türetilen belirli dokulara farklılaşabilmektedirler (125, 126).

d. Oligopotent: Belirli bir doku içinde 2 veya daha fazla hücre tipi oluşturabilir. Hem miyeloid hem de lenfoid hücelere farklılaşabildikleri için hematopoietik kök hüceler, oligopotent kök hücelerin tipik bir örneğidir (127).

e. Unipotent: Kendilerini yenileyebilmekte ve sadece bir hücre tipine farklılaşabilmektedirler. Kas kök hüceleri gibi sadece olgun kas hücelerin üretebilmektedirler (128).

## *II. Kökenlerine Göre*

### *a. Embriyonik kök hüceleri*

Embriyonik (fetal) kök hüceler, embriyolardan (blastokistler) elde edilmektedir. Pluripotenttir ve postnatal kök hücelerden daha fazla plastisiteye sahiptir (129). Bu nedenle, bu kök hüceler doku mühendisliğinde daha değerlidir, ancak kaynaklarına ilişkin tartışmalı etik ve yasal sorunlar nedeniyle kolayca kullanılamazlar. Bu nedenle postnatal (yetişkin) kök hücelere daha fazla odaklanılmıştır (18).

### *b. Yetişkin/ Postnatal/ MSC*

Yetişkin kök hüceler, bu isim oldukça yanıltıcıdır çünkü bebeklerde ve çocuklarda da kök hüceler mevcuttur. Bu nedenle postnatal kök hücre terimi tercih edilmesi daha doğru olmaktadır (130). Sınırlı özel dokular oluşturabilirler. MSC'lerin farklılaşma kapasitesi daha kısıtlıdır, sadece mezenşimal kökenli dokular oluşturur ve bu nedenle multipotent olarak sınıflandırılır (131).

### *III. Kaynaklarına Göre*

a. Otojenik: uygulanacakları kişiden sağlanan hücrelerdir. Otojenik kök hücreler, bağışıklık cevabı ve patojen bulaşması ile ilgili sorunları en aza indirmektedir (132). Hastanın kendi hücrelerini toplamak, onları elde etmek maliyeti düşürmekte; yasal ve etik kaygıları önlemektedir (133).

b. Allojenik: Aynı türün donöründen elde edilmektedirler.

c. Xenojenik: Başka bir türün bireylerinden izole edilen hücrelerdir.

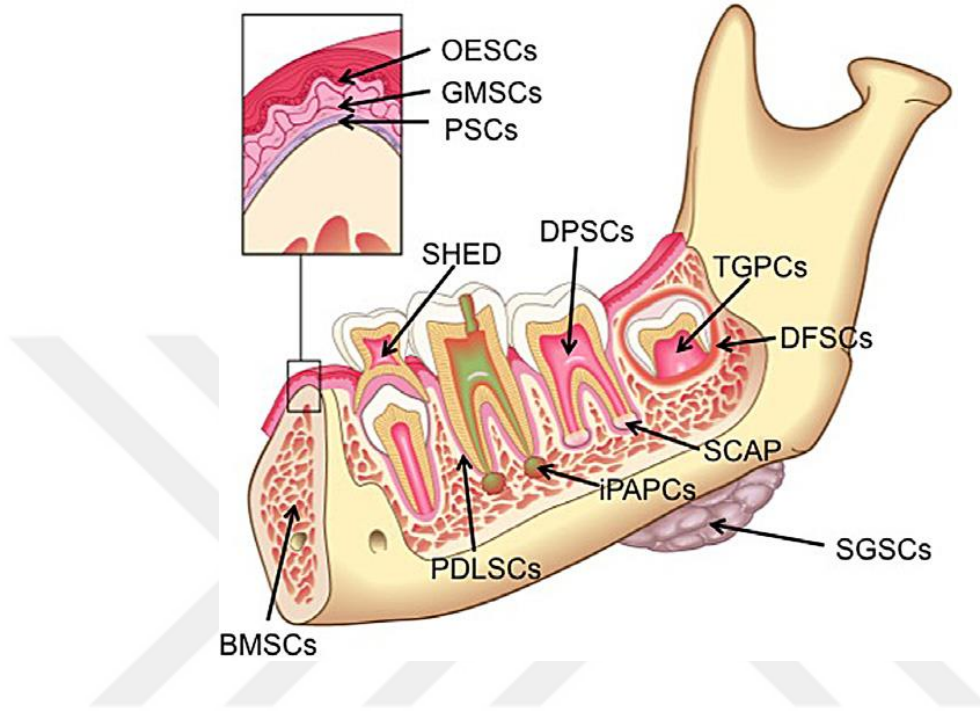
d. İzojenik: Genetik olarak özdeş organizmalardan ; ikizler, klonlardan elde edilmektedirler (134).

### **Dental Kök Hücreleri**

Kök hücreler, belirli koşullar altında çeşitli fonksiyonel hücelere veya doku ve organlara farklılaşabilirler ve bu nedenle “evrensel hücreler” olarak bilinmektedirler. Son yıllarda doku mühendisliğindeki hızlı gelişmelere bağlı olarak diş ve doku rejenerasyonu için yeni fikirler önerilmiştir. Çeşitli kök hücre türleri ve biyoaktif faktörlerin kullanımı gibi yeni biyolojik yöntemler, diş rejenerasyon araştırmalarında yaygın olarak uygulanmaktadır (135). Postnatal pulpa, onarıcı dentin oluşumuna aracılık eden birçok progenitor/kök hücre hücrelerine sahiptir. Ayrıca osteoblastlar, odontoblastlar, adipositler, kondrositler ve nöral hücreler gibi farklı hücre tiplerine farklılaşabilmektedir (136). Dental kök hücreleri ortodontik tedavi için çekilen premolarlardan, daimi dişlerin sürmesinden önce kendiliğinden düşen süt dişlerinden ve çoğunlukla fonksiyonda olmayan yirmi yaş dişlerinden kolaylıkla elde edilebilmektedir. Bu sebeplerle dental kök hücreleri giderek artan bir ilgiyle rejeneratif tıp araştırmalarının kaynağı haline gelmektedirler (137).

Orofasiyal bölgede bulunan kök hücrelerin çoğu MSC'lerdir. Ağız dokularında farklı yetişkin kök hücre popülasyonları tanımlanmıştır. Bunlar arasında dental pulpa kök hücreleri (DPSC'ler), süt dişi pulpası kök hücreleri (SHED'ler), periodontal ligament kök hücreleri (PDLSC'ler), diş folikülü kök hücreleri (DFSC'ler), apikal papilla kök hücreleri (SCAP), inflamatuvar periapikal progenitor hücreler (iPAPC'ler),

kemik iliği kök hücreleri (BMSC'ler), diş germi progenitör hücreleri (TGPC'ler), tükürük bezi kök hücreleri (SGSC'ler), oral epitelyal kök hücreler (OESC'ler), dişeti kaynaklı mezenkimal kök hücreler (GMSC'ler) ve periosteal kök hücreler (PSC'ler) bulunmaktadır (138, 139) (Şekil 2.5).



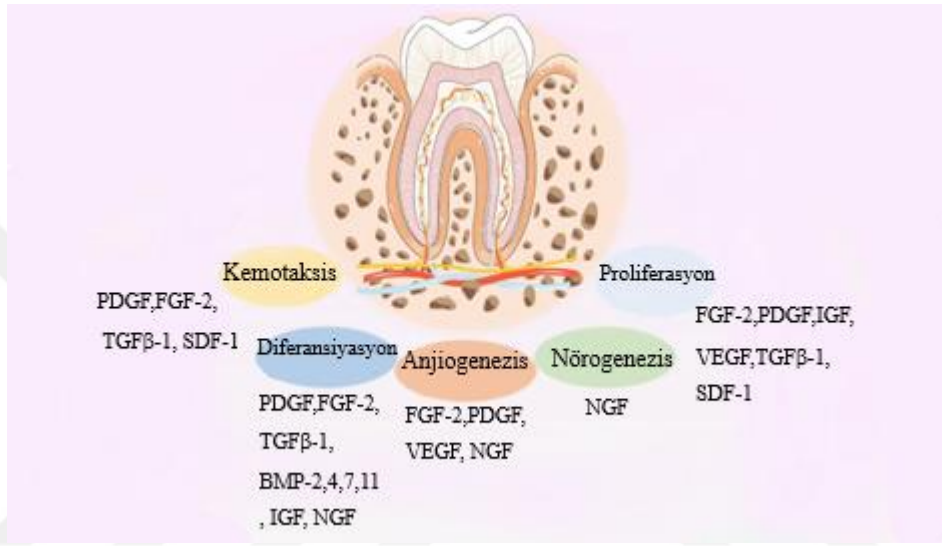
Şekil 2.5. Dental kök hücreleri (10)

### 2.5.2. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri, hücre üzerindeki reseptörlere bağlanarak hücrelerel çoğalmayı ve/veya farklılaşmayı uyaran proteinlerdir (140). Kök hücrelerin göçü, çoğalması, kemotaksisi ve anjiyojenik, nörojenik ve mineralizasyon fenotiplerine doğru farklılaşması gibi doku rejenerasyonundaki temel hücrelerel olaylara aracılık etmektedir (141). Dentin, doku yanıtlarını uyaraabilen birçok protein içermektedir. Çürük, kavite aşındırma ajanlarının, restoratif materyallerin uygulanmasının ardından diş dokularının demineralizasyonu büyüme faktörlerinin salınmasına neden olabilmektedir (142).

Transforme edici büyüme faktörü-beta; TGF $\beta$ -1, TGF $\beta$ -2, TGF $\beta$ -3 (143), kemik morfojenik proteini BMP-2, BMP-4, BMP-7 (144); insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) (145), fibroblast büyüme faktörü 2; (FGF-2) (146), vasküler endotelyal büyüme faktörü; (VEGF) (146), hepatosit büyüme faktörü; (HGF) (147), dentin

matriksinde bulunan büyüme faktörleridir. BMP ve TGF- $\beta$  aileleri yetişkinlerde diş dokularının rejenerasyonunda yönlendirici bir rol göstermiştir (148). İnsan IGF-1'in kollajen ile birlikte uygulanmasının, tam dentin köprüsü ve tübüler dentin oluşumunu indüklediği bulunmuştur (149). Ayrıca trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), anjiyogenezi, MSC'lerin kemotaksisini destekleyen, diğer büyüme faktörleriyle sinerjistik olarak odontoblastik farklılaşma sürecini düzenleyen başka bir büyüme faktörüdür (150) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Büyüme faktörleri (151).

### 2.5.3 Doku İskelesi/Çatısı (Scaffolds)

İskele; hücresel göç, adezyon, büyüme ve farklılaşma için fizikokimyasal ve biyolojik bir 3 boyutlu mikro ortam sağlamaktadır. Büyüme faktörleri/morfojenler için taşıyıcı görevi görmektedir (92). İdeal bir iskelede olması beklenen özellikler (152);

- Büyüme faktörlerinin ve hücrelerin tutunmasına sağlayacak şekilde gözenekli olması beklenir.
- Oksijenin, besinlerin ve atıkların taşınmasını sağlamalıdır.
- Hiçbir toksik yan ürün bırakmadan biyolojik olarak parçalanabilir olmalıdır.
- Nihai doku yapısının şeklini ve biçimini korurken gelişen doku ile yer değiştirilmelidir.

- Biyouyumlu olmalıdır.
- Yeterli fiziksel ve mekanik dayanıma sahip olmalıdır.
- Cerrahi sterilizasyona uygun olmalıdır.

RET'lerde en sık kan pıhtısı olmak üzere PRP ve PRF gibi otolog trombosit kaynakları kullanılmaktadır (7). Doku iskeleleri kökenlerine göre doğal ve sentetik olarak sınıflandırılmaktadırlar. Doğal doku iskeleleri; kan pıhtısı, PRP, PRF, kollajen, glikozaminoglikanlar, kitosan ve demineralize ya da doğal dentin matriksini içermektedir (153). Polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA), polilaktikoglikolik asit (PLGA), poliepsilon kaprolakton (PCL), biyoseramik, titanyum, trikalsiyum fosfat, hidroksiapatit ve hidrojeliler sentetik doku iskelesi olarak kullanılmaktadır (134).

## 2.6. Rejeneratif Endodontik Tedavilerin Avantajları

Rejeneratif endodontik tedavilerinin; kök kanal uzunluğunun artışı, kök ucunun kapanmasını ve kanal duvarlarının kalınlaşmasını destekleyerek kök gelişiminin devam etmesini sağladığı gösterilmiştir (9, 98). Diğer olumlu sonuçlar arasında semptomların geçmesiyle beraber sinüs yolu ve apikal periodontitisin iyileşmesi yer almaktadır (98). Nekrotik pulpalı immatür daimi dişlerin, RET'inden sonra pulpa duyarlılık testine yayınlanan vakaların %50-60'ında pozitif yanıt verdiği bildirmiştir (20, 56). Yapılan histolojik çalışmalar, RET sonrası kanal boşluğunda bulunan dokunun sement ve kemik benzeri bir doku olduğunu ve pulpa benzeri olmadığını göstermiştir (154, 155). Bu vital dokuların vaskülarize ve innerve olması, pulpa duyarlılık testine pozitif yanıt vermesini sağlayabilmektedir. Bu nedenle, RET sonrası pulpa testlerine pozitif yanıt verilmesi, her zaman pulpa dokusunun rejenerasyonunu göstermez (7). Ancak pulpal testlere cevap alınamaması da, apikal patolojinin iyileşmesi ve kök gelişiminin devam etmesi gibi sonuçlar alınırken başarısızlık olarak görülmemelidir (156).

Rejeneratif tedavilerin  $\text{Ca(OH)}_2$  ile apeksifikasyona kıyasla daha fazla diş sağkalımına sahip olduğu (sırasıyla %100'e karşı %77) gösterilmiştir (9). Bu durum  $\text{Ca(OH)}_2$  ile apeksifikasyonun; dentin mekanik özelliklerini zayıflatması, kök kırık

riskini artırması, tedavinin uzun sürmesi bu sebeple hasta takibinin zor olması ve koronal sızıntı oluşabilmesi gibi sebeplerle ilişkili olabilmektedir (156).

## **2.7 Rejeneratif Endodontik Tedavilerin Dezavantajlar**

Rejeneratif işlemler, MTA apikal bariyer tekniği ile karşılaştırıldığında daha fazla randevu/takip ve daha uzun tedavi sürelerini içermektedir. Ayrıca renk değişikliği, rejeneratif endodontik işlemlerin yaygın bir komplikasyonudur ve yönetilmesi zor olabilmektedir. Bariyer materyali olan MTA'nın yanı sıra minosiklin içeren TAP'ları kron renginin bozulmasına neden olabilmektedir (89).

RET'ler ile kök oluşumunun devam etmesi öngörülebilir değildir ve bu konuda sonuçlarda bir varyasyon mevcuttur (157). Kanamanın indüklenmesi ile yalnızca orijinal pulpa dokusunun kalıntılarının varlığında yeni pulpa hücrelerinin oluşabildiği bildirilmiştir. Bu nedenle rejenerasyon vakalarının çoğunluğu, rejenerasyondan ziyade hasarlı dokunun onarımı ile sonuçlanmaktadır (158). Öte yandan, kan pıhtısı revaskülarizasyon için önemli bir fibrin iskelesidir fakat içeriğindeki hücrelerin yoğunluğunun ve bileşiminin tam olarak tanımlanamaması sebebiyle yeni oluşan doku belirsizdir (159).

Bazı çalışmalarda, revaskülarizasyonla ilişkili kanal içi kalsifikasyon oluşumunun meydana gelme prevalansının arttığı bildirilmiştir (160, 161). Bu durum, immatür daimi dişlerin başarısız revaskülarizasyonu sonucu oluşan kök kanal kalsifikasyonunun tedavisi konusunda kaygıları artırmaktadır (7).

## **2.8. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Kök Kanal Sisteminin Dezenfeksiyonu**

Pulpa ve periapikal hastalıkların gelişimi ve sürdürülmesinde mikroorganizmaların rolünün büyük olduğu gösterilmiştir (162, 163). Mikroorganizmaların enfekte kök kanallarından uzaklaştırılması zor bir işlemdir. Çeşitli enstrümantasyon teknikleri, irrigasyon rejimleri ve kanal içi ilaçların kullanımı dahil olmak üzere kök kanal sistemindeki bu mikroorganizmaların sayısının azaltılması için seçenekler araştırılmıştır. Mekanik enstrümantasyonun bir kök kanal sistemindeki bakteri eliminasyonunu tek başına sağlayamadığı gösterilmiştir (164).

Kök kanal pulpa boşluğunun karmaşık anatomisi düşünüldüğünde bu beklenen bir sonuçtur (165, 166). Kök kanallarında kalan herhangi bir pulpa dokusunun bakteriyel besin kaynağı olabileceği varsayılmaktadır. Ayrıca doku kalıntıları, kök kanal irrigasyon maddelerinin ve ilaçların antimikrobiyal etkilerini de engellemektedir. Bu nedenle kök kanallarından dokuları uzaklaştırmak ve mikroorganizmaları öldürmek için bir çeşit irrigasyon/dezenfeksiyon gerekmektedir (24).

RET'de kök hücrelerin korunması önemlidir. Enfeksiyonun varlığı, periapikal dokulardaki kök hücrelere ve yeni doku oluşumunu sağlayan hücrelere zararlı etkileri sebebiyle pulpa dokusu rejenerasyon sürecini olumsuz etkileyebilmektedir (167). Enfeksiyon/enflamasyon, büyüme faktörleri tarafından MSC'lerin doku hasarı bölgesine yerleşmesine neden olmaktadır (168). Bununla birlikte MSC'ler de anti-inflamatuar ve immün düzenleyici özelliklere sahip olmasına rağmen (169); IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuar sitokinlerin, kök hücrelerin yenilenme veya onarım için somatik hücrelere farklılaşmasını engelleyebildiği gösterilmiştir (170). Bu nedenle, RET'de olası pulpa dokusu rejenerasyonunun meydana gelebilmesi için intraradiküler enfeksiyon kaynağı olan mikroorganizmalar elimine edilmelidir (171).

Mekanik temizleme, ince dentin kök duvarlarını zayıflatabileceği (15) ve kanalın apikal kısmında bulunabilecek kök hücreleri/canlı doku kalıntılarını ortadan kaldıracak için önerilmemektedir (17). Bu nedenle RET'ler, mikrobiyal biyofilmin ve yan ürünlerinin elimine edilebilmesi için minimum şekillendirme ya da tamamen kimyasal dezenfeksiyon yapılmasını desteklemektedir. Çoğunlukla tercih edilen kimyasal dezenfektanlar arasında; NaOCl, EDTA ve CHX gibi irrigasyon solüsyonları ve TAP, DAP veya Ca(OH)<sub>2</sub> gibi kanal içi ilaçlar mevcuttur (20, 26).

### **2.8.1. Rejeneratif Endodontik Tedavide Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları**

Endodontik açıdan ideal bir irrigasyon solüsyonunda olması beklenen özellikler (156);

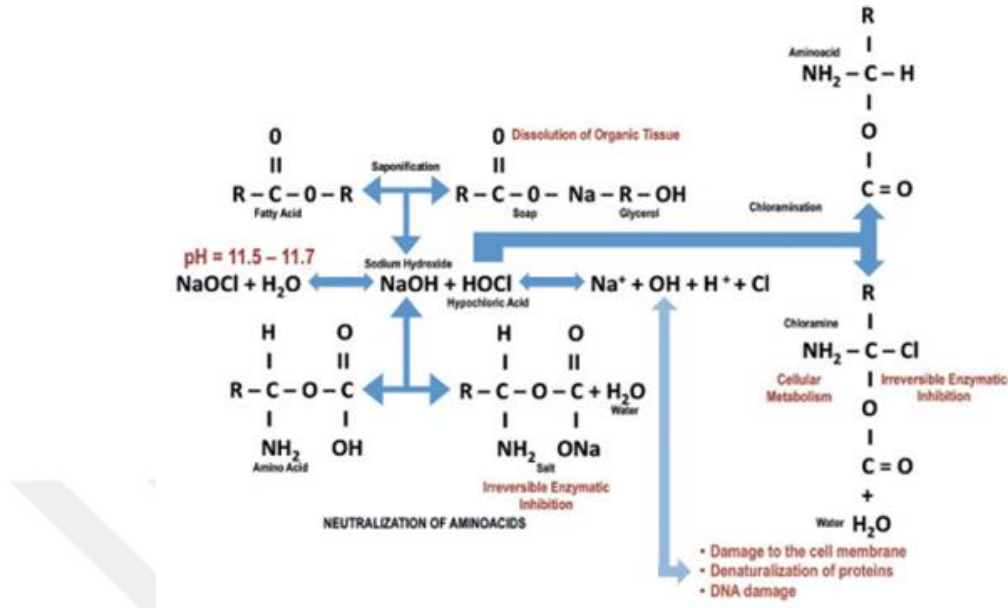
- ◆Güçlü bir antimikrobiyal ve antifungal etki göstermelidir.
- ◆Periapikal dokulara zarar vermemelidir.
- ◆Stabil olmalıdır.

- ◆Antimikrobiyal etkisini uzun süre gösterebilmelidir.
- ◆ Kan, serum ve doku protein türevlerinin varlığında etkinliğine devam edebilmelidir.
- ◆Düşük yüzey gerilimine sahip olmalıdır.
- ◆Periapikal dokuların onarımını engellememelidir.
- ◆Diş yapısında renklenmeye sebep olmamalıdır.
- ◆Hücre aracılı bir bağışıklık tepkisine neden olmamalıdır.
- ◆ Smear tabakasını tamamen kaldırabilmeli; alttaki dentin ve tübüllerini dezenfekte edebilmelidir.
- ◆ Dişi çevreleyen doku hücrelerine karşı antijenik, toksik ve kanserojen olmayan etki göstermelidir
- ◆Dentinin fiziksel özellikleri üzerinde olumsuz etki yaratmamalıdır.
- ◆Dolgu malzemelerinin sızdırmazlık özelliğini olumsuz etkilememelidir.
- ◆Nispeten ucuz ve kolay ulaşılabilir olmalıdır.

#### **2.8.1.1. NaOCl**

NaOCl; vital ve nekrotik pulpa dokusunu, dentin ve biyofilmlerin organik bileşenlerini hızlı bir şekilde çözme yeteneği ve antibakteriyel kapasitesi nedeniyle en sık tercih edilen irrigasyon solüsyonudur (172). Potasyum hipoklorit, Fransa'da Berthollet tarafından, kimyasal olarak üretilen ilk sulu klor çözeltisidir (173). Dakin, NaOCl'yi I. Dünya Savaşı sırasında yaraların yıkanması için %0.5'lik tampon solüsyonu olarak önermiştir (174). Daha sonra Coolidge, NaOCl'yi endodontiye bir kanal içi irrigasyon solüsyonu olarak tanıtmıştır (175).

## Etki Mekanizması



Şekil 2.7. NaOCl'nin etki mekanizmasının şematik gösterimi (156).

1. Sabunlaşma reaksiyonu: NaOCl, yağ asitlerini parçalayan ve onları yağ asidi tuzlarına (sabun) ve gliserole (alkol) dönüştüren ve kalan çözeltinin yüzey gerilimini azaltan organik doku ve yağ çözücü görevi görür.

2. Nötralizasyon reaksiyonu: NaOCl, su ve tuz oluşturarak amino asitleri nötralize eder. OH<sup>-</sup> iyonlarının çıkışı ile pH'ı bir miktar düşürür.

3. Hipokloröz asit oluşumu: Cl suda çözündüğünde ve organik madde ile temas ettiğinde hipokloröz asit oluşturur. Oksitleyici görevi gören kimyasal formülü HClO olan zayıf bir asittir. Hipokloröz asit (HOCl-) ve hipoklorit iyonları (OCl-), amino asit bozulmasına ve hidrolizine yol açar.

4. Kloraminasyon reaksiyonu/Çözücü etkisi: NaOCl ayrıca bir çözücü görevi görerek serbest bıraktığı Cl ile protein amino gruplarının (NH) hidrojeninin birleşerek kloraminleri (kloraminasyon reaksiyonu) oluşturmasını sağlar. Kloraminler hücre metabolizmasını engeller; Cl güçlü bir oksidandır ve SH gruplarının (sülfidril grubu) geri dönüşümsüz oksidasyonu ile temel bakteriyel enzimleri inhibe eder.

5. Yüksek pH: NaOCl güçlü bir bazdır (pH > 11). NaOCl'nin yüksek pH'ına (OH iyonlarının etkisi) bağlı olarak antimikrobiyal etkinliği, Ca(OH)<sub>2</sub>'in etki

mekanizmasına benzer. Yüksek pH, geri dönüşümsüz enzimatik inhibisyon, hücresel metabolizmadaki biyosentetik değişiklikler ve lipidik peroksidasyonda gözlenen fosfolipid bozunması nedeniyle sitoplazmik membran bütünlüğünü bozarak antibakteriyel etkinlik gösterir (176).

### **Avantajları**

Çoğu bakteriyi doğrudan temas halinde kısa sürede öldüren ayrıca sporlara, mantarlara virüslere ve bakteriyofajlara karşı etkili olduğu ispatlanmış geniş spektrumlu antimikrobiyal bir ajandır (177). Primer endodontik enfeksiyonlarla ilişkili çeşitli bakteri türleri tanımlanmıştır, ancak ağırlıklı olarak gram negatif anaerobik bakterileri içermektedirler. Zorunlu anaeroblar kök kanal tedavisi sırasında oldukça kolay bir şekilde yok edilmektedirler. Öte yandan, Streptokoklar, Enterokoklar ve Lactobacilli gibi fakültatif bakterilerin, enstrümantasyon ve çeşitli dezenfeksiyon işlemlerine dirençli olduğu bildirilmiştir (178). Ayrıca tekrarlanan kanal tedavilerine rağmen iyileşmeyen dişlerin kök kanalında dirençli mikroorganizmaların hakim olduğu düşünülmektedir. *E. faecalis*, inatçı ve tekrarlayan enfeksiyonlardan en sık izole edilen mikroorganizmadır. Mantar türlerinden ise en sık *C. albicans* ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Düşük konsantrasyonda bile NaOCl ile irrigasyonun *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerinde etkili olduğu ve kök kanalından bu mikroorganizmaları elimine ettiği gösterilmiştir (179, 180).

Sulu bir ortamda bulunan ve planktonik mikroorganizmalar olarak adlandırılan serbest yüzen bakteriler, biyofilm oluşumu için bir ön koşuldur. Bu tür biyofilmler, planktonik mikroorganizmaların hakim olduğu sulu bir solüsyonda herhangi bir organik veya inorganik yüzey substratı üzerine yerleşerek oluşmaktadır. Bununla birlikte, biyofilmlerde büyüyen mikrobiyal toplulukların antimikrobiyal ajanlarla yok edilmesi oldukça zordur (181). NaOCl, periapikal hastalıkla ilişkili enfekte kök kanallarına sahip dişlerden izole edilen *S. intermedius*, *F. nucleatum*, *E. faecalis*, *P. intermedia*, *P. miris* gibi bakteri türleri içeren biyofilm üzerinde kısa sürede güçlü antibakteriyel etki göstermiştir (182).

NaOCl, antimikrobiyal ve doku çözücü özelliklerine ek olarak kanama kontrolünde de başarılıdır. Yapılan histolojik çalışmalar NaOCl'nin vital pulpa tedavilerinde organik biyofilm içermeyen bir dentin pulpası arayüzünü oluşturduğu ve

bir hemostatik ajan olarak kullanıldığında oldukça başarılı olduğunu bildirmiştir (183). % 3 NaOCl'nin bir kanama kontrol maddesi olarak biyouyumlu olduğu gösterilmiş, çünkü bu konsantrasyonla tedavi edilen pulpalar, 7 ve 27 gün sonra hiçbir pulpal nekroz kanıtı göstermemiştir (184).

Endodontik tedavide NaOCl'nin %0.5-8 arasındaki konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (185). Hem düşük hem de yüksek konsantrasyonların *in vivo* ortamda bakteri yükünü azaltmada eşit derecede etkili olduğu gösterilmiştir (164). Daha düşük konsantrasyonlar, aynı miktarda kullanılan daha yüksek konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında organik dokuyu çözmede daha az etkilidir (186). Ancak daha yüksek miktarlarda ve daha sık aralıklarla kullanıldığında, düşük konsantrasyonda NaOCl ile benzer etkinlik elde edilebilmektedir (187). Bunun yanında; çözeltinin pH değerinin düşürülmesi (188), sıcaklığının artırılması, sonik ve ultrasonik cihazlarla aktivasyonu NaOCl çözeltilerinin etkinliğini artırmanın diğer yollarıdır (173).

### **Devantajları**

Solüsyonun kimyasal stabilitesi; metal iyonları, ışık, ısı, ortam asiditesi ve organik materyal varlığından etkilenmektedir. Solüsyonun aktif klor iyonu oranının, görünür ışığa maruz kalmasıyla azaldığı bildirilmiştir. Bu nedenle NaOCl solüsyonlarının etkili bir biçimde kullanılabilmesi için ışık geçirmez (opak cam veya polietilen), hava geçirmez kaplarda, serin bir yerde saklanması önerilmektedir (189).

Periapikal alandan eksuda, pulpa dokusu, dentin kollajeni ve mikrobiyal biyokütle gibi inaktive edici maddelerin varlığı NaOCl'nin etkinliğini düşürmektedir. Bu nedenle sürekli kanalda yenilenmesi ve uzun süre dentine temas etmesinin sağlanması önemlidir (190).

Kıyafetleri ağartma, göze temas halinde tahriş etme, nadiren alerjik reaksiyonlar ve yanlılıkla kök apeksinin dışına enjeksiyonu sonucu toksik reaksiyon gibi komplikasyonlar gelişebilmektedir (24). Sitotoksik aktivite, periapikal alana ulaştığında akut yaralanma etkilerine neden olabilen NaOCl'nin istenmeyen bir yan etkisidir. NaOCl, çevre dokuları hızla okside ederek hızlı hemoliz ve ülserasyona, nötrofil göçünün inhibisyonuna, endotelial ve fibroblast hücrelerinin yıkımına neden olmaktadır (191). Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda NaOCl (%3'ten fazla) olumlu

antimikrobiyal etkiye sahip olmasına rağmen, periodontal ligament hücreleri ve apikal papilla kök hücreleri için sitotoksiktir (27, 28).

NaOCl'nin bir diğer dezavantajı ise, dentinin mekanik özelliklerini; mikrosertliğini, eğilme dayanımını, elastisite modülünü ve gerilme dayanımını azalttığı yönündedir (25). Dentinin yüksek konsantrasyonda (%5,25) NaOCl'e uzun süreli maruz kalmasının dentin elastikiyeti ve eğilme dayanımı üzerinde zararlı bir etkiye sahip olabileceği *in vitro* çalışmalarla gösterilmiştir (192, 193). NaOCl ayrıca rezin bazlı simanlar ve kök kanal patları gibi dental materyallerin dentine adezyonunu olumsuz etkileyebilmektedir. Ek olarak, bazı adeziv materyallerin koronal bağlanma gücünü azaltabilmektedir. Ayrıca MTA'nın hidrasyonunun proteolitik etkisi sebebiyle NaOCl tarafından olumsuz etkilendiği (194) ve kök kanalları NaOCl ile irrigate edildiğinde MTA'nın bağlanma dayanımının azalmasına neden olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, kök kanalları MTA bazlı materyallerle doldurulurken kök kanal irrigasyon protokolünün dikkate alınması gereken önemli bir faktör olduğu ifade edilmiştir (195).

RET'lerde %1-6 konsantrasyonlu NaOCl kullanılmıştır (25). AAE, rejeneratif tedaviler için klinik uygulamalarda sitototoksik etkiyi en aza indirmek için düşük konsantrasyonda NaOCl (1.5% 20mL/kanal, 5 dk) kullanılmasını tavsiye etmektedir (29). NaOCl, smear tabakasının sadece organik kısmını çözebiliyor olması sebebiyle inorganik kısmı çözebilen EDTA ile beraber kullanımı önerilmektedir (196).

#### 2.8.1.2. EDTA

Yaygın olarak EDTA olarak kısaltılan etilendiamin tetra-asetik asit; renksiz, suda çözünür katı formulu ve  $[CH_2N(CH_2CO_2H)_2]_2$  formülüne sahip poliaminokarboksilik asittir.  $Ca^{2+}$  ve  $Fe^{3+}$  gibi di/trikasyonik metal iyonlarını ayırarak şelasyon sağlar ve smear tabakasının inorganik kısmını uzaklaştırabilmesi sebebiyle endodontide yaygın olarak kullanılan irrigasyon solüsyonlarından (156). EDTA, dentin yapısındaki hidroksiapatit kristalleri de dahil olmak üzere inorganik materyaller üzerinde güçlü bir etki gösterir (197, 198).

EDTA en yaygın %17 konsantrasyonda kullanılır, ancak daha düşük konsantrasyonlu solüsyonların (%10, %5 ve %1) smear tabakasını benzer şekilde uzaklaştırabildiği gösterilmiştir (177). Bileşik ilk olarak Ferdinand Munz tarafından

1935 yılında, etilen diamin ve kloroasetik asitten hazırlanarak tanımlanmıştır. Günümüzde EDTA, etilen diamin, formaldehit ve sodyum siyanürden sentezlenmektedir (199).

EDTA gibi şelatörler, kalsiyum ile stabil bir kompleks oluşturmaktadırlar. Mevcut tüm iyonlar bağlandığında denge oluşur ve daha fazla çözünme gerçekleşmez; bu nedenle, EDTA kendi kendini sınırlamaktadır (199).

EDTA, bakterilerin hücre zarındaki metal iyonları ile şelasyonu sonucu sınırlı bir antibakteriyel aktivite göstermektedir (200). Bu yüzden kök kanal tedavisi için EDTA'nın tek başına bir irrigasyon solüsyonu olarak değeri sınırlıdır. Sadece EDTA kullanıldığında, smear tabakasını etkin bir şekilde kaldıramaz; smear tabakasının organik bileşenlerini uzaklaştırmak için NaOCl gibi bir proteolitik bileşenle beraber kullanılmalıdır (201). EDTA'nın 1 dakika süreyle %17'lik bir konsantrasyonda kullanımı önerilmektedir (202). EDTA, NaOCl ile etkileşime girerek solüsyondaki mevcut klor miktarını azaltabilmektedir. Bu şekilde NaOCl'nin doku çözme ve antibakteriyel etkisini azaltabileceği için dönüşümlü olarak kullanılması önerilmez. Sadece genişletme-temizleme işlemlerinin sonuna doğru ve NaOCl uygulamasından sonra kullanılmalıdır. Preparasyonun mekanik aşamaları tamamlandıktan sonra kalan NaOCl salin ile uzaklaştırılmalı ve EDTA ile yıkanarak smear tabakası kaldırılmalıdır (3).

Biyouyumlu olduğu bildirilen EDTA'nın (203), apikal foramenden düşük konsantrasyonda ve az miktarda taşmasının bile çok ciddi komplikasyonlara neden olabileceğini gösteren araştırmalar mevcuttur. EDTA'nın periapikal alana taşması hem bölgedeki yapıların ciddi hasarına neden olmakta hem de nöropeptitlerin etkinliğini zayıflatarak immün cevabı olumsuz etkilemektedir (204).

Dentin sertliği ve elastisite modülü, dentinin mineral içeriğinin mekanik göstergeleri olması nedeniyle (205) EDTA gibi güçlü şelatörlere uzun süre maruz kalmanın kök dentinini zayıflatabileceğine dikkat edilmelidir (202). Yapılan birçok çalışmada EDTA'nın; solüsyonların uygulama süresinin ve konsantrasyonunun artışıyla kök dentin mikrosertliğini azaltabildiği bildirilmiştir (206, 207).

Dentin geçirgenliği doğrudan tübül lümen alanına bağlıdır ve kök kanalının duvar kalınlığı ile ters orantılıdır (208). Mekanik enstrümantasyondan sonra, lümenin

yüzey alanı artarken kök kanalının duvar kalınlığı azalır. Ek olarak, smear tabakası bir difüzyon bariyeri görevi görerek dentin geçirgenliğini azaltır (209). EDTA yardımıyla smear tabakası kaldırıldıktan sonra dentin geçirgenliği artar (210) ve böylece kök kanal dolgusu ile kanal duvarı arasındaki mikrosızıntıda azalma sağlanır (211).

EDTA, kök kanal tedavisinde smear tabakasını kaldırmak (212) ve RET'de dentin matriksinden büyüme faktörlerinin salınmasını sağlamak için kullanılan bir şelasyon ajanıdır (31). EDTA kullanımının, kontamine kök kanalının endotoksin miktarını azaltmaya yardımcı olması ile zayıf da olsa antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (213). NaOCl'den sonra %17 EDTA kullanılması, SCAP sağkalımını artırması (28) ve sitotoksiteyi azaltması açısından önerilmektedir (7); böylece EDTA kullanımı hücre aktivitesini ve doku rejenerasyonunu optimize etmektedir (214). EDTA, dentin matriksinden pulpa-dentin kompleksi rejenerasyonunda anahtar rol oynayan transforme büyüme faktörü (TGF)- $\beta$  ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) olarak anjiyojenik faktörler gibi biyoaktif moleküllerin serbest bırakılmasını sağlamaktadır (215, 216). EDTA kullanımı ile smear tabakasının uzaklaştırılması, kök hücre farklılaşmasının yanı sıra yeni oluşan dokunun kanal duvarlarına bağlanmasını artırabilmektedir (217). EDTA'nın dentine uygulanması, dental pulpa kök hücrelerinin dentine yapışmasını, göçünü ve farklılaşmasını desteklemektedir (32). Bu nedenlerle, bir kan pıhtısı oluşturmadan önce EDTA ile son bir irrigasyon yapılması önerilmektedir.

### 2.8.1.3. CHX

CHX, İngiltere'de geliştirilmiş ve ilk olarak antiseptik krem olarak pazarlanmıştır. Genel olarak dezenfeksiyon amacıyla cilt, göz ve boğaz enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmıştır (218). CHX, endodontik irrigant ve kanal içi ilaç olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. CHX'in periodontal ağız gargaraları olarak en yaygın kullanılan konsantrasyonları %0.12 ve %0.20'dir. Endodontide ise en sık %2'lik konsantrasyonu kullanılmaktadır (219).

CHX, merkezi bir heksametilen zinciri ile bağlanan iki simetrik 4-klorofenil halkası ve iki biguanid grubundan oluşan sentetik bir katyonik bis-guaniddir. Ayrıca pH'ı 5.5 ile 7 arasında olan, suda kolayca çözünebilen kararlı bir moleküldür (220).

CHX, bakterilerin hücre zarındaki fosfolipidler ve lipopolisakkaritlerle etkileşimi yoluyla hücreye giren pozitif yüklü hidrofobik ve lipofilik bir moleküldür (221). Etkinliği, molekülün pozitif yükü ile mikrobiyal hücre duvarı üzerindeki negatif yüklü  $(PO_4)^{-3}$  grupları arasındaki etkileşim ile gerçekleşmektedir, böylece hücrelerin ozmotik dengesini değiştirmektedir. Düşük CHX konsantrasyonlarında (%0,2) bakteriyostatik etki sağlayarak  $K^+$  ve  $P^-$  gibi düşük moleküler ağırlıklı maddelerin hücre dışına sızmasına sebep olmaktadır. Daha yüksek konsantrasyonlarda (%2) CHX, sitoplazmik proteinlerin çökmesine ve/veya koagülasyonuna neden olarak bakterisidal etki göstermektedir (222).

CHX, çok çeşitli gram-pozitif ve gram-negatif organizmalara, özellikle *C.albicans* olmak üzere mantarlara, fakültatif anaeroblar ve aeroblara karşı etkilidir (218). CHX'in gram pozitif bakteriler üzerinde gram negatif bakterilere göre daha fazla antimikrobiyal etkisi olduğu gösterilmiştir (223) ve gram pozitif bakteriler üzerinde NaOCl ile karşılaştırıldığında daha zayıf etkinlik gösterdiği belirtilmiştir (224).

CHX diglukonat, substantif etki gösterir yani mine ve dentin veya anyonik glikoprotein gruplarının hidroksiapatitine bağlanır, yavaşça salınır ve bu şekilde antibakteriyel etkinliğini uzatır (33, 225). CHX'in substantif özelliği ile 12 haftaya kadar etkili kalabileceğinden (226), final irrigasyonu olarak kullanılması tavsiye edilmiştir (227).

Matriks metalloproteinazlar (MMP) sağlam koronal ve radiküler dentinde bulunur ve dentine bağlanan restorasyonlarda kollajen ağının bozulmasında rol oynayan çeşitli protein gruplarının ve kollajenin yıkımından sorumlu bir enzim grubudur (228). Dolayısıyla dentin ve adeziv sistemler arasındaki bağlanmanın bozulmasına sebep olmaktadır. CHX, bir MMP inhibitörü etkinliği göstererek hibrit tabakasının dayanıklılığını ve rezin-dentin bağlarının bütünlüğünü koruyarak mikrosızıntı ihtimalini azaltmaktadır (229).

CHX, geniş spektrumlu antimikrobiyal etkisi, düşük toksisitesi ve substantif etkisi nedeniyle kök kanalı irrigasyonu olarak önerilmiştir. Bununla birlikte, CHX'in doku çözücü etkinliğinin olmaması en büyük dezavantajı olarak belirtilmiştir (230).

Bu yüzden biofilmin çıkarılmasında veya çözülmesinde yeterince etkili değildir (231) ve smear tabakasını uzaklaştıramamaktadır (232).

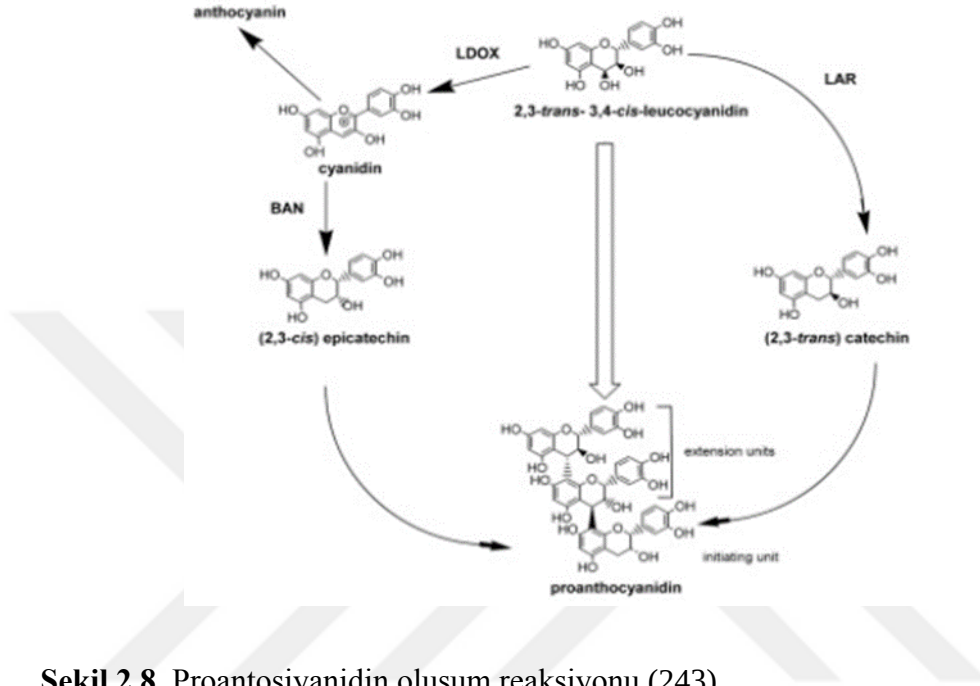
CHX biyouyumluluğu ve düşük toksisitesi nedeniyle, kök oluşumu tamamlanmamış dişlerde veya NaOCl'ye aşırı duyarlılığı olan dişlerin tedavisinde kullanımı desteklenmektedir (233). Ancak birkaç çalışma, CHX'in solüsyonun konsantrasyonu ile artan sitotoksik etkileri olabileceğini göstermiştir (234, 235). Bununla birlikte, apikal papilla kök hücrelerinin üzerinde yapılan bir *in vitro* çalışmada, CHX kullanımından sonra canlı hücrelerin azaldığını gösterilmiştir (236). CHX'in *in vitro* olarak insan osteoblastik hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi doza bağlı görünmektedir (237).

CHX'in dentin mikrosertliği üzerindeki etkisine yönelik birçok çalışma yapılmıştır ve değişken sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda CHX'in dentin mikrosertliği üzerinde etkisi olmadığı ve kontrol grupları (salin) ile benzer sonuçlar gösterdiği (238, 239) hatta bir çalışmada mikrosertliği güçlendirdiğini gösteren sonuçlar bulunmuştur (240). Ayrıca %0,2 ve %2 konsantrasyonlarda 15 dakika süreyle CHX tedavisinin Ca ve P seviyelerini ve kök dentinin mikrosertliğini azalttığı bildirilmiştir (38, 39).

#### 2.8.1.4. Proantosiyanidin

Proantosiyanidinler (PA'lar), doğal antioksidan niteliklere sahip bir flavonoid formudur ve yoğunlaştırılmış polifenoller içerirler (241). Genellikle flavon-3-ol olan nükleofilik flavonil grupları (kateşin, epikateşin gibi), elektrofilik flavonil grupları olan flavon-4-ol veya flavon-3,4-diol (lökoantosiyanidinler) atmosferik oksijen ile hızlı bir şekilde reaksiyona girebilmeleri sonucu enzimatik ve kimyasal yollarla dimerler, oligomerler ve polimerler oluşturabilmektedirler ve bu oluşan polimerik yapılara proantosiyanidinler denilmektedir (241) (Şekil 2.8). PA; meyvelerde, sebzelerde, kabuklu yemişlerde, çekirdeklerde, çiçeklerde ve ağaç kabuğunda doğal olarak bulunmaktadır (242). Özellikle kırmızı orman meyveleri olmak üzere meyveler, proantosiyanidinlerin en iyi kaynaklarıdır. Yaban mersini, siyah mürver, üzüm, siyah frenk üzümü, kıvılcık, muz, hurma, proantosiyanidin içeriğinin baskın olduğu yenilebilir meyvelerden bazılarıdır (44). Dünyada en çok üretilen ve tüketilen meyvelerden biri olan üzüm (*Vitis Vinifera*), başta proantosiyanidinler ve

antosiyeninler olmak üzere polifenollerin kaynağı olarak kabul edilmektedir. Üzüm çekirdeği ekstresi (GSE), %95 konsantrasyona kadar PA içerebilmesi nedeniyle PA kaynağı olarak tercih edilmektedir (40).



**Şekil 2.8.** Proantosiyanidin oluşum reaksiyonu (243)

Oligomerik proantosiyanidin komplekslerinin; antioksidan, antibakteriyel, antikarsinojenik, antiinflamatuvar, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antidiyabetik, anti-alerjik ve vazodilatör etkiler çeşitli biyolojik etkiler için tıbbi ve beslenme sağlığı alanlarında araştırılmıştır (44, 244). Diş hekimliğinde, Endodonti (245) ve Periodontoloji’de (246) PA’ların antibakteriyel kapasitesi ve daha yakın zamanda PA, Restoratif Diş Hekimliğinde bir çapraz bağlayıcı (247) olarak değerlendirilmiştir.

PA, *E. faecalis* biyofilmleri (42) de dahil olmak üzere çok çeşitli patojenik mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (41). GSE'nin Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal özellikleri literatürde gösterilmiştir (248, 249). GSE'nin antimikrobiyal aktivitesi, özellikle hücre duvarını ve bakteriyel plazma membranını bozabilen, yapısındaki fenolik bileşiklerin varlığına bağlanmıştır (41, 45, 250). Ayrıca, flavonoidlerin ve türevlerinin yüksek konsantrasyonlarının bu aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmüştür (45). Flavonoidler, antibakteriyel mekanizmaları şu şekilde öne sürülen iyi bilinen

antibakteriyel ajanlardır: nükleik asit sentezinin inhibisyonu, sitoplazmik membran fonksiyonunun inhibisyonu, enerji metabolizmasının inhibisyonu, bağlanma ve biyofilm oluşumunun inhibisyonu, hücre zarı üzerindeki porinin inhibisyonu, membran geçirgenliğinin değiştirilmesi ve patojenitenin zayıflatılması (48).

Kollajen matriksinin çapraz bağlanması, demineralize dentin yapısını korumak ve onarmak için etkili bir çözüm sağlamaktadır (251). PA, doğal bir kolajen çapraz bağlayıcıdır. PA'nın diş hekimliğinde potansiyel uygulamaları arasında kollajen matriksinin güçlendirilmesi, rezin-dentin bağlanma gücünün artırılması, kollajene bağlı proteazların inaktivasyonu ve kök çürüklerinin remineralizasyonu yer almaktadır (252-255). PA, kollajen çapraz bağlarını uyarma ve böylece dentin matriksinin sertliğini artırma ve bozulma süreçlerine duyarlılığı azaltma yeteneğine sahiptir (256). PA'lar, yapısındaki fenolik hidroksili ve proteinin amin karbonili arasında hidrojen köprülerinin oluşumu yoluyla prolinden zengin kollajen alanlarına bağlanarak etki etmektedir (257). Bu etki mekanizması sayesinde, PA'lar dentinin organik matriksinin kimyasal ve mekanik özelliklerinin iyileştirilmesini ve bozunma süreçlerine karşı direncinin artmasını sağlayabilmektedir (258). Ek olarak PA, dentin organik matriksinin bozunmasına aracılık eden MMP'ler ve sisteinlere/katepsinlere karşı inhibitör etki göstermektedir (251). PA'ların dentini güçlendirebilmesi ve kollajenaz bozunmasına karşı stabilitesini artırmak için mekanik özelliklerini geliştirebilmesi; ince kök yapısı gösteren, kök kırılmasına daha yatkın olan dişlerin endodontik tedavisinde önemlidir (41). Bunun yanında immatür kök yapısına sahip dişlerin kök kanal tedavisi için avantaj olabilecek düşük sitotoksikite sergilemektedir (242, 259). Ayrıca GSE uygulanması, yüksek konsantrasyonda ve uzun sürede bile, insan pulpa hücreleri üzerinde ne doğrudan ne de transdentinal sitotoksik etkilere neden olmamıştır. GSE bileşenlerinin biyostimülatör bir rol oynayabileceği ve doğrudan temas halindeyken diş pulpa hücrelerini koruyabileceği gösterilmiştir (40).

## 2.8.2. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Kullanılan Kanal İçi Medikamentler

### 2.8.2.1. $\text{Ca}(\text{OH})_2$

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ , diş hekimliğine 20. yüzyılın başında Hermann tarafından tanıtılmıştır ve o zamandan beri endodontide sıklıkla kullanılmaktadır (260). pH'ı yaklaşık 12,5 olan kuvvetli bir alkali malzemedir ve klinik durumlarda kullanımını teşvik eden çeşitli biyolojik özelliklere sahiptir. Dental kullanımı, esas olarak antibakteriyel özellikleri, onarımı indüklemeye ve sert doku oluşumunu uyarma yeteneği ile ilgilidir (261).

$\text{Ca}(\text{OH})_2$  çok amaçlı bir ajandır ve kullanımı için çok sayıda endikasyon vardır. Endikasyonları; direkt/indirekt pulpa kaplaması, apeksifikasyon tedavisi, kök rezorpsiyonu tedavisi, perforasyon tamiri, kök kanal dolgu patı ve rejeneratif endodontik tedavilerde kanal içi ilaç olarak kullanımını içermektedir (262).

Yüksek pH'a (12,5) sahip olan ve kimyasal olarak güçlü bir baz olan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ; ana etkilerini  $\text{Ca}^+$  ve  $\text{OH}^-$  iyonlarının ayrışmasıyla sert doku birikiminin indüklenmesi ve antibakteriyel etkinlik olarak göstermektedir (262).  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'in moleküler ağırlığı (74.08) dikkate alındığında,  $\text{OH}^-$  iyonlarının yüzdesi %45.89 iken, %54.11  $\text{Ca}^+$  iyonlarına karşılık gelir (263).  $\text{OH}^-$  iyonları; bakteri sitoplazmik membranındaki lipopolisakkaritleri hidrolize ederek, proteinleri denatüre ederek ve bakteri DNA'sına zarar vererek antibakteriyel etkinlik sağlayan yüksek oranda oksitleyici serbest radikallerdir (264, 265).

$\text{OH}^-$  grubu, onarımı ve kalsifikasyonu teşvik eden alkali bir ortam sağladığı için  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'nin en etkin bileşeni olarak kabul edilmektedir. Alkalın pH, dentinin mineral bileşenlerinin çözünmesini önler ve sert doku oluşumunda etkin görev alan alkalın fosfatazları da aktive edebilmektedir (266). Alkalın fosfataz, fosforik esterleri ayırarak  $(\text{PO}_4)^{-3}$  iyonlarını serbest bırakabilmektedir. Bu  $(\text{PO}_4)^{-3}$  iyonları daha sonra kan dolaşımından  $\text{Ca}^{+2}$  iyonları ile reaksiyona girerek kalsiyum fosfat çökeltisi oluşturur. Bu çökelti, mineralizasyon süreciyle yakından ilişkili olduğuna inanılan hidroksiapatitin moleküler birimidir (267).

RET'lerde  $\text{Ca(OH)}_2$  , yaygın olarak kullanılan bir kanal içi medikamenttir.  $\text{Ca(OH)}_2$  bazı bakteri türlerine karşı antibiyotik patlarından daha az etkili gibi görünse de (268), kök hücrelere daha düşük sitotoksitesi, dentinden büyüme faktörlerinin salınmasını uyarması ve kök hücrelerinin daha fazla sağkalımı ve çoğalması gibi etkileri sebebiyle sıklıkla tedavilerde uygulanmaktadır (156, 269, 270). Ayrıca bir *in vitro* çalışma, insan apikal kök hücrelerinin kök dentinine bağlanmasının, TAP ile karşılaştırıldığında  $\text{Ca(OH)}_2$  uygulamasının daha fazla olduğunu bildirilmiştir (271).

$\text{Ca(OH)}_2$  kullanımıyla ilgili bazı endişeler mevcuttur. Ayrıca,  $\text{Ca(OH)}_2$ 'nin tamamen uzaklaştırılması zordur (272). Salin, NaOCl veya EDTA ile bol irrigasyondan sonra bile kanal duvar yüzeylerinin %20 ila %45'ini kaplayan  $\text{Ca(OH)}_2$  artıklarının bulunduğu görülmüştür. Bu durum kök kanal dolgusunun sızdırmazlığını engelleyebilmekte ve tedavinin kalitesini bozabilmektedir (273).

Dişlere  $\text{Ca(OH)}_2$  'in uzun süre uygulanmasının kök kırığı riskini artırabileceği düşünülmektedirler (12). Bununla birlikte, yakın zamanda yapılan bir çalışmada, kontrol ve  $\text{Ca(OH)}_2$  grupları arasında kök kırığı bakımından belirgin bir fark olmadığı ortaya koyulmuştur. Bu durumun, uzun süreli  $\text{Ca(OH)}_2$  kullanımından ziyade kök gelişiminin aşaması ile ilgili olabileceği sonucuna varılmıştır (274).

Bir diğer dezavantajı;  $\text{Ca(OH)}_2$ 'nin *E. faecalis* ve *C. albicans* dahil olmak üzere çeşitli endodontik patojenlere karşı tamamen etkisiz olmasıdır (267). Ek olarak, dentinin yüksek pH üzerinde bir tamponlama etkisine sahip olması, dentin tübüllerinin dezenfeksiyonunda  $\text{Ca(OH)}_2$ 'nin antimikrobiyal etkisini ve *E. faecalis*'in etkili bir şekilde ortadan kaldırılmasını daha da tehlikeye attığı bulunmuştur (190).

#### 2.8.2.2. Antibiyotik Patları

Antimikrobiyaller olarak da bilinen antibiyotikler, konağın normal hücreleri yerine enfeksiyondaki mikropları seçici olarak hedeflemek için geliştirilmiştir (275). Enfekte kök kanalını dezenfekte etmek için antimikrobiyal ajanın topikal olarak uygulanması Grossman (1972) tarafından tanımlanmıştır (276). Daha sonra Hoshino ve ark.ve Sato ve ark. enfekte kök kanallarını dezenfekte etmek için üçlü antibiyotik patını denemiştir. (277, 278).

Apeksleri açık olan immatür daimi dişlerde kök kanal sisteminin enfeksiyonu ve bunu takip eden periapikal enflamasyon, hem aerobik hem de anaerobik bakterilerden oluşan karışık bakteri topluluklarının neden olduğu hastalıklardır (279). Bu nedenle, bir antibiyotik kombinasyonunun kullanılması, kanalı etkili bir şekilde sterilize etmek için daha olasıdır ve ayrıca antibiyotik direnci gelişme olasılığını da azaltmaktadır (280). Metronidazol, anaerobik kokların yanı sıra Gram-negatif ve Gram-pozitif basillere karşı geniş spektrumlu ve yüksek antibakteriyel aktivitesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak aeroblara karşı hiçbir aktivitesi olmaması sebebiyle bakterisidal olan siprofloksasin ve bakteriyostatik olan minosiklin ile birleştirilerek TAP meydana getirilmiştir (277).

TAP'ın; kanal içi dezenfekte ederek ve dentindeki hücrelerin büyümesini uyarak rejeneratif tedavileri desteklediği bunun sonucunda kök gelişiminin devam etmesine ve periapikal bölgede iyileşmeye katkı sağladığı gösterilmiştir (281). TAP'ın alerjik reaksiyonlar oluşturabildiği, bakteriyel direnç yaratabildiği, kök hücrelere sitotoksik etki geliştirebildiği ve dişte renklenmelere neden olabildiği bildirilmiştir (7, 66). Kök hücrelerin zarar görmemesi için RET'te, 1 mg mL<sup>-1</sup> daha az konsantrasyonda TAP kullanılması önerilmektedir (115). Ayrıca içindeki minosiklin sebebiyle dişlerde renklenmelere ve estetik problemlere yol açabilmektedir. Bu nedenle minosiklinin içermeyen DAP ya da minosiklin yerine sefaklor tercih edilmesi renklenmelerin önüne geçilebilmektedir (270). Ayrıca minosiklinin klindamisin ile değiştirildiği modifiye üçlü antibiyotik patı (MTAP) ile de renklenmenin engellenebileceği bildirilmiştir (282).

## **2.9. Rejeneratif Endodontik Tedavide Kullanılan Kalsiyum Silikat Esaslı Simanlar**

### **2.9.1. Mineral Trioksit Agregat (MTA)**

MTA, ilk olarak 1993'te Mahmoud Torabinejad ve ark. tarafından bir kök ucu dolgu materyali olarak kullanılmış ve önerilmiştir (283). 1998'de Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA)'den onay aldıktan sonra MTA; vital pulpa tedavilerinde, perforasyonların onarımında, apeksifikasyon tedavilerinde, rejeneratif endodontik tedavilerde, kök kanalı ve retrograd dolgu materyali olarak da kullanılmıştır (284).

MTA, trikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat, trikalsiyum oksit, silikat oksit ve bizmut oksit içeren ince hidrofilik parçacıklardan oluşmaktadır (80). Bileşimi açısından Portland simanı ile benzer özellikler gösterirken MTA'nın partiküllerinin boyut olarak daha küçük ve uniform olması (285) ve bizmut oksit içermesi ile Portland simanında ayrılır. Özelliklerini ve radyoopasitesini iyileştirmek için bizmut oksit (%17-18) eklenmiştir (80).

MTA şu anda: gri (GMTA) ve beyaz (WMTA) olmak üzere 2 şekilde piyasada bulunmaktadır. MTA gri olarak tanıtılmıştır, ancak GMTA'nın renk değiştirme potansiyeli nedeniyle WMTA geliştirilmiştir. Araştırmalar, WMTA'da GMTA'ya göre daha düşük miktarlarda demir, alüminyum ve magnezyum bulunduğu gösterilmiştir (286).

### **Fiziksel ve Mekanik Özellikleri**

1) *Radyoopasite*: MTA'nın radyoopasitesi içindeki bizmut oksit nedeniyle dentinden daha fazladır. Ancak IRM, Super EBA, amalgam veya gutaperkadan daha az radyoopasiteye sahiptir (284). MTA'nın ortalama radyoopaklığı, radyografik olarak görüntülenmesini kolaylaştırmak için yeterli olan 7,17 mm eşdeğer alüminyum kalınlığıdır (80).

2) *Çözünürlük*: MTA'nın su/toz oranı arttıkça çözünürlük ve gözeneklilik derecesinin arttığı belirlenmiştir. Daha yüksek çözünürlük, daha yüksek bir pH seviyesini ve  $Ca^{+2}$  salınımını desteklemektedir. Bu nedenle, daha fazla su içermesi, malzemenin daha yüksek biyoaktivite göstermesini destekleyebilmektedir. Ancak simanın bütünlüğünü korumak için  $Ca^{+2}$  salınımı ve çözünürlük arasında bir denge sağlanmalıdır (287).

3) *Marjinal adaptasyon ve sızdırmazlık yeteneği*: Bu özellik, bakteri ve ürünlerinin geçişinin kritik önem taşıdığı retrograd dolgusu, perforasyonların onarımı ve vital pulpa tedavileri için önemli bir faktördür (288). MTA'nın üstün sızdırmazlık yeteneğinin nedeni sertleşme sırasında gösterdiği ekspansiyon ile açıklanmıştır (289).

4) *Basınç dayanımı*: MTA'nın karıştırmadan sonraki 24 saat içindeki basınç dayanımı yaklaşık 40.0 MPa olduğu ve 21 gün sonra 67.3 MPa'ya yükseldiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada MTA; 24 saatlik sürede Super EBA, IRM ve

amalgamdan daha az bir basınç dayanımı gösterirken 21 gün sonra Super EBA ve IRM'ye benzer ancak amalgamdan hala daha düşük bir basınç dayanımı gösterdiği bildirilmiştir (80). Karşılaştırıldığında, GMTA, WMTA'dan daha fazla basınç dayanımı sergilemiştir (290).

5) *Antibakteriyel ve antifungal özellikleri*: MTA'nın *C.albicans*'a ve bazı fakültatif anaeroblara karşı etkinlik gösterirken, zorunlu anaerobların hiçbirine karşı antimikrobiyal etki göstermediği bildirilmiştir (291).

6) *Biyouyumluluk*: MTA'nın mutajenik olmadığı, Super EBA ve IRM'ye kıyasla çok daha az sitotoksik olduğu (292) ve DNA hasarı oluşturmadığı gösterilmiştir (293). Doğrudan temasta, yumuşak dokularda minimal inflamatuvar yanıt oluşturur veya hiç oluşturmazlar; aslında doku rejenerasyonunu indükleyebilmektedirler (294).

7) *Doku rejenerasyonu*: MTA'nın hücrel proliferasyonu teşvik etmede, pulpal enflamasyonu azaltmada ve DPSC'lerin odontoblast benzeri hücrelere farklılaşmasını indüklemedeki önemi gösterilmiştir (295, 296). MTA, sementoblastların aktivasyonu ve sement üretimini desteklemektedir (297). Ayrıca periodontal ligamentin rejenerasyonunu kolaylaştırmaktadır; osteoindüktif ve osteokondüktif etkisiyle kemik iyileşmesine de katkı sağlamaktadır (298).

8) *Mineralizasyon*: MTA, tıpkı  $\text{Ca(OH)}_2$  gibi, dentin köprüsü oluşumunu indüklemektedir. Birçok araştırmacı, MTA uygulaması sonucu oluşan sert doku köprüsünün, MTA'nın sızdırmazlık özelliği, biyouyumluluğu, alkalinitesi sayesinde olduğuna inanmaktadır (84, 290). Oluşturulan bu dentin köprüsü,  $\text{Ca(OH)}_2$ 'den daha kısa sürede oluşmaktadır ve yapısal olarak bütünlüğü daha homojendir (299).

### 2.9.2. Biodentin

İlk olarak 2009'da piyasaya sürülmüş ve kalsiyum silikat esaslı simanlar arasında umut verici bir materyal olarak kabul edilmiştir (22). Biodentin, dentin ile yer değiştirebilecek bir materyal olarak tasarlanmıştır; bunun yanı sıra pulpa kaplama tedavileri, pulpotomi, rejeneratif endodontik tedavileri ve endodontik onarım (perforasyon onarımı, rezorptif lezyonlar, kök ucu dolgu materyali) için

kullanılabilmektedir. Teknik olarak MTA teknolojisine dayanan Biodentin, MTA'nın eksikliklerini gidermek için formüle edilmiştir (300).

Biodentin, trikalsiyum silikat (ana bileşeni), kalsiyum karbonat, zirkonyum oksit (radyopaklaştırıcı), kalsiyum oksit, demir oksit içeren bir toz içeriği ile kalsiyum klorürün sulu bir çözeltisinin karışımıyla elde edilmektedir (301).

İlk sertleşme süresi yaklaşık 12 dakikadır (302). Grech ve ark. ise Biodentin'in son sertleşme süresini 45 dakika olarak değerlendirilmiştir (303). MTA ile karşılaştırıldığında Biodentin için daha kısa bir sertleşme süresi bildirmiştir (22). Bu hızlı sertleşme reaksiyonu, artan partikül boyutuna, sıvı bileşene kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) eklenmesine ve sıvı içeriğin azalmasına bağlanmaktadır (300). Çalışmalar ayrıca, kısa sertleşme süresini, yavaş bir hidrasyon reaksiyonu ile ilişkili olan biodentin bileşiminde dikalsiyum silikatın yokluğuna bağlamıştır (304). Bir diğer önemli fark, kalsiyum silikat-hidrat (CSH) için bir çekirdeklenme yeri olarak hareket edebilen ve böylece sertleşme reaksiyonunu hızlandıran kalsiyum karbonatın eklenmesi ile açıklanmıştır (305).

Başlangıçta kimyasal büzülme ve kılcal absorpsiyona bağlı olarak bir ilk hacim azalması meydana gelir, ardından hidrasyon işleminin devam etmesi nedeniyle ikincil bir genleşme gerçekleşmektedir (306).

### **Fiziksel ve Mekanik Özellikleri**

1) *Radyoopasitesi*; Bu malzeme içerisinde radyoopasite vermek için zirkonyum oksit kullanılmıştır. Bizmut oksidin aksine, zirkonyum oksitin biyouyumlu özelliklere sahip olduğu gösterilmiş ve yüksek mekanik özelliklere ve korozyona karşı olumlu dirence sahip biyoinert bir malzeme olarak belirtilmiştir (307). Biodentine'in radyopasitesinin, ProRoot MTA (302), MTA Angelus, Micro Mega MTA (308), MTA Plus ve Neo MTA Plus'tan (309) önemli ölçüde düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca, Biodentin'in radyopasitesi, ISO 6876:2001 gereksiniminden daha düşük olduğunu bildiren bazı çalışmalarla birlikte çalışmalar arasında değişiklik göstermiştir (302, 308).

2) *Çözünürlük ve Gözeneklilik*; ISO 6876:2001'e göre çalışmalar 10 güne kadar Biodentine'in, ProRoot MTA'ya benzer çözünürlük gösterdiğini doğrulamıştır. Ancak

10 günden sonra,  $\text{Ca}^{+2}$  ve silikon iyonlarının daha yüksek çözünmesiyle açıklanabilecek (310) şekilde Biodentin'in çözünürlüğünde belirgin bir artış görülmüştür (302, 310). Biodentin'in çözünürlüğünün ProRoot MTA'dan daha yüksek değerler vermesine karşı bu çözünürlük sadece çözeltiye maruz kalan yüzeyde meydana gelmiş ve ihmal edilebilir boyutsal değişime neden olmuştur (310).

Biodentin ve ProRoot MTA, Bioaggregate, MTA Angelus ve MTA Plus ile karşılaştırıldığında daha düşük ortalama gözenek çapı, gözeneklilik, toplam gözenek alanı ve daha yüksek yoğunluk göstermiştir (311, 312). Biodentin'in ise MTA'ya kıyasla daha yoğun ve daha az gözenekli olduğu rapor edilmiştir (301).

3) *Basınç Dayanımı*; Biodentin'in basınç dayanımı 35 dakika, 24 saat ve 28 gün sonra sırasıyla  $10.6 \pm 2$ ,  $57.1 \pm 12$  ve  $72.6 \pm 8$  MPa'dır. Biodentin'in diğer trikalsiyum silikat simanlara kıyasla daha yüksek dayanımı, sıvı içindeki çözünen polimerin sağladığı düşük su/siman oranıyla açıklanmıştır (303). 7 gün boyunca farklı pH (4.4, 5.4, 6.4 ve 7.4) ortamlarına maruz kalma, Biodentin'in WMTA'dan önemli ölçüde daha yüksek basınç dayanımı göstermesine neden olmuştur. Bu çalışmada, WMTA'nın, Biodentin'e göre asidik pH'a daha duyarlı olduğu görülmüştür (313). Tersine, başka bir çalışma, 7 gün sonra asitle aşındırma prosedürlerinin Biodentin'in basınç dayanımını azaltmadığını bildirmiştir. Bu da üreticinin olgun kristal oluşumu elde etmek için final restorasyonun yerleştirilmesi için en az bir hafta bekleme önerilerini desteklemektedir. (314). Biodentin'in eğilme dayanımı, elastisite modülü ve mikrosertliği gibi fiziksel özellikleri MTA'ninkilerden daha yüksektir ancak dentinle benzerlik göstermektedir.

4) *Sızdırmazlık yeteneği*; Akışkan filtrasyon tekniği ile sızdırmazlık yeteneğinin analizinde, Biodentin test edilen 12 haftalık sürenin tamamı için geçerli ve stabil bir apikal sızdırmazlık sağlamıştır (22). 4 ve 24 saatlik periyotta Biodentin, ProRoot MTA, Portland simanı ve Tech Biosealer'a benzer (315) ancak MTA Angelus'tan önemli ölçüde üstün bir sızdırmazlık göstermiştir (316). Biodentin'in dentine daha iyi yapışması, mikromekanik bağlanmayı sağlayan dentin tübülleri içindeki kristal büyüme sürecinden kaynaklanabilmektedir (317).

5) *Renk kararlılığı*; Biodentin, ProRoot MTA (318), Ortho MTA (319), GMTA ve WMTA (320), Bioaggregate ve MTA Angelus (321) ile karşılaştırıldığında 6 aya

kadar renk stabilitesini korumuştur. Portland simanı bazlı çeşitli ürünlerin gözeneklerinde bizmut oksitin varlığı ve kanla kontaminasyon, renk bozulmasına neden olan olası faktörler olarak kabul edilmiştir (318). Başka bir çalışmada bir yıllık değerlendirmede hem ProRoot MTA hem de Biodentin'de gecikmiş diş renk değişikliği tespit edilmiştir, ancak ProRoot MTA için renk değişikliğinin Biodentin'den daha belirgin olduğu gözlenmiştir (322).

### **Biyolojik Özellikleri**

1) *Antimikrobiyal etkinlik*; Biodentin'in antibakteriyel aktivitesinin, *S. Sanguis* suşlarına karşı MTA Angelus, ProRoot MTA'dan önemli ölçüde daha güçlü olduğu gösterilmiştir (323, 324). Biodentin'in en zayıf antibakteriyel aktivitesi, minimum veya neredeyse hiç antibakteriyel aktivite sergilemediği *S. Mutans*'a karşı görülmüştür (323-325). Ayrıca, Biodentin'in antibakteriyel aktivitesi, MTA Angelus ile benzerken *E. faecalis*'e (326, 327) ve *E. Coli*'ye (327) karşı ProRoot MTA ve MTA Plus'tan önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Biodentin'in *C. albicans*'a karşı antifungal etkisi MTA Angelus ve MTA Plus'a benzerlik gösterirken (328) ProRoot MTA'dan belirgin şekilde daha fazla bulunmuştur (327).

2) *Biyouyumluluk ve Sitotoksosite*; Biodentin, hem direkt hem de indirekt kuafaj prosedürleri için biyoaktif özellikler sergileyen, trikalsiyum silikat esaslı bir simandır. Genotoksik veya sitotoksik etkilere neden olmadığı gösterilmiştir (156). Restoratif malzemeler altında kullanımı için biyouyumlu bir materyal olarak kabul edilmektedir ve pulpadaki fibroblast farklılaşmasını değiştirmemektedir (329).

3) *Doku rejenerasyonu*; Biodentin esas olarak tri/dikalsiyum silikattan oluşmaktadır. Yapılan araştırmalar, kalsiyum fosfat simanlarına trikalsiyum silikatın eklenmesinin, bu malzemelerin osteoblast veya osteoblast benzeri hücreler üzerindeki biyoaktivitesini geliştirdiğini açıkça göstermiştir (330). Bu durumun kalsiyum silikat simanlarından silisyum (Si) salınımı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Si'nin kemik metabolizması üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu ve in vivo biyoaktif maddelerden salındığında oluşan yeni kemiğin büyüme hızını arttırdığı iyi bilinmektedir (331, 332). Ayrıca, Biodentin ve MTA,  $Ca^{+2}$  veya  $(PO_4)^{-3}$  içeren vücut sıvılarında hidroksil apatit benzeri bir yapı oluşturmaktadır (333). Bu yapı biyouyumludur, hücre tutunması ve çoğalması için iyi koşullar sağlamaktadır

(333). Biodentin, MTA'dan önemli ölçüde daha yüksek kalsiyum ve silikon iyon salınımı seviyeleri göstermektedir (334). Bu nedenle, Biodentin'nin daha yüksek biyoaktivite sağlayabileceği düşünülebilir (335).

4) *Mineralizasyon*; Biodentin, odontoblast benzeri hücre farklılaşmasını indüklemekte, biyomineralizasyonu uyarmakta ve pulpa kaplama materyali olarak kullanıldığında sert doku oluşumunu desteklemektedir (102, 336).

## 2.10. Mikrosertlik Testi

İntertübüler dentindeki; mineral içeriği ve hidroksiapatit miktarı, dentin yapısının sertlik profilinde önemli faktörlerdir. Yapılan çalışmalar, dişlerdeki sertlik ve mineral içeriği arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmiştir (337, 338). Kök kanal dentininin kimyasal bileşimindeki değişiklik, mekanik özelliklerini etkileyen kalsiyum fosfor oranındaki (Ca/P) değişiklikten kaynaklanabilmektedir (339). Kök kanal mikrosertliğinin ölçülmesinin, diş sert dokularında mineral kaybı veya kazanımı hakkında kanıtlar sağlayabildiği gösterilmiştir (337).

Çürük, pulpektomi ve restoratif materyallerin uygulanması ile oluşan yapısal değişiklikler ile dentin mikrosertliği arasındaki ilişkiye bakan birçok araştırma mevcuttur (340-342). Fusayama ve Maeda (343), pulpasız dişlerin dentin mikrosertlik değerinde vital dişlere göre bir azalma olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, diş canlılığının kaybindan sonra dentinin biyomekanik özelliklerinin değiştiği gösterilmiştir (344). Önceki çalışmalarda; irrigasyon solüsyonlarının, kök kanal ilaçlarının ve kök kanal patlarının kök kanal dentin mikrosertliği üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir (345-347). Çeşitli kimyasal irrigasyon solüsyonları ile yapılan çalışmalar, bunların kök kanal dentininin hem organik hem de inorganik bileşenlerin orijinal oranının değişmesi nedeniyle dentinin mikrosertlik, geçirgenlik ve çözünürlük özelliklerinde değişikliklere yol açtığını göstermiştir (348-350). Buna bağlı olarak, dentin yapısının mekanik, kimyasal ve fiziksel özellikleri değişmektedir. Dentin sertlik özelliği, elastisite modülü, basınç dayanımı ve çekme dayanımı gibi diğer mekanik özelliklerle de ilişkilendirilmiştir (351). Ayrıca dentin mikrosertliğinin azalması ile dişlerde kök kırıklarının oluşumu arasında bir korelasyon olduğu da gösterilmiştir (79).

Kök kanal dentinin mineral içeriğini ve dişin mekanik dayanıklılığını belirlemek için mikrosertlik testleri kullanılmaktadır (347, 352). Radiküler dentinin sertliğini belirlemek için çeşitli indentasyon (girinti oluşturma) tekniklerinin kullanılması endodontik araştırmalarda yaygın bir yaklaşımdır. Kök kanal yüzey sertliğinin değerlendirilmesi nanoindentasyon yöntemi olan Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) kullanılarak yapılabilmektedir. AFM, kuvvetleri piconewton seviyesinde tespit edebilen mekanik-optik bir araçtır. Örnekleri piramidal bir uçla tarayabilmekte, topografyasını kaydedebilmekte ve dentinde girintiler oluşturabilmektedir. AFM, girintileri oluşturmak için alanı belirlemekte ve peritübüler dentin, intertübüler dentin içindeki sertlik ve adezyon kuvvetindeki değişiklikleri değerlendirmek için kullanılabilir (353).

Mikroindentasyon yöntemleri olarak daha önceki çalışmalarda, dentinin sertliğini ölçmek için Knoop indenter mikrosertlik testi (354, 355) ve Vickers indenter mikrosertlik testi (345, 347) kullanılmıştır. Bu yöntemlerde örneklere, Q yüklü bir piramidal prob ile girinti oluşturulmaktadır. Girinti işaretinin görselleştirilmesi, köşegenlerinin ölçülmesi ile sertlik değerleri elde edilmektedir. Knoop sertlik testinin başlıca özelliği, yüzey etkilerine ve dokulara duyarlılığıdır. Belirli bir yük için, Vickers girintisi, daha sık Knoop girintisine göre numuneye yaklaşık iki kat daha nüfuz etmekte ve elde edilen köşegen, Knoop girintisinin en uzun köşegeninin uzunluğunun yaklaşık üçte biri kadardır. Bu nedenle, Vickers testi yüzey koşullarına daha az duyarlı ve daha kısa köşegenleri nedeniyle eşit yükler uygulandığında ölçüm hatalarına daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (356). Vickers mikrosertlik testinin (VHT), diş yapısı gibi kırılman sert dokularının yüzey değişikliklerini değerlendirmek için uygunluğu ve kullanım pratikliği de gösterilmiştir (240, 342, 357).

### **2.11. Bağlanma-Adezyon**

Adezyon, yakın temas halinde olan iki yüzeyi birbirine bağlayan kuvvet olarak tanımlanmaktadır. Adezyon, yüzeyler arasında atomik veya moleküler düzeyde çekim sonucu oluşursa kimyasal bağlantı; yapısal olarak kenetlenme şeklinde oluyorsa mekanik olarak sınıflandırılır (358).

Radiküler dentin bağlanma dayanımı değerlerinin, koronal dentinde oluşturulan bağlardan daha düşük olduğu gösterilmiştir. Bu bağlanma dayanımındaki

farklılığı; kök kanal duvarının dentin tübüllerinin seviyeye göre değişen yoğunluğu, aksesuar kanallar, rezorpsiyon alanları, dentin yapısındaki varyasyonlar ve uygulanan dolum tekniği gibi faktörler etkileyebilmektedir (359).

Kök kanal dolgu materyalleri ile dentin arasındaki bağlanma gücü, yeterli bir sızdırmazlığın sağlanması ve çiğneme sırasında restorasyonun ayrılma riskinin en aza indirilmesi açısından endodontik tedavinin klinik başarısında önemli bir rol oynamaktadır (360). Kök kanal dolgu patlarının ya da bariyer materyallerinin bağlanma dayanımlarını, kök kanal tedavilerinde kullanılan bazı ajanların etkileyebileceği bildirilmiştir. Kanal içi ilaç olarak kullanılan;  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ve antibiyotik patlarının kanaldan tamamen çıkarılamamaları nedeniyle bağlanma dayanımını etkileyebileceği gösterilmiştir. Kök kanal dezenfeksiyon için kullanılan  $\text{NaOCl}$  ve EDTA gibi irrigasyon ajanlarının da dentin kollajenleri üzerindeki etkileri sonucu bağlanma dayanımı üzerinde etkileri olabileceği düşünülmüştür (359, 361).

Endodontide kullanılan kök kanal dolgu materyalleri ile dentin arasında bağlanmanın değerlendirilmesinde bağlanma dayanımı testleri kullanılmaktadır. Bu testler; çekme (tensile), makaslama (shear) ve basma (compressive) testleri sıkça kullanılmaktadır. Çekme testi, yük uygulaması sırasında örnekteki veya gerilim dağılımındaki küçük değişikliklerin sonuçlar üzerinde önemli bir etkiye sahip olması nedeniyle hassastır (362). Öte yandan, makaslama testiyle ilgili bir dezavantaj cihazın, bağlanma arayüzü ile yakından hizalanmasının zor olmasıdır. Yük, bağlanma arayüzden belirli bir mesafede dengelenmekte ve bu durum örnek üzerinde öngörülemeyen tork yüklemesine neden olmaktadır (363).

## 2.12. Push-out Testi

Push-out testi, çeşitli materyallerin bağlanma dayanımını değerlendirmek için endodontik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Test edilen materyaller; postlar, kök kanal patları, onarım materyalleri , kök ucu dolguları ve bariyer materyalleri gibi kanal boşluğunu doldurmak için klinik olarak kullanılan malzemelerdir (364). Push-out testinde; hazırlanan dentin kesitleri universal test cihazına yerleştirildikten sonra cihazın kuvveti aktaran metal ucu doğrudan kanalın içindeki materyale sabit hızda uygulanmaktadır. Bu kuvvet ile dentinden ayrılan

materyalin ayrılma anındaki kuvvet (N) ölçülmekte ve MPa cinsine çevrilerek değerlendirilmektedir (365).

Push-out testini diğer bağlanma testi yöntemlerine göre ana avantajı, materyalleri dentin ile çevrili kanal içinde test etme yeteneğidir, böylece materyalin klinik kullanımı hakkında fikir vermektedir (366). Öte yandan test düzeneğinde çok fazla değişken tespit edilmiş ve bu yüzden sonuçlar farklılık gösterebilmektedir. Bu değişkenler, test parametrelerinin (metal ucu çapı ve hızı) seçimini ve örnek hazırlama yöntemini (kesit kalınlığı, doldurma zamanı ve hazırlama yöntemi/boyutu/konikliği) içermektedir (364).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması için Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Değerlendirme Etik Kurul tarafından onay alınmıştır.(29.06.2021,2021/16-41) Ayrıca Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (TDH-2021-19734) tarafından kabul edilmiştir. Çalışmanın deney aşamaları Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nin ARGE laboratuvarında ve Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nin laboratuvarında yapılmıştır.

#### 3.1. İrrigasyon Solüsyonlarının Dentinin Mikrosertliği Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

##### 3.1.1. Dişlerin Seçimi Hazırlanması ve Kök Kanal Sistemlerinin Şekillendirilmesi

Periodontal veya ortodontik sebeplerle çekilmiş 112 adet tek köklü insan diş çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışma için özellikle diş çekimi yapılmamıştır. Tüm dişlerden tek kanallı olduklarını doğrulayan radyografiler alınmıştır. Çalışmaya kron yüzeyinde çürük, çatlak, kırık veya rezorbsiyon olan dişler dahil edilmemiştir. Deney öncesinde dişler üzerindeki yumuşak doku kalıntıları fırça yardımıyla temizlenip serum fizyolojik içerisinde bekletilmiştir.

Standardizasyon amacıyla, dişler kök uzunluğu  $13\pm1$  mm olacak şekilde kronlarından ayrılmıştır. ProTaper Universal döner eğe sistemi (Densplay-Maillefer, Ballaigues, İsviçre) ile SX, S1, S2, F1, F2, F3, F4 ve F5 kullanılarak kök kanalları temizlenip şekillendirilmiştir. Her eğe arasında 2 ml %1,5 NaOCl ile kök kanalları irriye edilmiştir. Daha sonra olgunlaşmamış açık kökleri simüle etmek için sırayla 1-5 numaralı Peeso reamerlar (Coltène/Whaledent, Summit County, ABD ) çalışma uzunluğunda ve 6 numaralı reamer apeksten 1mm ileride olacak şekilde kullanılmıştır. İmmatür dişlerin modelize edildiği 112 adet diş daha sonra deney grupları için rastgele ayrılmıştır ( Şekil 3.1).

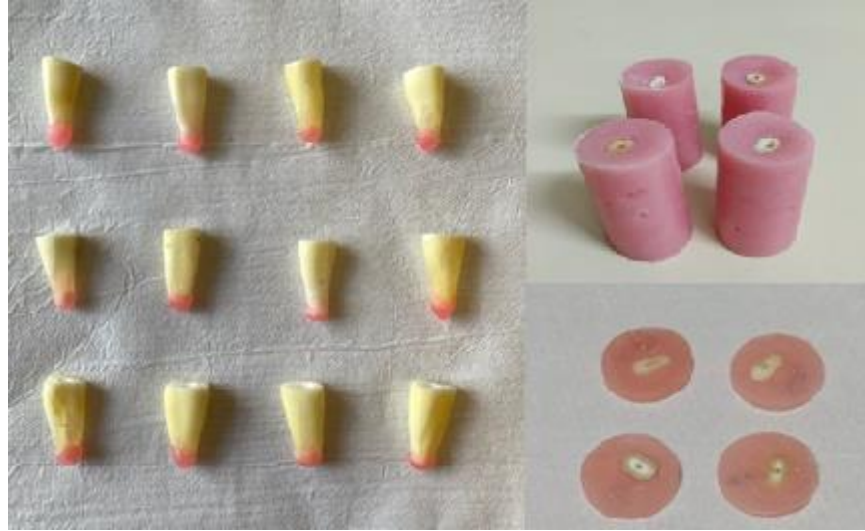


**Şekil 3.1.** Dekronize edilmiş ve immatür kök formu verilmiş tek köklü dişlerin şekillendirilmesi

### 3.1.2. Dişlerin Gruplara Ayrılması ve Kanallara İrrigasyon Solüsyonlarının Uygulanması

Mikrosertlik testi için modelize edilen 40 adet dişin apikal kısımları mumla kapatılmış bir şekilde dikey olarak silindirik kalıplar kullanılarak otopolimerizan akril rezin içerisine yerleştirilmiştir. Daha sonra su soğutması altında ISOMET cihazı kullanılarak her kökün uzun eksenine dik olacak şekilde koronal kısımlarından  $2.00 \pm 0.05$  mm kalınlığında 2 dentin kesiti elde edilmiştir. Elde edilen kesit kalınlıkları dijital bir kumpas ile kontrol edilmiştir ( Şekil 3.2). Her dişten (40) 2 tane olmak üzere elde edilen toplam 80 dentin kesiti irrigasyon protokolüne göre rastgele olacak şekilde aşağıdaki gruplara ayrılmıştır. Mikrosertlik için 3 adet deney ( $n=30$  diş, 60 dentin kesiti) ve 1 adet ( $n=10$  diş, 20 dentin kesiti) kontrol grubu oluşturulmuştur.

1. Grup Distile su (Kontrol Grubu) ( $n=10$  diş, 20 dentin kesiti)
2. Grup %25 GSE
3. Grup %1,5 NaOCl
4. Grup %2 CHX

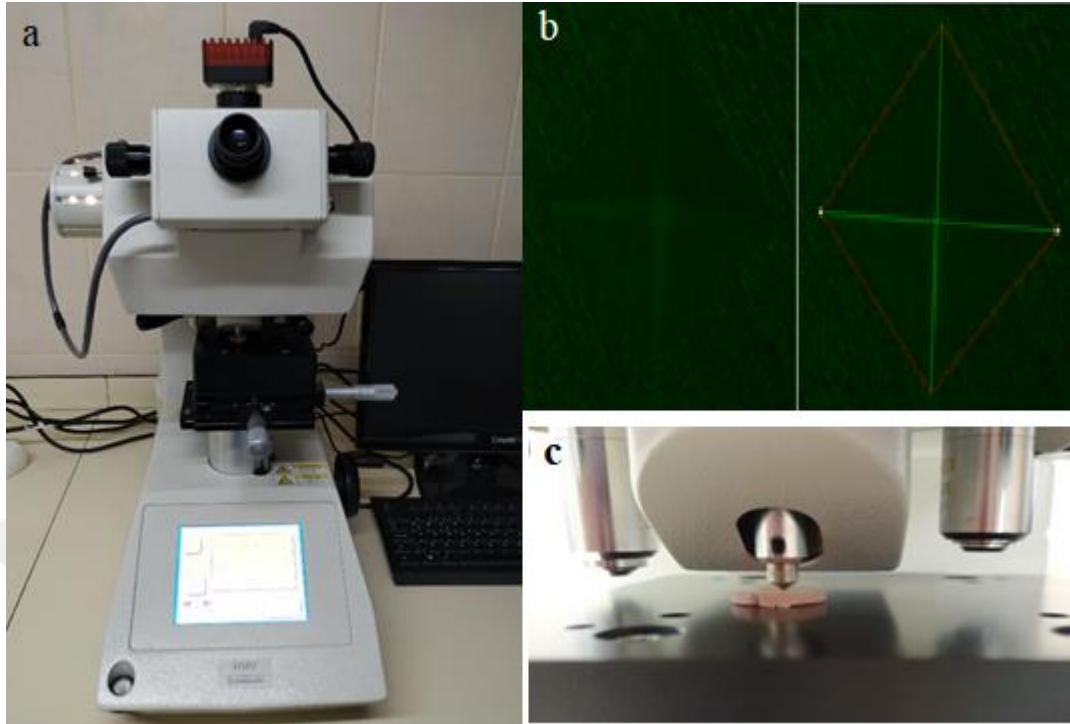


**Şekil 3.2.** Hazırlanan örneklerin kök uçlarının mum ile kapatılması, akril kalıplarına dikey olarak yerleştirilmesi ve dentin kesitlerinin alınması.

Elde edilen dentin kesitleri, yukarıdaki belirtilen gruplarda yer alan, her biri 20 ml test solüsyonu içeren manyetik karıştırıcı banyosuna 5 dakika süre ile daldırılmıştır. Daha sonra kontrol grubu dışındaki örnekler 20 ml steril salin ile 5 dk boyunca yıkanmıştır.

### 3.1.3. Mikrosertlik testinin uygulanması

Dentin yüzeyleri, pürüzlerden arındırılması amacıyla akan su altında polisaj makinesi (Mecapol P230, Presi, France) kullanılarak silisyum karbür aşındırıcı kağıtları (180, 320, ve 600 grit) (Buehler, Lake Bluff, IL, ABD) ile polisajlanmıştır. Örneklerin irrigasyon solüsyonları ile yıkanmasından önce ve sonra radiküler dentinin koronal üçlüsündeki mikrosertliğini değerlendirmek için bir Vickers mikrosertlik test cihazı (Shimadzu Corporation, Japonya) kullanılmıştır. İlk olarak, başlangıç dentin mikrosertliğini belirlemek için, pulpa-dentin arayüzünden 100 µm derinlikte 20 saniye 300 gr kuvvet uygulanarak ölçülmüştür. Örnekler irrigasyon ajanları ile yıkanıp kurutulduktan sonra mikro sertlik değerleri (Vickers Sertlik Numarası: VHN) ilk girinti alanlarına yakın olacak şekilde tekrar kaydedilmiştir. Ölçümler, her numune için üç farklı alanda kaydedilmiştir ve her örnek için ortalama VHN'ler elde edilmiştir. Tedavi öncesi ve sonrası VHN'lerdeki değişiklikler hesaplanmıştır ve istatistiksel karşılaştırmalar için kullanılmıştır.



**Şekil 3.3.** Mikrosertlik cihazı(a), örneklere mikrosertlik testinin uygulama görüntüsü (b), sertlik değerlerinin ölçüm yöntemi(c).

### 3.2. İrrigasyon Solüsyonlarının Bariyer Materyalinin Bağlanma Dayanımına Etkisi

#### 3.2.1. Dişlerin Gruplara Ayrılması ve $\text{Ca(OH)}_2$ 'nin Uygulanması

Bağlanma dayanımı için, geriye kalan 72 diş irrigasyon protokolüne göre rastgele olacak şekilde aşağıdaki 3 adet deney (n=54 diş, 108 dentin kesiti) ve 1 adet (n=18 diş, 36 dentin kesiti) deney gruplarına ayrılmıştır.

1. Grup Distile su (Kontrol Grubu) (n=18 diş)
2. Grup %25 GSE (n=18 diş)
3. Grup %1,5 NaOCl (n=18 diş)
4. Grup %2 CHX (n=18 diş)

Yukarıdaki solüsyonlar,hazırlanan dişlerin kanallarına geleneksel enjektör (27 gauge, 2,5 ml) yöntemiyle 20 ml olacak şekilde 5 dakika süre ile uygulanmıştır. Daha sonra kontrol grubu dışındaki örnekler 20 ml steril salinle 5 dk yıkanmıştır. Kanallar paper pointler (Sure-endo, Seoul, Kore) ile kurulanmıştır. Kök uçları mum ile kapatılıp kanallara #40 lentülo (PANDA,Türkiye) ile mikromotor kullanılarak  $\text{Ca(OH)}_2$  yerleştirilmiştir. Örneklerin koronal kısmı Cavit G (3M ESPE, Seefeld, Almanya) ile kapatılıp *in-vivo* koşulları simüle etmek için 2 hafta boyunca  $37^\circ\text{C}/\%100$  nemli ortamda saklanmıştır.

### 3.2.2. Kanal İçi İlacın $[\text{Ca(OH)}_2]$ Uzaklaştırılması ve Dişlerden Kesit Alınması

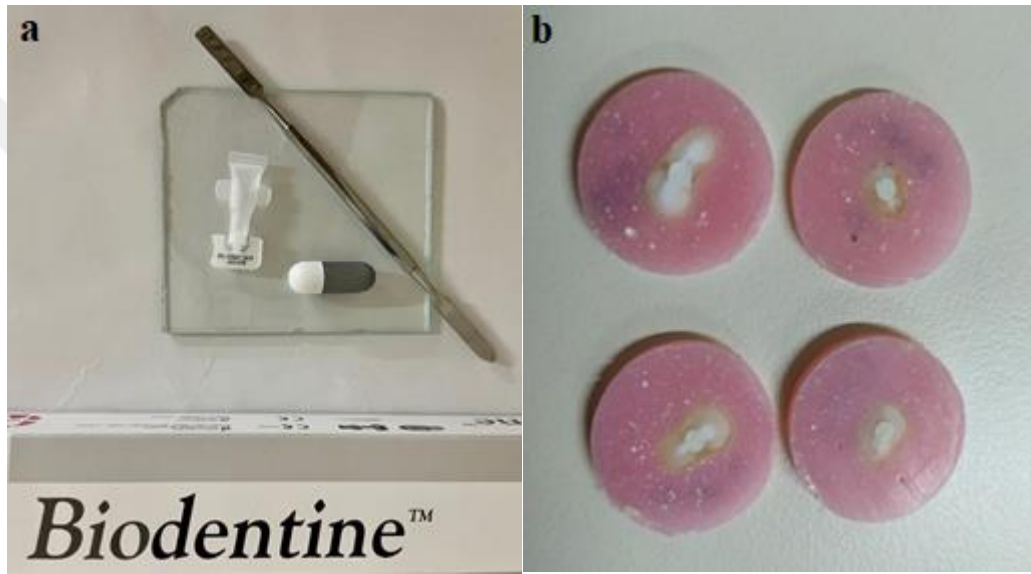
İki hafta sonra, dişlere uygulanmış olan geçici dolgu materyali kaldırılmıştır. Kanallar önce 20 ml  $\%17$  EDTA ve ardından 10 mL salin ile yıkanmıştır ve paper pointler ile kurutulmuştur. Daha sonra kökler apikal kısımları mumla kapatılmış bir şekilde dikey olarak silindirik kalıplar kullanılarak otopolimerizan akril rezin içerisine yerleştirilmiştir. Grup başına 36 adet dentin kesiti elde etmek için su soğutması altında ISOMET cihazı (Buehler, Lake Bluff, IL, USA) kullanılarak her kökün uzun eksenine dik olacak şekilde, her kökten  $2.00 \pm 0.05$  mm kalınlığında 2 dentin kesiti elde edilmiştir (Şekil 3.4). Elde edilen disk kalınlıkları dijital bir kumpas ile kontrol edilmiştir.



**Şekil 3.4.** Kesit alma cihazı (a) örneklerin yerleştirilmesi ve kesit alınma görüntüsü (b)

### 3.2.3 Bariyer Materyalinin (Biodentine) Uygulanması

Hazırlanan dişlere bariyer materyali olarak uygulamak için Biodentine (Septodont, Fransa) üreticinin talimatlarına göre hazırlanmıştır. MTA taşıyıcısı (MAP System, Dentsply Tulsa Dental Tulsa Dental Specialties) yardımı ile kesitlerin-kök kanalının lümenine yerleştirilmiştir ve düz bir cam üzerinde bir el pluggerı (Dentsply Maillefer) kullanılarak kondanze edilmiştir (Şekil 3.5). Örnekler daha sonra distile suya batırılmış spançlara sarılmıştır ve Biodentine'in tamamen sertleşmesini sağlamak için bir hafta boyunca 37 ° C /%100 nemde saklanmıştır.



**Şekil 3.5.** Biodentine'nin hazırlanması (a), örnekler Biodentine uygulama sonrası görüntüsü (b)

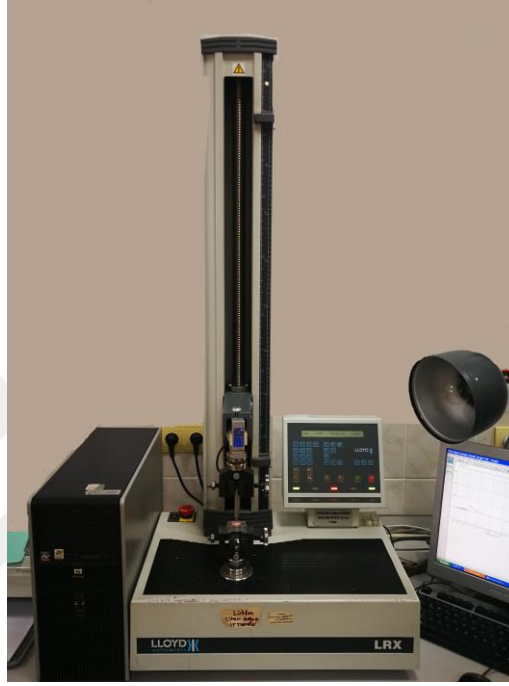
### 3.3. Push-out Bağlanma Dayanımı Testinin Uygulanması

Push-out bağlanma dayanımı, bir evrensel test makinesi (INSTRON; Llyod LRX, Llyod Instruments Ltd, Fareham, UK) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6). 1.20 mm çaplı paslanmaz metal uç ile 1 mm/dk hızında dikey bir kuvvet uygulanmıştır, sadece Biodentine ile temas edecek ve kanal duvarlarına baskı yapmayacak şekilde kesitin doldurulan bölümü üzerine yerleştirilmiştir (Şekil 3.7). Ayrıca örnekler, metal ucun apikalden koronale doğru hareket etmesine izin verecek şekilde konumlandırılmıştır; bu da dolgu malzemesinin kesitin daha büyük çaplı koronal yönüne doğru yer değiştirmesini sağlamıştır. Dolgu maddesinin kaviteden

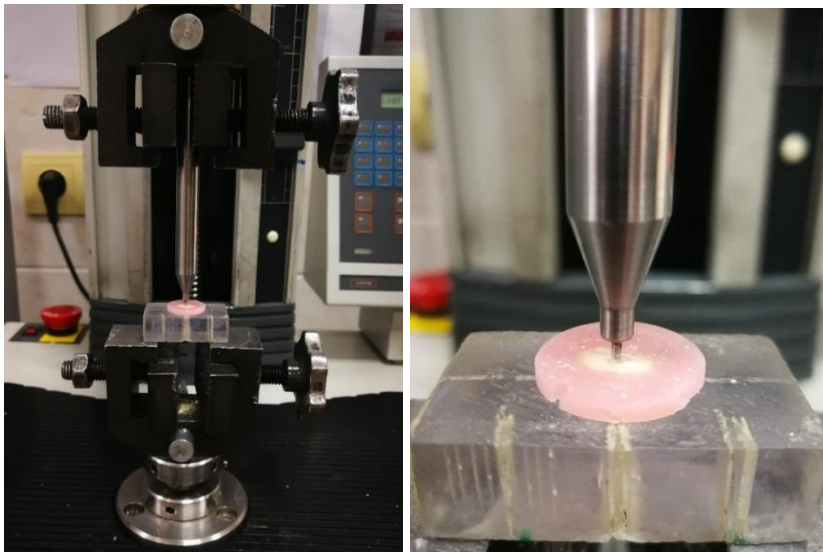
uzaklaşmasına sebep olan maksimum kuvvet Newton (N) cinsinden kaydedilmiştir (Şekil 3.8). Ardından aşağıdaki formüle göre Megapaskal (MPa) değeri hesaplanmıştır (367).

$$\text{MPa} = \text{maksimum kuvvet (N)} / \text{bağlanma alanı (mm}^2\text{)}$$

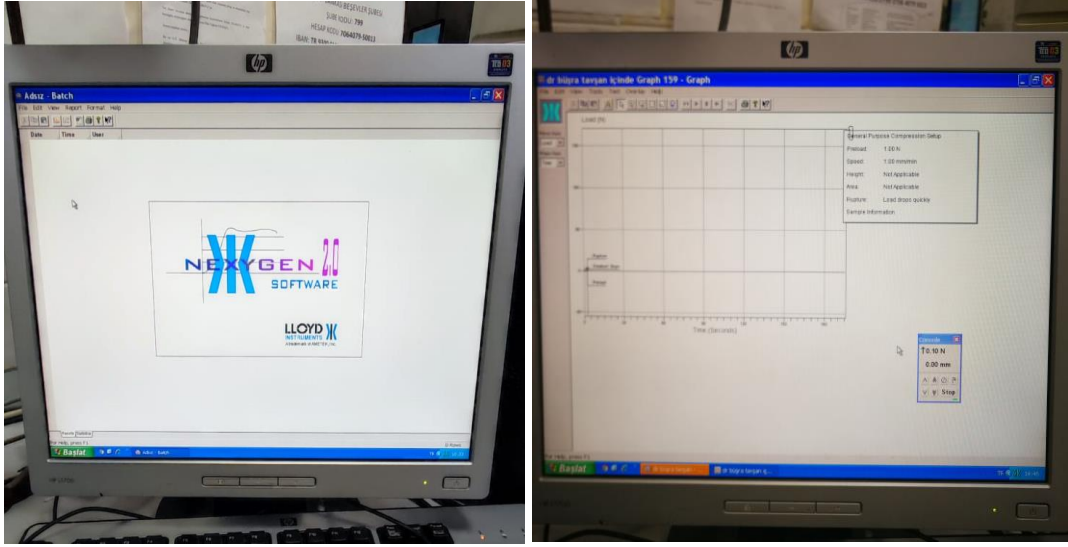
$$\text{Bağlanma alanı (mm}^2\text{)} = 2\pi rh \text{ (r, örnek yarıçapı; h örneğin yüksekliği)}$$



**Şekil 3.6.** Push-out testinde kullanılan evrensel test cihazı



**Şekil 3.7.** Örneklere 1 mm/dk olacak şekilde kuvvet uygulanması



**Şekil 3.8.** Nexygen 2.0 Software veri analiz programı

### 3.4 Ayrılma Tiplerinin Analizi

Push-out bağlanma dayanımı testi ardından, örnekler, stereomikroskopunda (Zeiss S7, Carl Zeiss, Germany) X25 büyütme altında incelenerek dolgu materyalinin ayrılma tipleri belirlenmiştir (Şekil3.9.). Ayrılma tipleri; adeziv, koheziv veya karışık olacak şekilde üç sınıfta incelenmiştir (Tablo 1) (368).



**Şekil3.9.** Ayrılma tipinin analizinde kullanılan stereomikroskop

**Tablo 3.1.** Ayrılma Tiplerinin Sınıflandırılması

| Ayrılma Tiplerinin Sınıflandırması |                                                    |
|------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Adeziv tip ayrılma                 | Biodentine ve dentin arasındaki ayrılma            |
| Koheziv tip ayrılma                | Biodentine'in kendi içinde ayrılması               |
| Karışık tip ayrılma                | Adeziv ve koheziv başarısızlığın beraber görülmesi |

### 3.5. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler IBM SPSS 23.0 yazılımı kullanılarak  $p < 0.05$  anlamlılık düzeyinde analiz edilmiştir. Solüsyonların dentin mikrosertliğine etkisinin karşılaştırılmasında, verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Veriler normal dağılım gösterdiğinden grupları karşılaştırmak için parametrik testler kullanılmıştır. Solüsyonların dentin mikrosertliğine etkisi, tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiştir. İkili karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmesi kullanılarak yapılmıştır.

Kullanılan solüsyonların bariyer materyali olan Biodentin'in bağlanma dayanımına etkisinin değerlendirilmesinde, verilerin normalite dağılımı Shapiro-Wilk testi ile yapılmıştır. Veriler normal dağılım gösterdiğinden parametrik bir test olan tek yönlü varyans analizi (Welch's ANOVA) kullanılmıştır. Verilerin anlamlılık düzeyi  $p = 0,05$  olarak belirlenerek karşılaştırmalar yapılmıştır. Biodentin'in ayrılma tipi analizi, Ki-Kare testi kullanılarak yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Solüsyonların Dentin Mikrosertliğine Etkisine Ait Bulgular

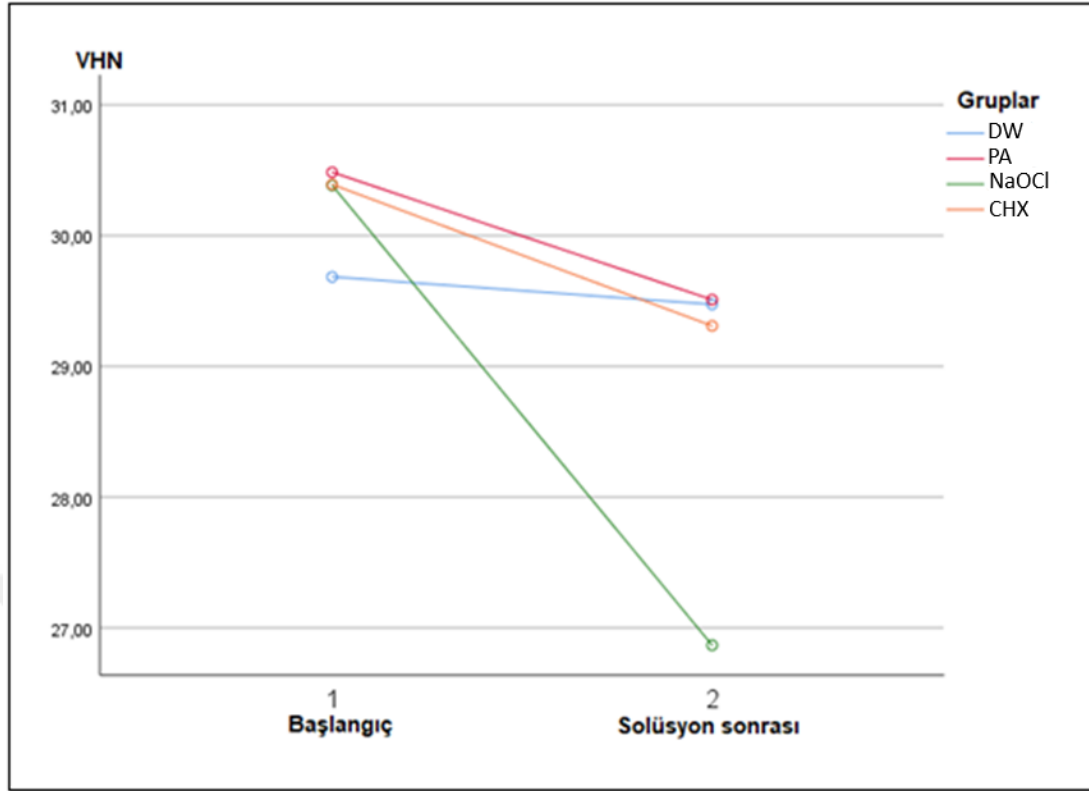
Solüsyonların dentin mikrosertliğine etkisinin değerlendirildiği bu *in-vitro* çalışmada, solüsyon gruplarına ait başlangıç ve solüsyon sonrası Ortalama ve Standart Sapma değerleri Tablo 4.1’de gösterilmektedir. Solüsyon uygulanmasından sonraki değerler, başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında tüm test gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma olmuştur ( $p<0,05$ ).

**Tablo 4.1.** Başlangıç ve Solüsyon Sonrası Mikrosertlik Değerleri Ort± SS (VHN)

| Gruplar       | Başlangıç                 | Solüsyon Sonrası          | Azalma Miktarı | N  |
|---------------|---------------------------|---------------------------|----------------|----|
| DW            | 29,6840±1,79 <sup>a</sup> | 29,4735±1,77 <sup>b</sup> | 0,21           | 20 |
| PA            | 30,4845±1,76 <sup>a</sup> | 29,5095±1,68 <sup>b</sup> | 0,96           | 20 |
| NaOCl         | 30,3840±1,87 <sup>a</sup> | 26,8665±1,85 <sup>c</sup> | 3,52           | 20 |
| CHX           | 30,3910±1,82 <sup>a</sup> | 29,3090±1,76 <sup>b</sup> | 1,08           | 20 |
| <b>Toplam</b> | 30,2359±1,81              | 28,7896±2,06              | 1,45           | 80 |

\*Aynı olarak yazılan harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığını göstermektedir ( $p>0,05$ ). Farklı olarak yazılan harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark olduğunu göstermektedir ( $p<0,05$ ).

Gruplar arasında, başlangıç ve solüsyon sonrası mikrosertlik değerlerinin ikili karşılaştırma sonuçları incelendiğinde ise; başlangıç mikrosertlik değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok iken ( $p>0,05$ ) solüsyon sonrası gruplar arasında anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.1). DW, PA ve CHX grupları, mikrosertlik değerlerinde benzer bir azalma göstermiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). NaOCl grubundaki mikrosertlik değerleri, tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ( $p<0,05$ ). Şekil 4.1’de grupların başlangıç ve solüsyon sonrası mikrosertlik değerlerinin değişim grafiği gösterilmiştir.



**Şekil 4.1.** Grupların Mikrosertlik Değerlerinin Başlangıç Ve Solüsyon Sonrası Değişim Grafiği.

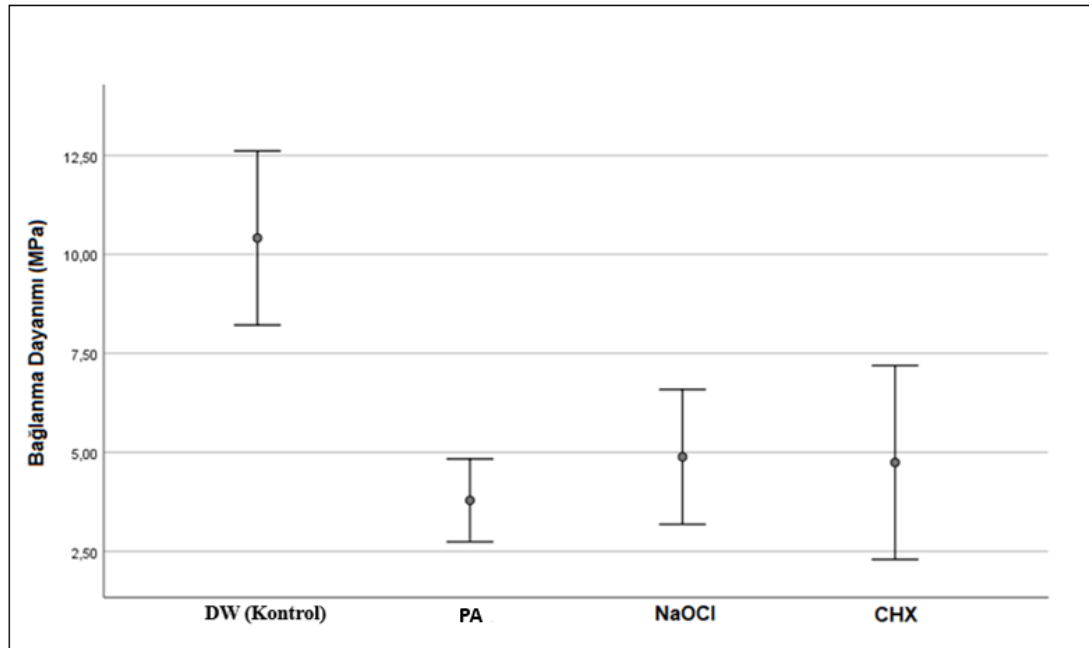
#### 4.2. Bağlanma Dayanımına Ait Bulgular

Biodentin'in PA, NaOCl, CHX ve kontrol grubu için bağlanma dayanımı değerleri; Tablo 4.2 ve Şekil 4.2 'de gösterildiği şekildedir. Welch's ANOVA testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). DW grubu deney gruplarıyla karşılaştırıldığında, bağlanma dayanımı açısından anlamlı olarak daha yüksek değerler göstermiştir ( $p < 0,05$ ). Ancak PA grubunda bağlanma dayanımı, NaOCl grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). CHX'in hem NaOCl hem de PA grupları ile arasında bağlanma dayanımı değerleri açısından anlamlı bir fark yoktur ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 4.2.** Kontrol ve Deney gruplarının Bağlanma Dayanımı Minimum, Maksimum, Ortalama ve Standart Sapma değerleri (MPa=N/mm<sup>2</sup>)

| Gruplar       | n          | Bağlanma Dayanımı<br>(MPa=N/mm <sup>2</sup> )<br>Ort± SS | Min         | Max          |
|---------------|------------|----------------------------------------------------------|-------------|--------------|
| DW            | 36         | 10,41±2,20 <sup>a</sup>                                  | 4,01        | 14,22        |
| PA            | 36         | 3,77±1,05 <sup>b</sup>                                   | 2,38        | 6,06         |
| NaOCl         | 36         | 4,89±1,70 <sup>c</sup>                                   | 2,96        | 8,42         |
| CHX           | 36         | 4,74±2,45 <sup>b,c</sup>                                 | 2,14        | 10,96        |
| <b>Toplam</b> | <b>144</b> | <b>5,96±3,24</b>                                         | <b>2,14</b> | <b>14,22</b> |

\*Aynı olarak yazılan harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığını göstermektedir (p>0.05). Farklı olarak yazılan harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark olduğunu göstermektedir (p< 0.05).



**Şekil 4.2.** Biodentine'nin bağlanma dayanımı değerlerinin dağılım grafiği.

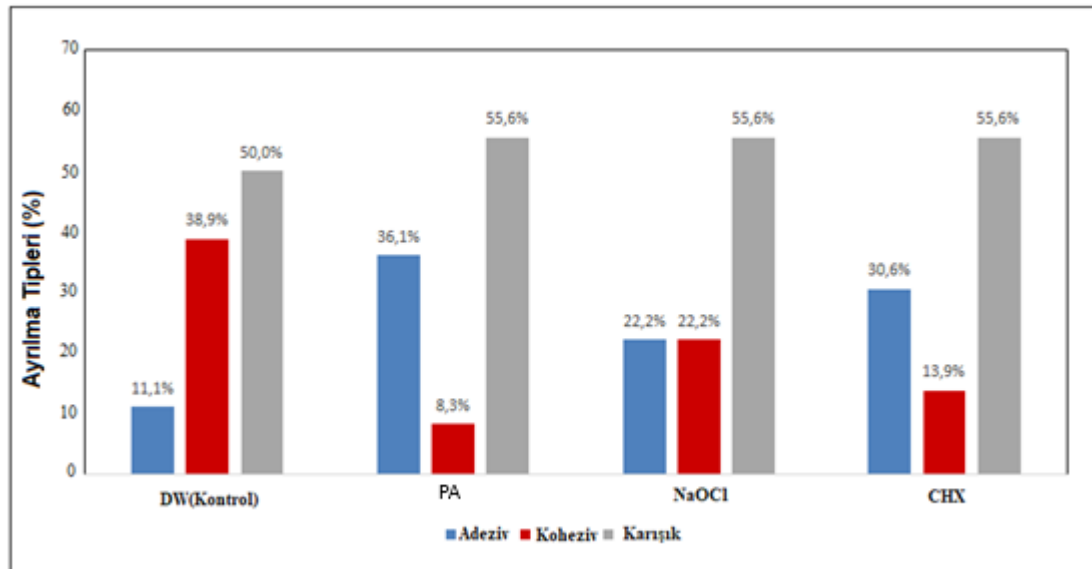
#### 4.3. Ayrılma Tipinin Analizine Ait Bulgular

Push-out testi için kullanılan dentin kesitleri (n=144) bir stereo mikroskop kullanılarak ayrılma tiplerinin analizi açısından incelenmiştir (Şekil 4.4). Tüm gruplarda en fazla ayrılma tipi "Karışık Tip" ayrılmadır ve gruplar arasında anlamlı

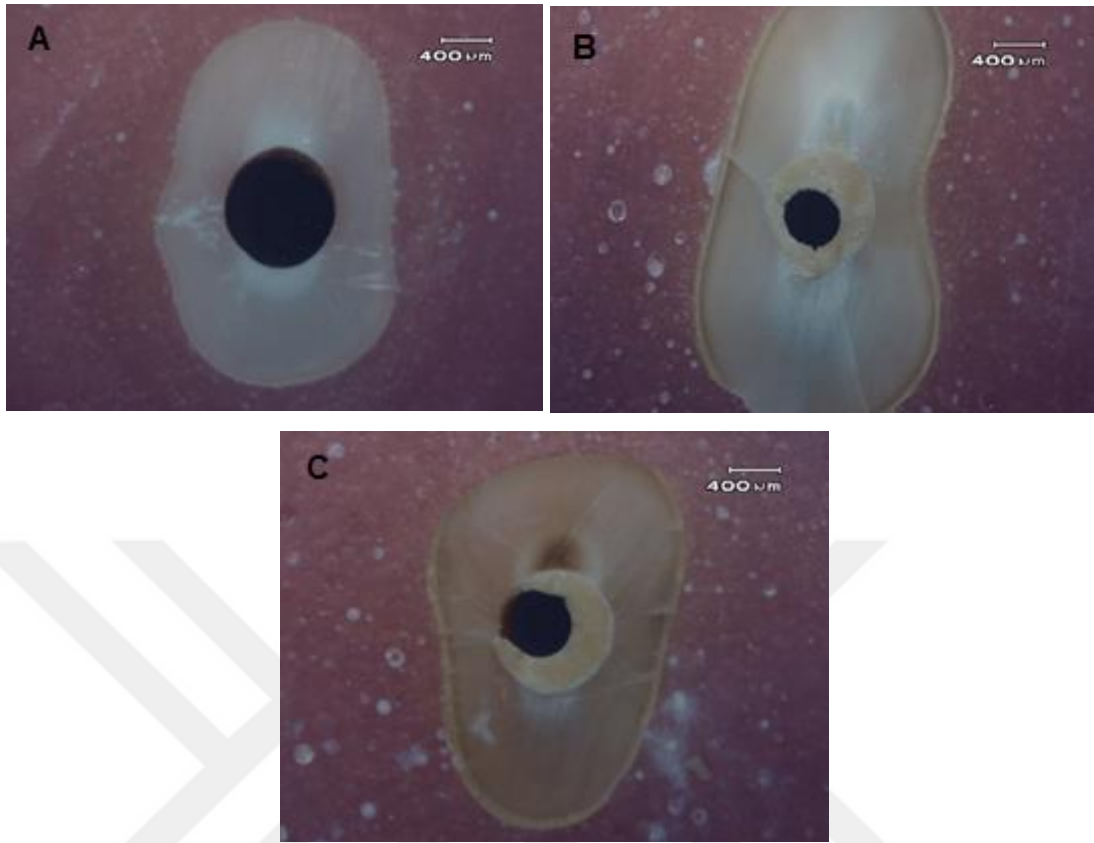
bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). “Adeziv tip” ayrılma en fazla PA grubunda gözlenmiştir ancak diğer gruplarla arasında anlamlı fark yoktur ( $p>0,05$ ). “Koheziv Tip” ayrılma ise en fazla DW grubunda bulunmuştur ve sadece PA grubu ile aralarından anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.3 ve Şekil 4.3).

**Tablo 4.3.** Ayrılma Tipi Analizi

| Gruplar | n  | Ayrılma Tipi (n , %)   |                         |                        |
|---------|----|------------------------|-------------------------|------------------------|
|         |    | Adeziv                 | Koheziv                 | Karışık                |
| DW      | 36 | 4 (11,1) <sup>a</sup>  | 14 (38,9) <sup>a</sup>  | 18 (50) <sup>a</sup>   |
| PA      | 36 | 13 (36,1) <sup>a</sup> | 3 (8,3) <sup>b</sup>    | 20 (55,6) <sup>a</sup> |
| NaOCl   | 36 | 8 (22,2) <sup>a</sup>  | 8 (22,2) <sup>a,b</sup> | 20 (55,6) <sup>a</sup> |
| CHX     | 36 | 11 (30,6) <sup>a</sup> | 5 (13,9) <sup>a,b</sup> | 20 (55,6) <sup>a</sup> |



**Şekil 4.3.** Gruplar arasında ayrılma tiplerinin yüzdeleri.



**Şekil 4.4.** A; Adeziv tipi ayrılma, B; Koheziv tipi ayrılma, C; Karışık tip ayrılma örnekleri

## 5. TARTIŞMA

Kök gelişimi devam eden daimi dişlerde travma, çürük, gelişimsel diş anomalilerinin sıklıkla gözlendiği belirtilmiştir. Bu gibi durumlar pulpa dokusunu ve pulpa-dentin kompleksini tehlikeye atabilmekte ve normal kök gelişimini bozabilmektedir. İmmatür dişlerde pulpanın nekroze olması kök oluşumunun durmasına neden olmakta dolayısıyla kök kanal tedavisi işlemlerinin yapılmasını zorlaştıran açık kök apeksi, ince dentin duvarları ve kısa kök kanal boyu ile sonuçlanmaktadır (6, 7). Son zamanlarda immatür nekrotik pulpalı dişlerde hasarlı dokunun canlılığını geri kazanmasını ve kök gelişimlerinin devam etmesini sağlamak amacıyla RET üzerinde yoğunlaşmıştır. RET; pulpa-dentin kompleksinin hücreleri dahil olmak üzere dentin ve kök yapılarındaki hasarlı, hastalıklı veya eksik yapıları, tercihen aynı orijinli canlı dokularla, değiştirmek için tasarlanmış biyolojik temelli işlemler olarak tanımlanmaktadır (18).

İnsan dişlerinden elde edilen örnekler, klinik olarak daha uygun bir substrat olarak çalışma hipotezinin test edilmesine izin verdikleri için *in vitro* çalışmalarda tercih edilmektedir (369). Bununla birlikte, araştırmalar için insan dişlerinin toplanması konusundaki artan zorluk, alternatif örneklerin kullanılmasına yol açmıştır. Laboratuvar testlerinde substrat olarak kullanılan insan dışı dişler, esas olarak sığır örneklerini (370), ayrıca primat (371), domuz (372) ve at dişlerini (373) içermektedir. RET’lerde de immatür dişlerin simüle edilebilmesi için insan dişleri dışında özellikle sığır ve koyun dişleri kullanılabilir (374, 375). Ancak bu dişler; insan dişleri ile hem morfolojik hem de kimyasal bileşimlerindeki farklılıkları sebebiyle uyumlu sonuçlar göstermemektedir (376). Ayrıca, çekilmiş insan dişlerinin kök ucu kapalı, tek köklü ve tek kanallı olması immatür diş formunun standardize edilebilmesi için tercih edilmektedir. Çalışmalarda kron yüzeyinde çürük, çatlak, kırık veya rezorbsiyon olan dişlerin seçilmemesine özen gösterilmelidir (377). Bu kapsamda çalışmamızda, belirtilen kriterlere göz önünde bulundurularak insan dişleri seçilmiş olup kullanıncaya kadar serum fizyolojik içerisinde bekletilmiştir.

İmmatür dişlerin kök kanal genişliği ve açık apeks formunu oluşturabilmek için birçok çalışmada Peeso reamerlar kullanılmıştır. Elnaghy ve ark. (378), kök kanalları #60 eğeye kadar genişletildikten sonra 1-6 Peeso reamerları sırasıyla kullanmışlardır.

En son 6 numaralı frezi 1 mm taşkın kullanarak immatür diş formu elde etmişlerdir. Stuart ve ark. (377), K3 eğesini (Sybron Endo, Orange, CA) kanal içinde ve 5 numaralı Peeso reameri apeksin 1 mm ötesinde kullanarak immatür dişleri simüle etmişlerdir. Ulusoy ve ark. (379), kanalları F4'e kadar Protaper eğe sistemi ile şekillendirdikten sonra 5 numaralı Peeso reamer kullanmışlardır. Nagaş ve ark. (361), F5'e kadar Protaper eğe sistemi kullanarak immatür diş formu oluştururken; Topçuoğlu ve ark. (380) ve Güven ve ark. (381) ise, immatür dişler için sadece Peeso reamerlar ile çalışarak dişleri şekillendirmişlerdir. 1'den 5'e kadar olan Peeso reamerları kanal içinde kullanıp 6 numaralı frezi apeksten 1mm taşkın çalıştırmışlardır. Oktay ve ark.(382), F5'e kadar Protaper eğe sistemiyle beraber kanal içinde 1'den 6 numaraya kadar Peeso reamer kullanmışlardır. Bu çalışmada ise benzer şekilde Protaper Universal eğe sistemi kök uzunluğunda sırasıyla SX-F5 eğeleri ve ardından 1-5 arası Peeso reamerlar kullanıldıktan sonra 6 numaralı frez apeksten 1 mm taşkın olacak şekilde kanallar şekillendirilmiştir. Tüm dişlerin kök uzunluğu  $13\pm 1$  mm şeklinde standardize edilmiştir.

Kök kanal sisteminde steril bir ortamın oluşturulması, MSC'lerin kemotaksisi ve dolayısıyla mineralize doku oluşumu üzerinde büyük bir etken olması sebebiyle RET'in başarısında çok önemli bir rol oynamaktadır (383). RET'lerde, immatür dişlerin ince kök duvarları ve kısa kök boyları sebebiyle minimum şekillendirme yapılması veya hiç yapılmaması önerilmektedir. Bu nedenle, dezenfeksiyonun sağlanması için kimyasal irrigasyona ve kanal içi ilaçların kullanımına büyük ölçüde önem verilmektedir (20). NaOCl, RET dahil olmak üzere endodontik işlemlerde en yaygın kullanılan kök kanal irrigasyon ajanıdır (96). RET'de %1-6 aralığında değişen konsantrasyonlarda NaOCl kullanılmıştır (26). Yüksek bakterisidal etkinliği (384-386) ve doku çözme kapasitesi (186, 387, 388) gibi birçok avantaja sahiptir. Ancak istenmeden periradiküler dokulara enjekte edildiğinde sitotoksitesisi (389), daha yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında kök hücrelerinin hayatta kalması ve çoğalması üzerindeki olumsuz etkisi (390) ve dentinin mekanik özelliklerini zayıflatması (192, 391) gibi bazı dezavantajları da mevcuttur.

Esas olarak NaOCl irrigasyonundan sonra ve RET'de indüklenen kanamadan önce dentine EDTA uygulanması önerilmektedir. RET'de EDTA uygulaması dentini demineralize ederek dentin matrisinden büyüme faktörlerini serbest bırakılmasını

sağlamaktadır (31). Bunun sonucunda dental pulpa kök hücrelerinin dentine doğru yer değiştirmesini, yapışmasını ve farklılaşmasını desteklemektedir (32). NaOCl'den sonra %17 EDTA kullanılması, SCAP sağkalımının artırması (28) ve sitotoksiteyi azaltması açısından önerilmektedir (7); böylece EDTA kullanımı hücre aktivitesini ve doku rejenerasyonunu optimize etmektedir (214). Minimal şekillendirme yapıldığı durumlarda, EDTA kullanımı ile smear tabakasının uzaklaştırılması, kök hücre farklılaşmasının yanı sıra yeni oluşan dokunun kanal duvarlarına bağlanması için bağlanma bölgelerini ortaya çıkarabilmektedir (217). Bu nedenlerle bu çalışmada, AAE protokolüne göre 20 ml %17 EDTA ile irrigasyon uygulanmıştır.

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz bir diğer irrigasyon ajanı CHX'dir. Geniş spektrumlu antimikrobiyal kapasitesi, uzun etki süresi ve NaOCl'ye göre düşük toksisite sağlaması (33, 34), ara yıkama solüsyonu olarak değil de son yıkama solüsyonu olarak kullanımının yararlı olabilmesi (37), aynı şekilde RET için, AAE tarafından belirtildiği gibi CHX bazlı karışımlar standart seçenekler olarak kabul edilmemesine rağmen, çalışmaların çoğunda CHX içeren en az bir deney grubu tasarlanması (392) nedeniyle çalışmaya CHX içeren bir grup dahil edilmiştir.

RET'lerde kök kanal sistemini dezenfekte etmek amacıyla irrigasyon ajanları kadar kanal içi ilaçların da önemli bir rolü olduğu açıklanmıştır. Literatürde  $\text{Ca(OH)}_2$ , kanal içi ilaç seçiminde yaygın olarak tercih edilmektedir (7).  $\text{Ca(OH)}_2$ , kök hücrelere karşı TAP ve DAP'larına göre daha düşük sitotoksitesi, dentinden büyüme faktörlerinin salınmasını uyarması, kök hücrelerinin daha fazla sağkalımını ve çoğalmasını artırması gibi etkileri sebebiyle tedavilerde sıklıkla uygulanmaktadır (156, 269, 270). Ayrıca kök kanal sisteminden uzaklaştırılabilmesi açısından TAP ve DAP'larına kıyasla daha iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir (393). Bu sebeplerle çalışmamızda da kanal içi ilaç olarak  $\text{Ca(OH)}_2$  kullanılmıştır.

PA; meyvelerde, sebzelerde, kabuklu yemişlerde, çekirdeklerde, çiçeklerde ve ağaç kabuğunda doğal olarak bulunan flavonoid formları ve yoğunlaştırılmış polifenoller içermektedirler (241, 242). Özellikle kırmızı orman meyveleri olmak üzere meyveler, proantosiyanidinlerin en iyi kaynaklarıdır. Dünyada en çok üretilen ve tüketilen meyvelerden biri olan üzüm (*Vitis Vinifera*), proantosiyanidinlerin önemli kaynaklarından biridir. Üzüm çekirdeği ekstresi (GSE), %95 konsantrasyona kadar PA

içerebilmesi nedeniyle PA kaynağı olarak tercih edilmektedir (40). Çalışmalarda farklı konsantrasyonlarda GSE kullanılmıştır. Fakat ağırlıklı olarak %6,5 GSE (*Vitis vinifera*, Mega-Natural gold grape seed extract, Polyphenolics Madera, ABD) değerleri tercih edilmiştir (41, 47, 394). Çalışmamızda GSE kaynağı olarak kullandığımız İmmu-nat markanın fenolik içeriğinin, diğer çalışmalarda kullanılan markanın %6,5 GSE'deki toplam fenolik içeriği ile yaklaşık olarak eşit olabilmesi için konsantrasyonu %25 olarak belirlenmiştir.

PA'ler, *E. faecalis* de dahil olmak üzere çok çeşitli Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkinlik göstermektedir (41, 248, 249). GSE'nin antimikrobiyal aktivitesi, özellikle hücre duvarını ve bakteriyel plazma membranını bozabilen fenolik bileşiklerin varlığı ile açıklanmıştır (250). Cecchin ve ark. (41) yaptığı bir çalışmada; %2.5 NaOCl, %2 CHX, Qmix ve %6,5 GSE solüsyonlarının *E. faecalis* üzerindeki etkinliğini değerlendirmiştir. GSE ve CHX gruplarının benzer şekilde, NaOCl ve Qmix'ten daha yüksek antibakteriyel etkinlik gösterdiğini bulmuşlardır. Başka bir çalışmada; *E. faecalis* biyofilmlerine karşı %6,5 GSE'nin antimikrobiyal aktivite gösterdiği fakat en yüksek etkiyi %5,25 NaOCl'in gösterdiği belirtilmiştir. Bununla birlikte GSE, CHX'den daha etkili sonuç vermiştir (42). D'aviz ve ark. (394) ise; %6,5 GSE jelinin ve solüsyonunun, %2 CHX jelinin ve %5,25 NaOCl'nin *E. faecalis* biyofilmine etkisini kıyaslayarak değerlendirmiştir. GSE'nin jel ve solüsyon formları karşılaştırıldığında, jel bazlı GSE, daha iyi sonuç vermiştir. Bununla birlikte, hem GSE jeli hem de solüsyonu, NaOCl'den daha düşük antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Ayrıca, GSE jel formu ile CHX istatistiksel olarak benzer sonuçlar vermiştir.

Bundan yola çıkarak, antimikrobiyal etkinliği yukarıda anlatıldığı şekilde birçok çalışmada gösterilen PA'nın dentin yapısında nasıl bir değişiklik yarattığını değerlendirmek amacıyla bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

Mikrosertlik testleri, kök kanal dentininin mineral içeriğini ve dişin mekanik dayanıklılığını belirlemek için kullanılmaktadır (347, 352). Mikrosertlik testi, diş sert dokularının demineralizasyonunu ve remineralizasyonunu değerlendirmek için kullanılan yaygın bir yöntemdir (337). Dentinin mikrosertliğini ölçmek için Knoop indenter (354, 355) ve Vickers indenter mikrosertlik testi yöntemleri (345, 346)

kullanılmıştır. Birçok çalışma ile kimyasal ajanlarla tedavi edilen diş sert dokularının yüzey değişikliklerini değerlendirmek için Vickers mikrosertlik testinin uygunluğu ve kullanım pratikliği gösterilmiştir (240, 342, 357). Bu nedenle irrigasyon solüsyonlarının dentin mikrosertliğine etkisini değerlendirdiğimiz çalışmamızda örneklere 20 saniye 300 gramlık yük uygulanarak (357, 395) Vickers mikrosertlik testi kullanılmıştır.

Endodontik irrigasyon için kullanılan bazı kimyasalların dentinin kimyasal bileşiminde değişikliklere neden olabileceği bildirilmiştir (396). Ca/P oranındaki herhangi bir değişiklik, organik ve inorganik bileşenlerin oranını değiştirebilmekte ve bu da dentinin mikrosertliğini, geçirgenliğini ve çözünürlük özelliklerini değiştirebilmektedir (339). RET'ler için de kullanılan irrigantlar; ince kanal duvarları, açık apeksleri ve kısa kök boyları olan immatür dişlerin mekanik özelliklerini daha da zayıflatmaktadırlar. Yapılan çalışmalarda en sık kullanılan irrigasyon ajanı olan NaOCl'nin, konsantrasyonuna da bağlı olarak, kök dentininin mikrosertliğini önemli ölçüde azaltabileceği gösterilmiştir (239, 397-400). Bu çalışmada da önceki çalışmaları destekler şekilde, %1,5 NaOCl konsantrasyonun dentin mikrosertliğini kontrol ve diğer deney gruplarına göre anlamlı bir şekilde azalttığı görülmüştür. NaOCl'nin irrigant olarak tek başına kullanılmasının, dentinin daha fazla çözünmesini önleyen inorganik materyali açığa çıkarabileceği veya organik bileşenleri çözerek mineralize dokudan oluşan bir smear tabakası bırakabileceği öne sürülmüştür (401). Bu şekilde NaOCl irrigasyonunun; kök dentin yüzeyinin Ca/P oranının artışına neden olduğu (396), karbonat miktarını arttırdığı ve fosfat miktarını azalttığı bildirilmiştir (402). Bu sebeplerle bu çalışmadaki dentin mikrosertliğinin azalması; NaOCl'nin uzun peptit zincirlerini parçalaması ve protein terminal gruplarını klorlaması ile dentinin organik/kollajen kısımlarını çözmesi ile açıklanabilir (403, 404).

Bununla birlikte bazı çalışmalarda da, NaOCl uygulamasının kontrol grubuyla aralarında anlamlı bir fark olmadığı ve mikrosertliği değiştirmede de bulunmuştur (395, 405, 406). Ulusoy ve ark. (405)'nin çalışmasında, aynı testi farklı süre (15 sn) ve yükle (200 gr) uygulamaları sonucu %5 NaOCl ile kontrol grubu arasında anlamlı fark oluşmadığı düşünülebilir. Dentin tübüllerinin sayısı ve çapı, dentine doğrudan uygulanan irrigasyon ajanların penetrasyonu ve sonraki etkileri için önemlidir (238). Pashley ve ark. (407) dentin sertliği ile dentin tübül yoğunluğu arasında ters bir ilişki

olduğunu göstermiştir. Kök kanal lümeninin yakınında tübül yoğunluğunun daha fazla olması sebebiyle o bölgede test indertlerine karşı daha düşük direnç gözlenmektedir (408). Bu yüzden çalışmamızda pulpa-dentin ara yüzeyine 100 µm mesafeden ölçümler yapılarak irrigasyon solüsyonlarının dentin mikrosertliği üzerindeki etkinliği değerlendirilmiştir. Bosaid ve ark. (395)'nin yaptığı çalışmada aynı yöntem ve aynı konsantrasyonda NaOCl kullanılmasına rağmen bu çalışma ile farklı sonuçlar elde edilmesi; pulpa-dentin arayüzüne olan mesafenin (300 µm) farklı olması ile ilişkilendirilebilir. Aynı şekilde Gishi ve ark. (406) yaptıkları çalışmada, aynı test ile daha yüksek konsantrasyonlarda ( %2 ve %5) NaOCl kullanmalarına rağmen kontrol grubu ile anlamlı fark görülmemesinin sebebi; pulpa-dentin arayüzüne olan mesafenin 500 µm ve 1000 µm olarak seçilmesi olabilir.

Ari ve ark. (397) ile Patil ve ark. (239); yaptıkları çalışmalarda %0.2 CHX hariç tüm irrigasyon solüsyonlarının (NaOCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> , %17 EDTA, 15 dk) kök dentininin mikrosertliğini önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca %0,2 konsantrasyonda 15 dakika süreyle CHX uygulamasının, dentinin Ca<sup>+2</sup> ve P<sup>-3</sup> seviyelerini düşürdüğü de gösterilmiştir (39). Ancak %0,2 konsantrasyonda CHX, kök kanal irrigasyon ajanı olarak tercih edilmemektedir. Bununla beraber çalışmamızla benzer şekilde, %2 CHX konsantrasyonu ile yapılan çalışmalarda da NaOCl grubunun mikrosertliği anlamlı olarak daha fazla düşürdüğü ve CHX'in kontrol grubuna benzer sonuçlar verdiği görülmüştür (400, 409). Fakat Oliveria ve ark. (38); %2 CHX'in dentin mikrosertliği üzerindeki etkisinin 500 µm ve 1000 µm'de kök kanal dentininin mikrosertliğini önemli ölçüde azalttığını ve % 1 NaOCl ile aralarında anlamlı bir fark olmadığını bulmuşlardır.

PA'lar, kollajen çapraz bağlarını uyarmakta ve böylece dentin matrisinin sertliğini artırmaktadır (410). PA'lar, kollajen proteinlerinin (Prolin) amin karbonil grupları ve PA'ların fenolik hidroksil grupları arasında hidrojen köprülerinin oluşumu yoluyla etki etmektedir (257). Bu etki mekanizması sayesinde, PA'lar dentinin organik matrisinin kimyasal ve mekanik özelliklerinin iyileştirilmesini ve bozunma süreçlerine karşı direncin artmasını sağlayabilirler (258). Ek olarak, PA'lar, dentin organik matrisinin bozulmasına aracılık eden MMP'ler ve sisteinlere/katepsinlere karşı inhibitör etki gösterir (411). Literatürde PA bakımından zengin GSE'nin dentin mikrosertliğine etkisinin incelendiği sadece bir çalışma mevcuttur. Durigon ve

ark.(412); DW, %10 GSE, %6 NaOCl, %6 Ca(ClO)<sub>2</sub> solüsyonlarının ve %2 CHX jelin etkileri karşılaştırıldığında dentin mikrosertliğinde en yüksek azalmayı NaOCl grupları gösterirken; DW, GSE ve CHX grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür. Farklı irrigasyon protokollerinden sonra zayıf kök kanallarında GSE kullanımının (NaOCl/ Ca(ClO)<sub>2</sub> /CHX+EDTA+GSE) dentinin mekanik özelliklerini artırabileceğine yönelik hipotezlerinin tersine GSE'nin dentinin mekanik özelliklerini artırmaya da kontrol grubu ile benzer değerler göstermesiyle mikrosertliği değiştirmede bulunmuştur. Bu durum, GSE'nin EDTA etkisi ile zayıf demineralize bir yapıya uygulanmasının, GSE'nin fenolik hidroksilleri ile kollajenin prolin açısından zengin proteinleri arasında hidrojen köprüleri oluşturmaya izin vermemesi ile açıklanabilir. Bu çalışmada da kontrol, GSE ve CHX grupları, dentin mikrosertlik değerlerinde benzer bir azalma göstermiştir ve aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Rejeneratif tedavilerde bariyer materyalleri ile dentin arasındaki bağlanma ile tam bir koronal sızdırmazlığın sağlanması tedavinin başarısında önemli bir rol oynamaktadır (360). Bariyer materyallerinin, restoratif malzemelerin sıkıştırılması ve mekanik oklüzal kuvvetler gibi yer değiştirme kuvvetlerine direncinin yetersiz olması (413); iskele oluşumu üzerinde olumsuz bir etki meydana getirebilmektedir (382). Bu nedenlerle bariyer materyalleri ve dentin arasındaki bağlanmayı etkileyebilecek faktörlerin değerlendirilmesi tedavi başarısı ve prognozu için oldukça önemlidir.

Çalışmamızın ikinci bölümünde NaOCl, CHX ve PA'nın rejeneratif endodontik tedavilerde bariyer materyali olarak kullanılan Biodentin'in bağlanma dayanımına etkisi araştırılmıştır. Push-out testi kullanılarak değerlendirilmeler yapılmıştır. Push-out testinin diğer yöntemlere göre asıl avantajı, materyallerin dentin ile çevrili olan kanal içinde test edilmesini sağlamasıdır, böylece materyalin klinik kullanımı hakkında fikir vermektedir (366). Bununla birlikte bu test, çalışmadan çalışmaya farklılık gösteren ve bağlanma testinin ölçümünü etkileyebilecek çok sayıda değişken içermektedir. Bu da sonuçların yorumlanmasını ve farklı çalışmalarda ölçümlerin anlamlı bir şekilde karşılaştırılmasını güçleştirmektedir (414). Bu değişkenler, diş preparasyon yöntemi, zamanlama, kesitlerin kalınlığı ve çapı, materyalin kendi özellikleri (sertlik, çap ve koniklik) ve testte kullanılan metal ucun çapı ile hızı olarak belirtilmiştir (364).

Bu çalışmada kök kanalları, NiTi enstrümanların ardından Peeso reamer (#1-6) kullanılarak standart bir kanal içi çap elde edilmiştir. Ancak Gates-Glidden frezlerin kullanıldığı başka çalışmalar da mevcuttur (364). Ayrıca bazı çalışmalarda materyallerin dişlere yerleştirilmesinden sonra dişlerden kesitler alınarak ölçümler yapılmıştır (380, 382). Nagaş ve ark. (361) ise dişlerden kesit aldıktan sonra materyalleri kesitlere yerleştirmişlerdir. Bu şekilde materyallerde sertleşme sonrası oluşabilecek çatlakların ve kırıkların önlenmesi amaçlanmıştır. Bu sebeplerle çalışmamızda da Biodentin, kesitler alındıktan sonra uygulanmıştır.

Push-out testi için kullanılan dentin kesitlerinin kalınlığı değişkenlik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, sıklıkla 1-2 mm aralığında değişen kalınlıkta kesitler tercih edilmiştir (361, 415, 416). Chen ve ark. (417), kesit kalınlığının materyalin/kanalın çapına oranının 0,6'dan büyük olduğu durumlarda, yüzeyler arası stres dağılımının dengeli olabileceğini belirtmiştir. Yapılan bu çalışmada, oranın yaklaşık 1,18 olması uygun bir kesit kalınlığı olarak kabul edilerek 2 mm kalınlığında kesitler kullanılmıştır.

Push-out testinde kullanılan metal ucun çapı, bağlanma dayanımı formülünde yer almamasına rağmen stres dağılımını etkileyen önemli bir faktördür. Nagaş ve ark. (418) bir çalışmalarında; kullandıkları metal ucun çapının artması sonucu daha yüksek bağlanma dayanımı değerleri bulmuşlardır. Chen ve ark. (417) ise metal ucun çap değerinin yerleştirilen dolgu materyalinin çapı ile benzer olduğu durumlarda stresin dentin ile dolgu arayüzü yakınlarında yoğunlaştığını göstermişlerdir. Bu nedenle de metal ucun çapının dolgu materyalinin çapından daha küçük olması gerektiğini belirtmişlerdir. Ayrıca metal uç çapı ile dolgu materyalinin çap oranının 0,85'ten küçük olması gerektiği uygun bulunmuştur. Bu kapsamda çalışmamızda 1,2 mm çapında metal uç kullanılarak oran yaklaşık 0,70 olarak belirlenmiştir.

Literatürde irrigasyon solüsyonlarının kalsiyum silikat esaslı materyallerin bağlanma dayanımı üzerindeki etkilerini değerlendiren çok sayıda çalışma ve farklı sonuçlar mevcuttur. Yan ve ark. (419) ile Sahebi ve ark. (420) yaptıkları çalışmalarda; %5,25 NaOCl ve %2 CHX ile temas halindeki MTA'nın dentine bağlanma dayanımında önemli bir azalma oluşmadığını ve kontrol grubu ile anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Sadegh ve ark. (421) yaptığı çalışmada ise; %2,5 NaOCl

ve %2 CHX irrigasyonlarından sonra MTA'nın bağlanma dayanımı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük değerler gösterdiği ve aralarında anlamlı bir fark olmadığını göstermişlerdir. Hong ve ark.(422), MTA uygulanmış %3,5 NaOCl gruplarının, %2 CHX gruplarından önemli ölçüde daha yüksek bağlanma dayanımı gösterdiğini bildirmiştir. Diğer bazı çalışmalar da NaOCl'nin MTA'nın bağlanma dayanımı üzerinde olumlu bir etkisi olabileceğini göstermişlerdir (423, 424). CHX'in, MTA'nın dayanımını değiştirmedığını gösteren çalışmaların (419, 420, 425) yanı sıra azalttığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (422, 426, 427). Nandini ve ark. (428), %2 CHX'in MTA'nın yüzey sertliğini azalttığını ve MTA'nın yerleştirilmesinden önce irrigasyon maddesi olarak kullanılan CHX'in iyice durulanması ve MTA'nın yerleştirilmesinden sonraki 24 saat içinde CHX irrigasyonundan kaçınılması gerektiği öne sürmüştür. Bu farklı sonuçlar; örnek sayısı, solüsyonların uygulanma süresi, solüsyonların konsantrasyonu, materyallerin yerleştirilmesi sonrası beklenen süre (429), dentin kesit kalınlığı, test cihazının metal ucunun çapı ve metal ucun kuvvet yönü gibi faktörlerle açıklanabilmektedir (430).

Reboloso de Barrio ve ark. (429) ile Nagaş ve ark. (431) yaptıkları çalışmalarda; Biodentin'in MTA'dan daha yüksek bağlanma dayanımı gösterdiğini ve %5,25 NaOCl uygulamasının iki grubu da etkilemediğini göstermişlerdir. Güneşer ve ark. (427) yaptıkları bir çalışmada, 10 dakikalık sertleşmeden sonra MTA'nın ve Biodentin'in; 30'ar dakika %3,5 NaOCl ve %2 CHX uygulanmasının ardından bağlanma dayanımını değerlendirmişlerdir. Biodentin'in, MTA'dan daha yüksek bağlanma dayanımı gösterdiği ve solüsyonlardan etkilenmediği bulunurken; MTA'nın, sadece CHX'e maruz kalınca bağlanma dayanımının anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. Aynı şekilde Elnaghy ve ark. (313) da; Biodentin'in MTA'dan daha yüksek bağlanma dayanımı gösterdiğini, %5,25 NaOCl ve %2 CHX'ten etkilenmediğini ve MTA'nın, CHX'ten etkilenerek bağlanma dayanımının azaldığını göstermişlerdir. Bu çalışmalarda da olduğu gibi Biodentin, MTA'ya kıyasla daha yüksek bağlanma dayanımı ve mikrosertlik, eğilme dayanımı, sızdırmazlık, basınç dayanımı göstermektedir. MTA'nın zor manipülasyonu, uzun sertleşme süresi, renklenme gibi dezavantajları sebebiyle de Biodentin kullanımı tavsiye edilmektedir (23). Bu sebeplerle çalışmamızda da kalsiyum silikat esaslı bariyer materyali olarak Biodentin kullanılmıştır.

Çalışmamızda tüm deney grupları (%1,5 NaOCl, %2 CHX ve PA (%25 GSE)), kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bağlanma dayanımı açısından anlamlı olarak daha düşük değerler göstermiştir. CHX'in hem NaOCl hem de PA grupları ile arasında bağlanma dayanımı değerleri açısından anlamlı bir fark yoktur. Sonuçlarımızın önceki çalışmalarla arasındaki farklılık; öncelikle kullanılan materyallerin solüsyonların uygulanma protokolü ile açıklanabilir. Çalışmamızda solüsyonlar, RET'lerde koronal bariyer sağlamak için materyaller yerleştirilmeden kanal lümenine uygulanırken; yukarıdaki çalışmalarda bir perforasyon tamiri sonrası irrigasyonun etkisini incelemek amacıyla materyallerin yerleştirilmesi sonrası uygulanmıştır. Bunun dışında deney gruplarında EDTA uygulaması, sonuçların farklı olmasının sebebi olabilir. EDTA kullanımı ile smear tabakasının inorganik kısmının uzaklaştırılması sonucu kalsiyum silikat esaslı materyallerin dentine bağlanmasının arttığını gösteren çalışmalar (432) mevcutken bu bağlantının zayıfladığını gösteren çalışmalar(433) da bildirilmiştir.

Çalışmamıza benzer protokollerin uygulandığı ama aslında smear tabakasının NaOCl ve şelatlayıcı ajanlarla uzaklaştırılması sonrası kalsiyum silikat esaslı materyallerin bağlanma dayanımını değerlendiren çalışmalar mevcuttur. Lotfi ve ark. (434), %5,25 NaOCl+%17 EDTA uygulamasının kontrol gurubuna benzer şekilde MTA'nın bağlanma dayanımını değiştirmedığını bildirmiştir. Ancak bazı çalışmalarda ise, NaOCl sonrası %17 EDTA irrigasyonunun, kontrol gurubuna kıyasla MTA'nın bağlanma dayanımını artırdığı gösterilmiştir (432, 435). Ayrıca El-Ma'aita ve ark.(433), %1 NaOCl+ %17 EDTA kullanımı sonrası MTA ve Biodentin'in bağlanma dayanımının önemli şekilde azaldığını göstermiştir. Bu farklı sonuçlar; örnek sayısı, solüsyonların uygulanma süresi, solüsyonların konsantrasyonu, kullanılan bariyer materyallerin farklı olması, bariyer materyallerin yerleştirilmesi sonrası beklenen süre (429), dentin kesit kalınlığı, test cihazının metal ucunun çapı ve metal ucun kuvvet yönü gibi faktörlerle açıklanabilmektedir (430).

Çalışmamızda PA grubunda bağlanma dayanımı, NaOCl grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. Ancak literatürde karşılaştırma yapabileceğimiz aynı amaçla ve benzer protokollerin uygulandığı başka bir çalışma mevcut değildir. Bununla birlikte, PA'nın fiber postların ve kök kanal dolgu patlarının dentine bağlanma dayanımına etkisini olumlu etkileyebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (436, 437). Literatürde düşük pH'ın, kalsiyum silikat esaslı materyallerin

sertleşme reaksiyonunu engelleyebildiği, dentine bağlanmasını etkileyebildiği veya çözünürlüğünü artırarak yüzey mikrosertliği de dahil olmak üzere materyalin mekanik özelliklerini etkileyebildiği bildirilmiştir (313). PA/GSE'nin de asidik yapıda olması (438) sebebiyle Biodentin'in fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkileyerek bağlanma dayanımını engelleyebileceği düşünülmüştür.

Genel olarak, materyallerin dentine yüksek bağlanma göstermemesi durumunda adeziv tip ayrılmalar görülürken, dentinle bağlantı güçlü olduğunda materyalde koheziv tip ayrılmalar meydana gelmektedir (439). Bu yüzden çalışmamızda da ayrılma tipleri, stereomikroskop kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm gruplarda en fazla ayrılma tipi karışık tip ayrılma tipidir. Adeziv tip ayrılma en fazla PA grubunda gözlenmiştir. Koheziv tip ayrılma ise en fazla DW grubunda bulunmuştur. Literatürdeki çalışmalarda Biodentin'in ayrılma tiplerinin analizinde değişkenlik gözlenmektedir. Elnaghy ve ark.(426)'nın yaptıkları çalışmada, %5,25 NaOCl ve %2 CHX grupları arasında fark olmaksızın en fazla koheziv tip ayrılma görülmüştür. Güneşer ve ark.(427)'nin yaptığı çalışmada %3 NaOCl ve %2 CHX uygulanan MTA grubunda en fazla adeziv tip ayrılma görülürken, Biodentin grubunda en fazla koheziv tip ayrılma görülmüştür. Ballal ve ark.(440) ise %2,5 NaOCl + %17 EDTA kullanımı sonrası hem MTA ve hem Biodentin gruplarında en fazla karışık tip ayrılma gözlendiğini belirtmişlerdir. Sonuçlardaki değişkenliğin, yöntemler ve kullanılan materyaller kaynaklı oluşabileceği düşünülmüştür.

RET'lerde immatür dişlerin zayıf kök yapıları sebebiyle mikrobiyal biyofilmin ve yan ürünlerinin elimine edilebilmesi için minimum şekillendirme ya da tamamen kimyasal dezenfeksiyon yapılması desteklenmektedir. Bu açıdan, kanal içi ilaçları ve irrigasyon ajanlarının etkinliği büyük önem taşımaktadır. Ancak bu ajanların, immatür dişlerin zayıf köklerinin daha da zayıflatarak kırıklara sebep olabileceği bildirilmiştir. Önceki çalışmalar ve çalışmamızdaki sonuçlar doğrultusunda PA'nın dentin mekanik özelliklerini etkilemediği hatta bazı çalışmalarda olumlu etkiler gösterip dentini desteklediği görülmüştür. Bu kapsamda PA'nın RET'ler için bir alternatif irrigasyon çözümü olarak kullanımı önerilebilir.

RET'lerde sırasında ve sonrasında dezenfeksiyon seviyesini yüksek tutulması, tedavinin sonucunu ve prognozunu etkileyen önemli bir faktör olarak kabul

edilmektedir. PA'nın yüksek antibakteriyel etkinliği, pulpa üzerinde düşük sitotoksik etkisi, biyouyumluluğu ve dentin mekanik özelliklerini destekleyici etki göstermesi sebebiyle rejeneratif işlemler için PA alternatif bir irrigasyon ajanı olarak düşünülebilir. RET'lerde; tedavi başarısını etkileyen önemli faktörlerden birisi de bariyer materyallerinin dentin ile sızdırmaz bir şekilde bağlanarak, kuvvetler karşısında yer değiştirmeye direnç göstermesidir. Bu sebeple PA'nın, RET'lerde kullanılması planlanıyorsa Biodentin'in bağlanma dayanımını azaltma yönündeki etkisi göz önünde bulundurulmalıdır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. DW, PA ve CHX grupları, dentin mikrosertlik değerlerinde benzer bir azalma göstermiştir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. NaOCl grubundaki dentin mikrosertlik değerleri, tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır.
2. PA grubunda Biodentin'in bağlanma dayanımı, NaOCl grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. CHX'in hem NaOCl hem de PA grupları ile arasında Biodentin'in bağlanma dayanımı değerleri açısından anlamlı bir fark yoktur.
3. PA'nın antibakteriyel etkinliği *E. faecalis* ve biyofilmleri üzerinde birçok çalışma ile gösterilmiştir. Ancak farklı bakteri türlerini içeren biyofilmler üzerinde PA'nın etkinliğine dair literatürde yeterince çalışma mevcut değildir ve bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.
4. PA; antibakteriyel etkinliği, dentin mekanik özelliklerini destekleyici etkisi ve pulpa hücreleri üzerinde sitotoksik etkilerinin düşük olması gibi avantajlar sağlamaktadır. Ancak PA'nın RET'lerde kullanılması planlanıyorsa Biodentin'in bağlanma dayanımını azaltma yönündeki etkisi göz önünde bulundurulmalıdır. Sonraki çalışmalarda kalsiyum silikat esaslı başka bir materyal olan MTA ile karşılaştırmalı bir çalışmaya ihtiyaç vardır.
5. PA'nın farklı konsantrasyonlarda ve RET protokolü uygulanarak; dentin mekanik özellikleri üzerinde ve dentin tübüllerinde yarattığı etkiyi ayrıca kalsiyum silikat esaslı materyallerle etkileşimini daha iyi değerlendirebilmek için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Siqueira JF, Jr., Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *Journal of endodontics*. 2008;34(11):1291-301.e3.
2. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am*. 1974;18(2):269-96.
3. Tomson PL, Simon SR. Contemporary Cleaning and Shaping of the Root Canal System. *Prim Dent J*. 2016;5(2):46-53.
4. Gutarts R, Nusstein J, Reader A, Beck M. In vivo debridement efficacy of ultrasonic irrigation following hand-rotary instrumentation in human mandibular molars. *Journal of endodontics*. 2005;31(3):166-70.
5. Gu LS, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *Journal of endodontics*. 2009;35(6):791-804.
6. Smith JW. Apexification: management of the immature pulpless tooth. *Journal of the Colorado Dental Association*. 1982;60(6):3-5.
7. Kim SG, Malek M, Sigurdsson A, Lin LM, Kahler B. Regenerative endodontics: a comprehensive review. *Int Endod J*. 2018;51(12):1367-88.
8. Bose R, Nummikoski P, Hargreaves K. A retrospective evaluation of radiographic outcomes in immature teeth with necrotic root canal systems treated with regenerative endodontic procedures. *Journal of endodontics*. 2009;35(10):1343-9.
9. Jeeruphan T, Jantararat J, Yanpiset K, Suwannapan L, Khewsawai P, Hargreaves KM. Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study. *Journal of endodontics*. 2012;38(10):1330-6.
10. Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. *Journal of endodontics*. 2013;39(3 Suppl):S30-43.
11. Silujjai J, Linsuwanont P. Treatment Outcomes of Apexification or Revascularization in Nonvital Immature Permanent Teeth: A Retrospective Study. *Journal of endodontics*. 2017;43(2):238-45.
12. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dent Traumatol*. 2002;18(3):134-7.
13. Andreasen JO, Munksgaard EC, Bakland LK. Comparison of fracture resistance in root canals of immature sheep teeth after filling with calcium hydroxide or MTA. *Dent Traumatol*. 2006;22(3):154-6.
14. Torabinejad M, Nosrat A, Verma P, Udochukwu O. Regenerative Endodontic Treatment or Mineral Trioxide Aggregate Apical Plug in Teeth with Necrotic

- Pulps and Open Apices: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of endodontics*. 2017;43(11):1806-20.
15. Cvek M. Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study. *Endod Dent Traumatol*. 1992;8(2):45-55.
  16. Witherspoon DE, Ham K. One-visit apexification: technique for inducing root-end barrier formation in apical closures. *Pract Proced Aesthet Dent*. 2001;13(6):455-60; quiz 62.
  17. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol*. 2001;17(4):185-7.
  18. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *Journal of endodontics*. 2007;33(4):377-90.
  19. Law AS. Considerations for regeneration procedures. *Journal of endodontics*. 2013;39(3 Suppl):S44-56.
  20. Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontic Topics*. 2013;28(1):2-23.
  21. Staffoli S, Plotino G, Nunez Torrijos BG, Grande NM, Bossù M, Gambarini G, et al. Regenerative Endodontic Procedures Using Contemporary Endodontic Materials. *Materials (Basel)*. 2019;12(6).
  22. Rajasekharan S, Martens LC, Cauwels R, Anthonappa RP. Biodentine™ material characteristics and clinical applications: a 3 year literature review and update. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2018;19(1):1-22.
  23. Kaur M, Singh H, Dhillon JS, Batra M, Saini M. MTA versus Biodentine: Review of Literature with a Comparative Analysis. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*. 2017;11(8):Zg01-zg5.
  24. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *International dental journal*. 2008;58(6):329-41.
  25. Rath PP, Yiu CKY, Matinlinna JP, Kishen A, Neelakantan P. The effect of root canal irrigants on dentin: a focused review. *Restor Dent Endod*. 2020;45(3):e39.
  26. Kontakiotis EG, Filippatos CG, Tzanetakis GN, Agrafioti A. Regenerative endodontic therapy: a data analysis of clinical protocols. *J Endod*. 2015;41(2):146-54.
  27. Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;92(4):446-50.
  28. Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *Journal of endodontics*. 2014;40(1):51-5.

29. Endodontists AAo. AAE clinical considerations for a regenerative procedure. American association of Endodontists Chicago, IL, USA; 2016.
30. Rödiger T, Döllmann S, Konietzschke F, Drebenstedt S, Hülsmann M. Effectiveness of different irrigant agitation techniques on debris and smear layer removal in curved root canals: a scanning electron microscopy study. *Journal of endodontics*. 2010;36(12):1983-7.
31. Galler KM, Buchalla W, Hiller KA, Federlin M, Eidt A, Schiefersteiner M, et al. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *Journal of endodontics*. 2015;41(3):363-8.
32. Galler KM, Widbiller M, Buchalla W, Eidt A, Hiller KA, Hoffer PC, et al. EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells. *Int Endod J*. 2016;49(6):581-90.
33. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *Journal of endodontics*. 2000;26(6):315-7.
34. Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Ferraz CC. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J*. 2013;24(2):89-102.
35. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. *Int Endod J*. 2004;37(1):38-41.
36. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *Journal of endodontics*. 2004;30(11):785-7.
37. Rahimi S, Janani M, Lotfi M, Shahi S, Aghbali A, Vahid Pakdel M, et al. A review of antibacterial agents in endodontic treatment. *Iran Endod J*. 2014;9(3):161-8.
38. Oliveira LD, Carvalho CA, Nunes W, Valera MC, Camargo CH, Jorge AO. Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;104(4):e125-8.
39. Ari H, Erdemir A. Effects of endodontic irrigation solutions on mineral content of root canal dentin using ICP-AES technique. *Journal of endodontics*. 2005;31(3):187-9.
40. Dos Santos AF, Pacheco JM, Silva PAO, Bedran-Russo AK, Rezende TMB, Pereira PNR, et al. Direct and transdental biostimulatory effects of grape seed extract rich in proanthocyanidin on pulp cells. *Int Endod J*. 2019;52(4):424-38.
41. Cecchin D, Farina AP, Souza MA, Albarello LL, Schneider AP, Vidal CM, et al. Evaluation of antimicrobial effectiveness and dentine mechanical properties after use of chemical and natural auxiliary irrigants. *Journal of dentistry*. 2015;43(6):695-702.
42. Fiallos NM, Cecchin D, de Lima CO, Hirata R, Jr., Silva E, Sassone LM. Antimicrobial effectiveness of grape seed extract against *Enterococcus faecalis*

- biofilm: A Confocal Laser Scanning Microscopy analysis. *Aust Endod J.* 2020;46(2):191-6.
43. Soligo LT, Lodi E, Farina AP, Souza MA, Vidal CMP, Cecchin D. Antibacterial Efficacy of Synthetic and Natural-Derived Novel Endodontic Irrigant Solutions. *Braz Dent J.* 2018;29(5):459-64.
  44. Rauf A, Imran M, Abu-Izneid T, Iahtisham Ul H, Patel S, Pan X, et al. Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomed Pharmacother.* 2019;116:108999.
  45. Nassiri-Asl M, Hosseinzadeh H. Review of the Pharmacological Effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its Bioactive Constituents: An Update. *Phytother Res.* 2016;30(9):1392-403.
  46. Liu Y, Chen M, Yao X, Xu C, Zhang Y, Wang Y. Enhancement in dentin collagen's biological stability after proanthocyanidins treatment in clinically relevant time periods. *Dent Mater.* 2013;29(4):485-92.
  47. Cecchin D, Soares Giaretta V, Granella Cadorin B, Albino Souza M, Vidal CMP, Paula Farina A. Effect of synthetic and natural-derived novel endodontic irrigant solutions on mechanical properties of human dentin. *J Mater Sci Mater Med.* 2017;28(9):141.
  48. Yang SY, Liu Y, Mao J, Wu YB, Deng YL, Qi SC, et al. The antibiofilm and collagen-stabilizing effects of proanthocyanidin as an auxiliary endodontic irrigant. *Int Endod J.* 2020;53(6):824-33.
  49. Kumar GS. Orban's oral histology and embriology. In: Bhaskar SN, editor. India: Elsevier; 2009.
  50. Torneck CD TM. Biology of the dental pulp and periradicular tissues. In: Walton RE TM, editor. *Principles and Practice of Endodontics.* Philadelphia1996. p. 6-28.
  51. Castellucci A. WJD. *Endodontics Vol. 1.* Firenze: Il Tridente 2004.
  52. Ingle J. I. RI. *Management of Teeth with Immature Apices.* Ingle's Endodontics 7. Raleigh: North Carolina: PMPHUSA; 2019. p. 911-35.
  53. Goldman M. Root-end closure techniques including apexification. *Dent Clin North Am.* 1974;18(2):297-308.
  54. Shah A, Peacock R, Eliyas S. Pulp therapy and root canal treatment techniques in immature permanent teeth: an update. *Br Dent J.* 2022;232(8):524-30.
  55. Satish. C. *Textbook of Dental and Oral Histology with Embryology and Multiple Choice Questions.* 2nd ed ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical.; 2010.
  56. Diogenes A, Ruparel NB. Regenerative Endodontic Procedures: Clinical Outcomes. *Dent Clin North Am.* 2017;61(1):111-25.
  57. Yang J, Zhao Y, Qin M, Ge L. Pulp revascularization of immature dens invaginatus with periapical periodontitis. *Journal of endodontics.* 2013;39(2):288-92.

58. Chen YP, Jovani-Sancho Mdel M, Sheth CC. Is revascularization of immature permanent teeth an effective and reproducible technique? *Dent Traumatol.* 2015;31(6):429-36.
59. Petti S, Glendor U, Andersson L. World traumatic dental injury prevalence and incidence, a meta-analysis-One billion living people have had traumatic dental injuries. *Dent Traumatol.* 2018;34(2):71-86.
60. Flanagan TA. What can cause the pulps of immature, permanent teeth with open apices to become necrotic and what treatment options are available for these teeth. *Aust Endod J.* 2014;40(3):95-100.
61. Fouad AF. Microbiological Aspects of Traumatic Injuries. *Journal of endodontics.* 2019;45(12s):S39-s48.
62. Abbott PV, Yu C. A clinical classification of the status of the pulp and the root canal system. *Aust Dent J.* 2007;52(1 Suppl):S17-31.
63. Levitan ME, Himel VT. Dens evaginatus: literature review, pathophysiology, and comprehensive treatment regimen. *Journal of endodontics.* 2006;32(1):1-9.
64. Van Pham K, Tran TA. Effectiveness of MTA apical plug in dens evaginatus with open apices. *BMC Oral Health.* 2021;21(1):566.
65. Gallacher A, Ali R, Bhakta S. Dens invaginatus: diagnosis and management strategies. *Br Dent J.* 2016;221(7):383-7.
66. Wigler R, Kaufman AY, Lin S, Steinbock N, Hazan-Molina H, Torneck CD. Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. *Journal of endodontics.* 2013;39(3):319-26.
67. Nosrat A, Seifi A, Asgary S. Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. *Journal of endodontics.* 2011;37(4):562-7.
68. Jung IY, Lee SJ, Hargreaves KM. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *Journal of endodontics.* 2008;34(7):876-87.
69. Rafter M. Apexification: a review. *Dent Traumatol.* 2005;21(1):1-8.
70. Endodontists AAo. Glossary of endodontic terms: American Association of Endodontists; 2003.
71. Vu TT, Nguyen MT, Sangvanich P, Nguyen QN, Thunyakitpisal P. Acemannan Used as an Implantable Biomaterial for Vital Pulp Therapy of Immature Permanent Teeth Induced Continued Root Formation. *Pharmaceutics.* 2020;12(7).
72. Moreno-Hidalgo MC, Caleza-Jimenez C, Mendoza-Mendoza A, Iglesias-Linares A. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 2014;47(4):321-31.
73. Holland R, de Mello W, Nery MJ, Bernabe PF, de Souza V. Reaction of human periapical tissue to pulp extirpation and immediate root canal filling with calcium hydroxide. *Journal of endodontics.* 1977;3(2):63-7.

74. Schröder U, Granath LE. Early reaction of intact human teeth to calcium hydroxide following experimental pulpotomy and its significance to the development of hard tissue barrier. *Odontol Revy*. 1971;22(4):379-95.
75. Javelet J, Torabinejad M, Bakland LK. Comparison of two pH levels for the induction of apical barriers in immature teeth of monkeys. *Journal of endodontics*. 1985;11(9):375-8.
76. Abbott PV. Apexification with calcium hydroxide--when should the dressing be changed? The case for regular dressing changes. *Aust Endod J*. 1998;24(1):27-32.
77. Zarei M, Afkhami F, Malek Poor Z. Fracture resistance of human root dentin exposed to calcium hydroxide intervisit medication at various time periods: an in vitro study. *Dent Traumatol*. 2013;29(2):156-60.
78. Valera MC, Albuquerque MT, Yamasaki MC, Vassallo FN, da Silva DA, Nagata JY. Fracture resistance of weakened bovine teeth after long-term use of calcium hydroxide. *Dent Traumatol*. 2015;31(5):385-9.
79. Yassen GH, Platt JA. The effect of nonsetting calcium hydroxide on root fracture and mechanical properties of radicular dentine: a systematic review. *Int Endod J*. 2013;46(2):112-8.
80. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *Journal of endodontics*. 1995;21(7):349-53.
81. Magura ME, Kafrawy AH, Brown CE, Jr., Newton CW. Human saliva coronal microleakage in obturated root canals: an in vitro study. *Journal of endodontics*. 1991;17(7):324-31.
82. Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol*. 1994;10(3):105-8.
83. Morse DR, O'Larnic J, Yesilsoy C. Apexification: review of the literature. *Quintessence Int*. 1990;21(7):589-98.
84. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics*. 1999;25(3):197-205.
85. Hachmeister DR, Schindler WG, Walker WA, 3rd, Thomas DD. The sealing ability and retention characteristics of mineral trioxide aggregate in a model of apexification. *Journal of endodontics*. 2002;28(5):386-90.
86. Thomson A, Kahler B. Regenerative endodontics--biologically-based treatment for immature permanent teeth: a case report and review of the literature. *Aust Dent J*. 2010;55(4):446-52.
87. Cehreli ZC, Sara S, Uysal S, Turgut MD. MTA apical plugs in the treatment of traumatized immature teeth with large periapical lesions. *Dent Traumatol*. 2011;27(1):59-62.
88. Tselnik M, Baumgartner JC, Marshall JG. Bacterial leakage with mineral trioxide aggregate or a resin-modified glass ionomer used as a coronal barrier. *Journal of endodontics*. 2004;30(11):782-4.

89. Nosrat A, Homayounfar N, Oloomi K. Drawbacks and unfavorable outcomes of regenerative endodontic treatments of necrotic immature teeth: a literature review and report of a case. *Journal of endodontics*. 2012;38(10):1428-34.
90. Chen X, Bao ZF, Liu Y, Liu M, Jin XQ, Xu XB. Regenerative endodontic treatment of an immature permanent tooth at an early stage of root development: a case report. *Journal of endodontics*. 2013;39(5):719-22.
91. Huang GT, Lin LM. Letter to the editor: comments on the use of the term "revascularization" to describe root regeneration. *Journal of endodontics*. 2008;34(5):511; author reply -2.
92. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of endodontics*. 2005;31(10):711-8.
93. Galler KM, Krastl G, Simon S, Van Gorp G, Meschi N, Vahedi B, et al. European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. *Int Endod J*. 2016;49(8):717-23.
94. Garcia-Godoy F, Murray PE. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dent Traumatol*. 2012;28(1):33-41.
95. Jung C, Kim S, Sun T, Cho YB, Song M. Pulp-dentin regeneration: current approaches and challenges. *J Tissue Eng*. 2019;10:2041731418819263.
96. Diogenes AR, Ruparel NB, Teixeira FB, Hargreaves KM. Translational science in disinfection for regenerative endodontics. *Journal of endodontics*. 2014;40(4 Suppl):S52-7.
97. Ostby BN. The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta Odontol Scand*. 1961;19:324-53.
98. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *Journal of endodontics*. 2011;37(2):133-8.
99. Torabinejad M, Turman M. Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: a case report. *Journal of endodontics*. 2011;37(2):265-8.
100. Shivashankar VY, Johns DA, Vidyanath S, Kumar MR. Platelet Rich Fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. *J Conserv Dent*. 2012;15(4):395-8.
101. Nagy MM, Tawfik HE, Hashem AA, Abu-Seida AM. Regenerative potential of immature permanent teeth with necrotic pulps after different regenerative protocols. *Journal of endodontics*. 2014;40(2):192-8.
102. Zanini M, Sautier JM, Berdal A, Simon S. Biodentine induces immortalized murine pulp cell differentiation into odontoblast-like cells and stimulates biomineralization. *Journal of endodontics*. 2012;38(9):1220-6.

103. Zhao X, He W, Song Z, Tong Z, Li S, Ni L. Mineral trioxide aggregate promotes odontoblastic differentiation via mitogen-activated protein kinase pathway in human dental pulp stem cells. *Mol Biol Rep*. 2012;39(1):215-20.
104. Lawley GR, Schindler WG, Walker WA, 3rd, Kolodrubetz D. Evaluation of ultrasonically placed MTA and fracture resistance with intracanal composite resin in a model of apexification. *Journal of endodontics*. 2004;30(3):167-72.
105. EREN SK, ÖRS SA, AKSEL H. Effect of coronal barrier thickness on fracture strength of immature teeth. *Cumhuriyet Dental Journal*. 2018;21(3):256-62.
106. Moorrees CF, Kent RL, Jr. Interrelations in the timing of root formation and tooth emergence. *Proc Finn Dent Soc*. 1981;77(1-3):113-7.
107. Moorrees CF, Gron AM, Le Bret LM, Yen PK, Fröhlich FJ. Growth studies of the dentition: a review. *Am J Orthod*. 1969;55(6):600-16.
108. Kling M, Cvek M, Mejare I. Rate and predictability of pulp revascularization in therapeutically reimplanted permanent incisors. *Endod Dent Traumatol*. 1986;2(3):83-9.
109. Saoud TM, Martin G, Chen YH, Chen KL, Chen CA, Songtrakul K, et al. Treatment of Mature Permanent Teeth with Necrotic Pulp and Apical Periodontitis Using Regenerative Endodontic Procedures: A Case Series. *Journal of endodontics*. 2016;42(1):57-65.
110. Paryani K, Kim SG. Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: a report of 2 cases. *Journal of endodontics*. 2013;39(7):929-34.
111. Laureys WG, Cuvelier CA, Dermout LR, De Pauw GA. The critical apical diameter to obtain regeneration of the pulp tissue after tooth transplantation, replantation, or regenerative endodontic treatment. *Journal of endodontics*. 2013;39(6):759-63.
112. Estefan BS, El Batouty KM, Nagy MM, Diogenes A. Influence of Age and Apical Diameter on the Success of Endodontic Regeneration Procedures. *Journal of endodontics*. 2016;42(11):1620-5.
113. Aggarwal V, Miglani S, Singla M. Conventional apexification and revascularization induced maturogenesis of two non-vital, immature teeth in same patient: 24 months follow up of a case. *J Conserv Dent*. 2012;15(1):68-72.
114. Arslan H, Ahmed HMA, Şahin Y, Doğanay Yıldız E, Gündoğdu EC, Güven Y, et al. Regenerative Endodontic Procedures in Necrotic Mature Teeth with Periapical Radiolucencies: A Preliminary Randomized Clinical Study. *Journal of endodontics*. 2019;45(7):863-72.
115. American Association of Endodontists AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure. [Available from: [https://www.aae.org/uploadedfiles/publications\\_and\\_research/research/currentregenerativeendodonticconsiderations.pdf](https://www.aae.org/uploadedfiles/publications_and_research/research/currentregenerativeendodonticconsiderations.pdf).
116. Tong HJ, Rajan S, Bhujel N, Kang J, Duggal M, Nazzal H. Regenerative Endodontic Therapy in the Management of Nonvital Immature Permanent Teeth:

- A Systematic Review-Outcome Evaluation and Meta-analysis. *Journal of endodontics*. 2017;43(9):1453-64.
117. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *Journal of endodontics*. 2004;30(4):196-200.
  118. Chen MY, Chen KL, Chen CA, Tayebaty F, Rosenberg PA, Lin LM. Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. *Int Endod J*. 2012;45(3):294-305.
  119. Alobaid AS, Cortes LM, Lo J, Nguyen TT, Albert J, Abu-Melha AS, et al. Radiographic and clinical outcomes of the treatment of immature permanent teeth by revascularization or apexification: a pilot retrospective cohort study. *Journal of endodontics*. 2014;40(8):1063-70.
  120. Bottino MC, Thomas V, Schmidt G, Vohra YK, Chu T-MG, Kowolik MJ, et al. Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration—A materials perspective. *Dental materials*. 2012;28(7):703-21.
  121. Rao MS. Stem sense: a proposal for the classification of stem cells. *Stem Cells Dev*. 2004;13(5):452-5.
  122. Rossant J. Stem cells from the Mammalian blastocyst. *Stem Cells*. 2001;19(6):477-82.
  123. De Miguel MP, Fuentes-Julián S, Alcaina Y. Pluripotent stem cells: origin, maintenance and induction. *Stem Cell Rev Rep*. 2010;6(4):633-49.
  124. Ratajczak MZ, Zuba-Surma E, Kucia M, Poniewierska A, Suszynska M, Ratajczak J. Pluripotent and multipotent stem cells in adult tissues. *Adv Med Sci*. 2012;57(1):1-17.
  125. Augello A, Kurth TB, De Bari C. Mesenchymal stem cells: a perspective from in vitro cultures to in vivo migration and niches. *Eur Cell Mater*. 2010;20:121-33.
  126. Bruder SP, Jaiswal N, Haynesworth SE. Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *J Cell Biochem*. 1997;64(2):278-94.
  127. Ilic D, Polak JM. Stem cells in regenerative medicine: introduction. *Br Med Bull*. 2011;98:117-26.
  128. Kolios G, Moodley Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration*. 2013;85(1):3-10.
  129. Gardner RL. Stem cells: potency, plasticity and public perception. *J Anat*. 2002;200(Pt 3):277-82.
  130. Saber SE. Tissue engineering in endodontics. *J Oral Sci*. 2009;51(4):495-507.
  131. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*. 1991;9(5):641-50.

132. Le Blanc K, Ringdén O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2005;11(5):321-34.
133. Taylor PL. The gap between law and ethics in human embryonic stem cell research: overcoming the effect of US federal policy on research advances and public benefit. *Science and engineering ethics*. 2005;11(4):589-616.
134. Chandki R, Kala M, Banthia P, Banthia R. From stem to roots: Tissue engineering in endodontics. *Journal of clinical and experimental dentistry*. 2012;4(1):e66-71.
135. Yoshida T, Washio K, Iwata T, Okano T, Ishikawa I. Current status and future development of cell transplantation therapy for periodontal tissue regeneration. *Int J Dent*. 2012;2012:307024.
136. Sloan AJ, Waddington RJ. Dental pulp stem cells: what, where, how? *Int J Paediatr Dent*. 2009;19(1):61-70.
137. Aydin S, Şahin F. Stem Cells Derived from Dental Tissues. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1144:123-32.
138. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources. *J Prosthodont Res*. 2012;56(3):151-65.
139. Liao J, Al Shahrani M, Al-Habib M, Tanaka T, Huang GT. Cells isolated from inflamed periapical tissue express mesenchymal stem cell markers and are highly osteogenic. *Journal of endodontics*. 2011;37(9):1217-24.
140. Wingard JR, Demetri GD. Clinical applications of cytokines and growth factors: Springer Science & Business Media; 1999.
141. Duncan HF, Kobayashi Y, Shimizu E. Growth Factors and Cell Homing in Dental Tissue Regeneration. *Current Oral Health Reports*. 2018;5(4):276-85.
142. Murray PE, Smith AJ. Saving pulps—a biological basis. An overview. *Primary Dental Care*. 2002(1):21-6.
143. Cassidy N, Fahey M, Prime SS, Smith AJ. Comparative analysis of transforming growth factor-beta isoforms 1-3 in human and rabbit dentine matrices. *Arch Oral Biol*. 1997;42(3):219-23.
144. Thomadakis G, Ramoshebi LN, Crooks J, Rueger DC, Ripamonti U. Immunolocalization of Bone Morphogenetic Protein-2 and -3 and Osteogenic Protein-1 during murine tooth root morphogenesis and in other craniofacial structures. *Eur J Oral Sci*. 1999;107(5):368-77.
145. Finkelman RD, Mohan S, Jennings JC, Taylor AK, Jepsen S, Baylink DJ. Quantitation of growth factors IGF-I, SGF/IGF-II, and TGF-beta in human dentin. *J Bone Miner Res*. 1990;5(7):717-23.
146. Roberts-Clark DJ, Smith AJ. Angiogenic growth factors in human dentine matrix. *Arch Oral Biol*. 2000;45(11):1013-6.
147. Tomson PL, Lumley PJ, Alexander MY, Smith AJ, Cooper PR. Hepatocyte growth factor is sequestered in dentine matrix and promotes regeneration-associated events in dental pulp cells. *Cytokine*. 2013;61(2):622-9.

148. Nakashima M, Reddi AH. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. *Nat Biotechnol.* 2003;21(9):1025-32.
149. Lovschall H, Fejerskov O, Flyvbjerg A. Pulp-capping with recombinant human insulin-like growth factor I (rhIGF-I) in rat molars. *Adv Dent Res.* 2001;15:108-12.
150. Smith AJ, Duncan HF, Diogenes A, Simon S, Cooper PR. Exploiting the Bioactive Properties of the Dentin-Pulp Complex in Regenerative Endodontics. *Journal of endodontics.* 2016;42(1):47-56.
151. Liang C, Liao L, Tian W. Stem Cell-based Dental Pulp Regeneration: Insights From Signaling Pathways. *Stem Cell Reviews and Reports.* 2021;17(4):1251-63.
152. Sharma B, Elisseeff JH. Engineering structurally organized cartilage and bone tissues. *Ann Biomed Eng.* 2004;32(1):148-59.
153. Gathani KM, Raghavendra SS. Scaffolds in regenerative endodontics: A review. *Dent Res J (Isfahan).* 2016;13(5):379-86.
154. Torabinejad M, Faras H, Corr R, Wright KR, Shabahang S. Histologic examinations of teeth treated with 2 scaffolds: a pilot animal investigation. *Journal of endodontics.* 2014;40(4):515-20.
155. Nosrat A, Kolahdouzan A, Hosseini F, Mehrizi EA, Verma P, Torabinejad M. Histologic Outcomes of Uninfected Human Immature Teeth Treated with Regenerative Endodontics: 2 Case Reports. *Journal of endodontics.* 2015;41(10):1725-9.
156. Hargreaves KM BL. Cohen's pathways of the pulp 2016.
157. Kahler B, Mistry S, Moule A, Ringsmuth AK, Case P, Thomson A, et al. Revascularization outcomes: a prospective analysis of 16 consecutive cases. *Journal of endodontics.* 2014;40(3):333-8.
158. Austah O, Joon R, Fath WM, Chrepa V, Diogenes A, Ezeldeen M, et al. Comprehensive Characterization of 2 Immature Teeth Treated with Regenerative Endodontic Procedures. *Journal of endodontics.* 2018;44(12):1802-11.
159. Kundabala M, Parolia A, Shetty N, editors. *Regenerative Endodontics: A Review* 2010.
160. Song M, Cao Y, Shin SJ, Shon WJ, Chugal N, Kim RH, et al. Revascularization-associated Intracanal Calcification: Assessment of Prevalence and Contributing Factors. *Journal of endodontics.* 2017;43(12):2025-33.
161. Kahler B, Kahler SL, Lin LM. Revascularization-associated Intracanal Calcification: A Case Report with an 8-year Review. *Journal of endodontics.* 2018;44(12):1792-5.
162. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. THE EFFECTS OF SURGICAL EXPOSURES OF DENTAL PULPS IN GERM-FREE AND CONVENTIONAL LABORATORY RATS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;20:340-9.
163. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *Journal of endodontics.* 1992;18(9):427-30.

164. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*. 1981;89(4):321-8.
165. Hess W. The anatomy of the root-canals of the teeth of the permanent dentition. London: Sons & Danielsson Ltd; 1925.
166. Peters OA, Laib A, Göhring TN, Barbakow F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *Journal of endodontics*. 2001;27(1):1-6.
167. Kim SG. Infection and pulp regeneration. *Dentistry journal*. 2016;4(1):4.
168. Rustad KC, Gurtner GC. Mesenchymal stem cells home to sites of injury and inflammation. *Advances in wound care*. 2012;1(4):147-52.
169. Prockop DJ, Oh JY. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol Ther*. 2012;20(1):14-20.
170. Liu C, Xiong H, Chen K, Huang Y, Huang Y, Yin X. Long-term exposure to pro-inflammatory cytokines inhibits the osteogenic/dentinogenic differentiation of stem cells from the apical papilla. *Int Endod J*. 2016;49(10):950-9.
171. Fouad AF. Microbial Factors and Antimicrobial Strategies in Dental Pulp Regeneration. *Journal of endodontics*. 2017;43(9s):S46-s50.
172. Senia ES, Marshall FJ, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1971;31(1):96-103.
173. Zehnder M. Root canal irrigants. *Journal of endodontics*. 2006;32(5):389-98.
174. Dakin HD. ON THE USE OF CERTAIN ANTISEPTIC SUBSTANCES IN THE TREATMENT OF INFECTED WOUNDS. *Br Med J*. 1915;2(2852):318-20.
175. Coolidge ED. The Diagnosis and Treatment of Conditions Resulting from Diseased Dental Pulps. *The Journal of the National Dental Association*. 6:337-49.
176. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J*. 2002;13(2):113-7.
177. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am*. 2010;54(2):291-312.
178. Chávez De Paz LE, Dahlén G, Molander A, Möller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J*. 2003;36(7):500-8.
179. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1997;30(5):297-306.
180. Sen BH, Safavi KE, Spångberg LS. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *Journal of endodontics*. 1999;25(4):235-8.

181. Bowden GH, Hamilton IR. Survival of oral bacteria. Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists. 1998;9(1):54-85.
182. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J*. 2001;34(4):300-7.
183. Tsuneda Y, Hayakawa T, Yamamoto H, Ikemi T, Nemoto K. A histopathological study of direct pulp capping with adhesive resins. *Oper Dent*. 1995;20(6):223-9.
184. Hafez AA, Cox CF, Tarim B, Otsuki M, Akimoto N. An in vivo evaluation of hemorrhage control using sodium hypochlorite and direct capping with a one- or two-component adhesive system in exposed nonhuman primate pulps. *Quintessence Int*. 2002;33(4):261-72.
185. Demenech LS, Tomazinho FSF, Baratto-Filho F, Brancher JA, Pereira LF, Gabardo MCL. Biocompatibility of the 8.25% sodium hypochlorite irrigant solution in endodontics: An in vivo study. *Microsc Res Tech*. 2021;84(7):1506-12.
186. Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*. 1978;4(2):60-4.
187. Siqueira JF, Jr., Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*. 2000;26(6):331-4.
188. Christensen CE, McNeal SF, Eleazer P. Effect of lowering the pH of sodium hypochlorite on dissolving tissue in vitro. *Journal of endodontics*. 2008;34(4):449-52.
189. Clarkson RM, Moule AJ. Sodium hypochlorite and its use as an endodontic irrigant. *Aust Dent J*. 1998;43(4):250-6.
190. Haapasalo H, Sirén E, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *International endodontic journal*. 2000;33(2):126-31.
191. Pashley EL, Birdsong NL, Bowman K, Pashley DH. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. *Journal of endodontics*. 1985;11(12):525-8.
192. Sim T, Knowles J, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *International endodontic journal*. 2001;34(2):120-32.
193. Marending M, Luder H, Brunner T, Knecht S, Stark WJ, Zehnder M. Effect of sodium hypochlorite on human root dentine—mechanical, chemical and structural evaluation. *International endodontic journal*. 2007;40(10):786-93.
194. Camilleri J. Color stability of white mineral trioxide aggregate in contact with hypochlorite solution. *Journal of endodontics*. 2014;40(3):436-40.

195. Neelakantan P, Nandagopal M, Shemesh H, Wesselink P. The effect of root dentin conditioning protocols on the push-out bond strength of three calcium silicate sealers. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 2015;60:104-8.
196. Paqué F, Rechenberg D-K, Zehnder M. Reduction of hard-tissue debris accumulation during rotary root canal instrumentation by etidronic acid in a sodium hypochlorite irrigant. *Journal of endodontics*. 2012;38(5):692-5.
197. Czonstkowsky M, Wilson EG, Holstein FA. The smear layer in endodontics. *Dental Clinics of North America*. 1990;34(1):13-25.
198. Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *Journal of endodontics*. 1987;13(4):147-57.
199. Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod J*. 2003;36(12):810-30.
200. Patterson SS. In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1963;16:83-103.
201. Goldman M, Kronman JH, Goldman LB, Clausen H, Grady J. New method of irrigation during endodontic treatment. *Journal of endodontics*. 1976;2(9):257-60.
202. Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *Journal of endodontics*. 2002;28(1):17-9.
203. Ostby N. Chelating in root canal therapy. Ethylene-diamine tetraacetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odontol Tidskr*. 1957;65:3-11.
204. Segura JJ, Calvo JR, Guerrero JM, Sampedro C, Jimenez A, Llamas R. The disodium salt of EDTA inhibits the binding of vasoactive intestinal peptide to macrophage membranes: endodontic implications. *Journal of endodontics*. 1996;22(7):337-40.
205. Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Characterising the micro-mechanical behaviour of the carious dentine of primary teeth using nano-indentation. *Journal of Biomechanics*. 2005;38(7):1535-42.
206. De-Deus G, Paciornik S, Mauricio MH. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *Int Endod J*. 2006;39(5):401-7.
207. Demiray Kökçü G, Güral A, Altunkaynak B, Kayaoğlu G. Comparison of the smear layer and debris removal abilities and the effects on dentinal microhardness of 5 and 17 EDTA solutions used as final irrigants in vitro study. *Acta Odontologica Turcica*. 2016;33(2).
208. Reeder OW, Jr., Walton RE, Livingston MJ, Pashley DH. Dentin permeability: determinants of hydraulic conductance. *J Dent Res*. 1978;57(2):187-93.
209. Pashley DH. Smear Layer: physiological consideration. *Oper dent*. 1984;3:13-29.

210. Cohen S, Stewart GG, Laster LL. The effects of acids, alkalies, and chelating agents on dentine permeability. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1970;29(4):631-4.
211. Cergneux M, Ciucchi B, Dietschi JM, Holz J. The influence of the smear layer on the sealing ability of canal obturation. *Int Endod J.* 1987;20(5):228-32.
212. Mohammadi Z, Shalavi S, Jafarzadeh H. Ethylenediaminetetraacetic acid in endodontics. *Eur J Dent.* 2013;7(Suppl 1):S135-s42.
213. Herrera DR, Martinho FC, de-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, et al. Clinical efficacy of EDTA ultrasonic activation in the reduction of endotoxins and cultivable bacteria. *Int Endod J.* 2017;50(10):933-40.
214. Conde MC, Chisini LA, Demarco FF, Nör JE, Casagrande L, Tarquinio SB. Stem cell-based pulp tissue engineering: variables enrolled in translation from the bench to the bedside, a systematic review of literature. *Int Endod J.* 2016;49(6):543-50.
215. Gonçalves LF, Fernandes AP, Cosme-Silva L, Colombo FA, Martins NS, Oliveira TM, et al. Effect of EDTA on TGF- $\beta$ 1 released from the dentin matrix and its influence on dental pulp stem cell migration. *Braz Oral Res.* 2016;30(1):e131.
216. Bracks IV, Espaladori MC, Barros P, de Brito LCN, Vieira LQ, Ribeiro Sobrinho AP. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid irrigation on immune-inflammatory response in teeth submitted to regenerative endodontic therapy. *Int Endod J.* 2019;52(10):1457-65.
217. Galler KM, D'Souza RN, Federlin M, Cavender AC, Hartgerink JD, Hecker S, et al. Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. *Journal of endodontics.* 2011;37(11):1536-41.
218. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc.* 1986;112(6):863-9.
219. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *Journal of endodontics.* 2001;27(7):452-5.
220. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol.* 1986;57(6):370-7.
221. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J.* 2007;52(1 Suppl):S64-82.
222. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2003;36(4):267-75.
223. Holliday R. Cohen's pathways of the pulp, 10th edition. *British Dental Journal.* 2011;210(5):242-.

224. Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res.* 1977;85(4):255-65.
225. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009;42(4):288-302.
226. Rosenthal S, Spångberg L, Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98(4):488-92.
227. Cook J, Nandakumar R, Fouad AF. Molecular- and culture-based comparison of the effects of antimicrobial agents on bacterial survival in infected dentinal tubules. *Journal of endodontics.* 2007;33(6):690-2.
228. Nikaido T, Takano Y, Sasafuchi Y, Burrow MF, Tagami J. Bond strengths to endodontically-treated teeth. *Am J Dent.* 1999;12(4):177-80.
229. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipólito V, Geraldini S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res.* 2007;86(1):90-4.
230. Parsons GJ, Patterson SS, Miller CH, Katz S, Kafrawy AH, Newton CW. Uptake and release of chlorhexidine by bovine pulp and dentin specimens and their subsequent acquisition of antibacterial properties. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980;49(5):455-9.
231. Chávez de Paz LE, Bergenholtz G, Svensäter G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. *Journal of endodontics.* 2010;36(1):70-7.
232. Menezes AC, Zanet CG, Valera MC. Smear layer removal capacity of disinfectant solutions used with and without EDTA for the irrigation of canals: a SEM study. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(4):349-55.
233. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *Journal of endodontics.* 1994;20(6):276-8.
234. de Souza LB, de Aquino SG, de Souza PP, Hebling J, Costa CA. Cytotoxic effects of different concentrations of chlorhexidine. *Am J Dent.* 2007;20(6):400-4.
235. Lessa FC, Aranha AM, Nogueira I, Giro EM, Hebling J, Costa CA. Toxicity of chlorhexidine on odontoblast-like cells. *J Appl Oral Sci.* 2010;18(1):50-8.
236. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, et al. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. *Journal of endodontics.* 2011;37(8):1109-15.
237. Lee TH, Hu CC, Lee SS, Chou MY, Chang YC. Cytotoxicity of chlorhexidine on human osteoblastic cells is related to intracellular glutathione levels. *Int Endod J.* 2010;43(5):430-5.
238. Saleh AA, Ettman WM. Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness of root canal dentine. *Journal of dentistry.* 1999;27(1):43-6.
239. Patil CR, Uppin V. Effect of endodontic irrigating solutions on the microhardness and roughness of root canal dentin: an in vitro study. *Indian J Dent Res.* 2011;22(1):22-7.

240. Kulkarni S, Mustafa M, Ghatole K, AlQahtani AR, FY IA, Alghomlas ZI, et al. Evaluation of 2% Chlorhexidine and 2% Sodium Fluoride as Endodontic Irrigating Solutions on Root Dentine Microhardness: An In Vitro Study. *Eur J Dent*. 2021;15(2):253-8.
241. Zeng YX, Wang S, Wei L, Cui YY, Chen YH. Proanthocyanidins: Components, Pharmacokinetics and Biomedical Properties. *Am J Chin Med*. 2020;48(4):813-69.
242. Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*. 2000;148(2-3):187-97.
243. Tanner GJ, Francki KT, Abrahams S, Watson JM, Larkin PJ, Ashton AR. Proanthocyanidin biosynthesis in plants. Purification of legume leucoanthocyanidin reductase and molecular cloning of its cDNA. *J Biol Chem*. 2003;278(34):31647-56.
244. Fine AM. Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Altern Med Rev*. 2000;5(2):144-51.
245. Ghonmode WN, Balsaraf OD, Tambe VH, Saujanya KP, Patil AK, Kakde DD. Comparison of the antibacterial efficiency of neem leaf extracts, grape seed extracts and 3% sodium hypochlorite against *E. feacalis* - An in vitro study. *J Int Oral Health*. 2013;5(6):61-6.
246. Houde V, Grenier D, Chandad F. Protective effects of grape seed proanthocyanidins against oxidative stress induced by lipopolysaccharides of periodontopathogens. *J Periodontol*. 2006;77(8):1371-9.
247. Balalaie A, Rezvani MB, Mohammadi Basir M. Dual function of proanthocyanidins as both MMP inhibitor and crosslinker in dentin biomodification: A literature review. *Dent Mater J*. 2018;37(2):173-82.
248. Al-Habib A, Al-Saleh E, Safer AM, Afzal M. Bactericidal effect of grape seed extract on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Toxicol Sci*. 2010;35(3):357-64.
249. Furiga A, Roques C, Badet C. Preventive effects of an original combination of grape seed polyphenols with amine fluoride on dental biofilm formation and oxidative damage by oral bacteria. *J Appl Microbiol*. 2014;116(4):761-71.
250. Karygianni L, Al-Ahmad A, Argyropoulou A, Hellwig E, Anderson AC, Skaltsounis AL. Natural Antimicrobials and Oral Microorganisms: A Systematic Review on Herbal Interventions for the Eradication of Multispecies Oral Biofilms. *Front Microbiol*. 2015;6:1529.
251. Epasinghe DJ, Yiu CK, Burrow MF, Tsoi JK, Tay FR. Effect of flavonoids on the mechanical properties of demineralised dentine. *Journal of dentistry*. 2014;42(9):1178-84.
252. Bedran-Russo AK, Pashley DH, Agee K, Drummond JL, Miescke KJ. Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008;86(2):330-4.

253. Bedran-Russo AK, Castellan CS, Shinohara MS, Hassan L, Antunes A. Characterization of biomodified dentin matrices for potential preventive and reparative therapies. *Acta Biomater.* 2011;7(4):1735-41.
254. Castellan CS, Pereira PN, Grande RH, Bedran-Russo AK. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *Dent Mater.* 2010;26(10):968-73.
255. Castellan CS, Bedran-Russo AK, Karol S, Pereira PN. Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2011;4(7):1343-50.
256. Aydin B, Leme-Kraus AA, Vidal CMP, Aguiar TR, Phansalkar RS, Nam JW, et al. Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification. *Dent Mater.* 2019;35(2):328-34.
257. Isenburg JC, Simionescu DT, Vyavahare NR. Elastin stabilization in cardiovascular implants: improved resistance to enzymatic degradation by treatment with tannic acid. *Biomaterials.* 2004;25(16):3293-302.
258. Vidal CM, Zhu W, Manohar S, Aydin B, Keiderling TA, Messersmith PB, et al. Collagen-collagen interactions mediated by plant-derived proanthocyanidins: A spectroscopic and atomic force microscopy study. *Acta Biomater.* 2016;41:110-8.
259. Hümmer W, Schreier P. Analysis of proanthocyanidins. *Mol Nutr Food Res.* 2008;52(12):1381-98.
260. Hermann B. Calciumhydroxyd als mittel zum behandeln und füllen von zahnwurzelkanalen. *Univ Wurzburg Med Dissertation.* 1920.
261. Foreman P, Barnes I. A review of calcium hydroxide. *International endodontic journal.* 1990;23(6):283-97.
262. Lacević A, Vranić E, Zulić I. Clinical application of calcium hydroxide in dental pathology and endodontics. *Bosn J Basic Med Sci.* 2003;3(4):26-9.
263. Estrela C, Pesce HF. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide pastes in the presence of connective tissue of the dog. 1996.
264. Stuart KG, Miller CH, Brown Jr CE, Newton CW. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology.* 1991;72(1):101-4.
265. Georgopoulou M, Kontakiotis E, Nakou M. In vitro evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonochlorophenol on anaerobic bacteria from the root canal. *Dental Traumatology.* 1993;9(6):249-53.
266. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J.* 1995;6(2):85-90.
267. Mohammadi Z, Dummer PM. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J.* 2011;44(8):697-730.

268. Sabrah AH, Yassen GH, Gregory RL. Effectiveness of antibiotic medicaments against biofilm formation of *Enterococcus faecalis* and *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of endodontics*. 2013;39(11):1385-9.
269. Labban N, Yassen GH, Windsor LJ, Platt JA. The direct cytotoxic effects of medicaments used in endodontic regeneration on human dental pulp cells. *Dent Traumatol*. 2014;30(6):429-34.
270. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *Journal of endodontics*. 2012;38(10):1372-5.
271. Kitikuson P, Srisuwan T. Attachment Ability of Human Apical Papilla Cells to Root Dentin Surfaces Treated with Either 3Mix or Calcium Hydroxide. *Journal of endodontics*. 2016;42(1):89-94.
272. Ma JZ, Shen Y, Al-Ashaw AJ, Khaleel HY, Yang Y, Wang ZJ, et al. Micro-computed tomography evaluation of the removal of calcium hydroxide medicament from C-shaped root canals of mandibular second molars. *Int Endod J*. 2015;48(4):333-41.
273. Lambrianidis T, Margelos J, Beltes P. Removal efficiency of calcium hydroxide dressing from the root canal. *Journal of endodontics*. 1999;25(2):85-8.
274. Kahler SL, Shetty S, Andreasen FM, Kahler B. The Effect of Long-term Dressing with Calcium Hydroxide on the Fracture Susceptibility of Teeth. *Journal of endodontics*. 2018;44(3):464-9.
275. Goering R, Dockrell H, Zuckerman M, Roitt I, Chiodini PL. *Mims' medical microbiology*: Elsevier Health Sciences; 2012.
276. Grossman LI. Sterilization of infected root canals. *J Am Dent Assoc*. 1972;85(4):900-5.
277. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J*. 1996;29(2):125-30.
278. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J*. 1996;29(2):118-24.
279. Siqueira JR JF, Rôças IN. Present status and future directions in endodontic microbiology. *Endodontic topics*. 2014;30(1):3-22.
280. Montero-Miralles P, Martín-González J, Alonso-Ezpeleta O, Jiménez-Sánchez MC, Velasco-Ortega E, Segura-Egea JJ. Effectiveness and clinical implications of the use of topical antibiotics in regenerative endodontic procedures: a review. *Int Endod J*. 2018;51(9):981-8.
281. Thibodeau B, Trope M. Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. *Pediatr Dent*. 2007;29(1):47-50.

282. Venkataraman M, Singhal S, Tikku AP, Chandra A. Comparative analysis of tooth discoloration induced by conventional and modified triple antibiotic pastes used in regenerative endodontics. *Indian J Dent Res.* 2019;30(6):933-6.
283. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *Journal of endodontics.* 1993;19(11):541-4.
284. Rao A, Rao A, Shenoy R. Mineral trioxide aggregate--a review. *J Clin Pediatr Dent.* 2009;34(1):1-7.
285. Dammaschke T, Gerth HU, Züchner H, Schäfer E. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. *Dent Mater.* 2005;21(8):731-8.
286. Asgary S, Parirokh M, Eghbal MJ, Brink F. Chemical differences between white and gray mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics.* 2005;31(2):101-3.
287. Cavenago BC, Pereira TC, Duarte MA, Ordinola-Zapata R, Marciano MA, Bramante CM, et al. Influence of powder-to-water ratio on radiopacity, setting time, pH, calcium ion release and a micro-CT volumetric solubility of white mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2014;47(2):120-6.
288. Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--part II: leakage and biocompatibility investigations. *Journal of endodontics.* 2010;36(2):190-202.
289. Shipper G, Grossman ES, Botha AJ, Cleaton-Jones PE. Marginal adaptation of mineral trioxide aggregate (MTA) compared with amalgam as a root-end filling material: a low-vacuum (LV) versus high-vacuum (HV) SEM study. *Int Endod J.* 2004;37(5):325-36.
290. Torabinejad M, Smith PW, Kettering JD, Pitt Ford TR. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *Journal of endodontics.* 1995;21(6):295-9.
291. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. *Journal of endodontics.* 1995;21(8):403-6.
292. Kettering JD, Torabinejad M. Investigation of mutagenicity of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *Journal of endodontics.* 1995;21(11):537-42.
293. Braz MG, Camargo EA, Salvadori DM, Marques ME, Ribeiro DA. Evaluation of genetic damage in human peripheral lymphocytes exposed to mineral trioxide aggregate and Portland cements. *J Oral Rehabil.* 2006;33(3):234-9.
294. Sumer M, Muglali M, Bodrumlu E, Guvenc T. Reactions of connective tissue to amalgam, intermediate restorative material, mineral trioxide aggregate, and mineral trioxide aggregate mixed with chlorhexidine. *Journal of endodontics.* 2006;32(11):1094-6.
295. Nair P, Duncan H, Pitt Ford T, Luder H. Histological, ultrastructural and quantitative investigations on the response of healthy human pulps to

- experimental capping with mineral trioxide aggregate: a randomized controlled trial. *International endodontic journal*. 2008;41(2):128-50.
296. Paranjpe A, Zhang H, Johnson JD. Effects of mineral trioxide aggregate on human dental pulp cells after pulp-capping procedures. *Journal of endodontics*. 2010;36(6):1042-7.
  297. Torabinejad M, Hong CU, Lee SJ, Monsef M, Pitt Ford TR. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. *Journal of endodontics*. 1995;21(12):603-8.
  298. Schwartz RS, Mauger M, Clement DJ, Walker WA, 3rd. Mineral trioxide aggregate: a new material for endodontics. *J Am Dent Assoc*. 1999;130(7):967-75.
  299. Faraco IM, Jr., Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol*. 2001;17(4):163-6.
  300. Malkondu Ö, Karapinar Kazandağ M, Kazazoğlu E. A review on biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. *Biomed Res Int*. 2014;2014:160951.
  301. Camilleri J, Sorrentino F, Damidot D. Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dent Mater*. 2013;29(5):580-93.
  302. Kaup M, Schäfer E, Dammaschke T. An in vitro study of different material properties of Biodentine compared to ProRoot MTA. *Head Face Med*. 2015;11:16.
  303. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dent Mater*. 2013;29(2):e20-8.
  304. Darvell BW, Wu RC. "MTA"-an Hydraulic Silicate Cement: review update and setting reaction. *Dent Mater*. 2011;27(5):407-22.
  305. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Characterization of set Intermediate Restorative Material, Biodentine, Bioaggregate and a prototype calcium silicate cement for use as root-end filling materials. *Int Endod J*. 2013;46(7):632-41.
  306. Rajasekharan S, Martens LC, Cauwels RG, Verbeeck RM. Biodentine™ material characteristics and clinical applications: a review of the literature. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2014;15(3):147-58.
  307. Piconi C, Maccauro G. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials*. 1999;20(1):1-25.
  308. Tanalp J, Karapinar-Kazandağ M, Dölekoğlu S, Kayahan MB. Comparison of the radiopacities of different root-end filling and repair materials. *The Scientific World Journal*. 2013;2013.
  309. Camilleri J. Staining Potential of Neo MTA Plus, MTA Plus, and Biodentine Used for Pulpotomy Procedures. *Journal of endodontics*. 2015;41(7):1139-45.

310. Singh S, Podar R, Dadu S, Kulkarni G, Purba R. Solubility of a new calcium silicate-based root-end filling material. *J Conserv Dent*. 2015;18(2):149-53.
311. Camilleri J, Grech L, Galea K, Keir D, Fenech M, Formosa L, et al. Porosity and root dentine to material interface assessment of calcium silicate-based root-end filling materials. *Clin Oral Investig*. 2014;18(5):1437-46.
312. Gandolfi MG, Siboni F, Botero T, Bossù M, Riccitiello F, Prati C. Calcium silicate and calcium hydroxide materials for pulp capping: biointeractivity, porosity, solubility and bioactivity of current formulations. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2015;13(1):43-60.
313. Elnaghy AM. Influence of acidic environment on properties of biodentine and white mineral trioxide aggregate: a comparative study. *Journal of endodontics*. 2014;40(7):953-7.
314. Kayahan MB, Nekoofar MH, McCann A, Sunay H, Kaptan RF, Meraji N, et al. Effect of acid etching procedures on the compressive strength of 4 calcium silicate-based endodontic cements. *Journal of endodontics*. 2013;39(12):1646-8.
315. El-Khodary HM, Farsi DJ, Farsi NM, Zidan AZ. Sealing Ability of Four Calcium Containing Cements used for Repairing Furcal Perforations in Primary Molars: An in vitro study. *The journal of contemporary dental practice*. 2015;16(9):733-9.
316. Butt N, Talwar S, Chaudhry S, Nawal RR, Yadav S, Bali A. Comparison of physical and mechanical properties of mineral trioxide aggregate and Biodentine. *Indian Journal of dental research*. 2014;25(6):692.
317. Naik MM, de Ataide Ide N, Fernandes M, Lambor R. Assessment of apical seal obtained after irrigation of root end cavity with MTAD followed by subsequent retrofilling with MTA and Biodentine: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2015;18(2):132-5.
318. Marconyak LJ, Jr., Kirkpatrick TC, Roberts HW, Roberts MD, Aparicio A, Himel VT, et al. A Comparison of Coronal Tooth Discoloration Elicited by Various Endodontic Reporative Materials. *Journal of endodontics*. 2016;42(3):470-3.
319. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Pirmoazen S, Shamshiri AR, Dummer PM. Evaluation and Comparison of Occurrence of Tooth Discoloration after the Application of Various Calcium Silicate-based Cements: An Ex Vivo Study. *Journal of endodontics*. 2016;42(1):140-4.
320. Kohli MR, Yamaguchi M, Setzer FC, Karabucak B. Spectrophotometric Analysis of Coronal Tooth Discoloration Induced by Various Bioceramic Cements and Other Endodontic Materials. *Journal of endodontics*. 2015;41(11):1862-6.
321. Yoldaş SE, Bani M, Atabek D, Bodur H. Comparison of the Potential Discoloration Effect of Bioaggregate, Biodentine, and White Mineral Trioxide Aggregate on Bovine Teeth: In Vitro Research. *Journal of endodontics*. 2016;42(12):1815-8.

322. Ramos JC, Palma PJ, Nascimento R, Caramelo F, Messias A, Vinagre A, et al. 1-year In Vitro Evaluation of Tooth Discoloration Induced by 2 Calcium Silicate-based Cements. *Journal of endodontics*. 2016;42(9):1403-7.
323. Poggio C, Arciola CR, Beltrami R, Monaco A, Dagna A, Lombardini M, et al. Cytocompatibility and antibacterial properties of capping materials. *The Scientific World Journal*. 2014;2014.
324. Ceci M, Beltrami R, Chiesa M, Colombo M, Poggio C. Biological and chemical-physical properties of root-end filling materials: A comparative study. *J Conserv Dent*. 2015;18(2):94-9.
325. Poggio C, Beltrami R, Colombo M, Ceci M, Dagna A, Chiesa M. In vitro antibacterial activity of different pulp capping materials. *Journal of clinical and experimental dentistry*. 2015;7(5):e584.
326. Koruyucu M, Topcuoglu N, Tuna EB, Ozel S, Gencay K, Kulekci G, et al. An assessment of antibacterial activity of three pulp capping materials on *Enterococcus faecalis* by a direct contact test: An in vitro study. *European journal of dentistry*. 2015;9(02):240-5.
327. Bhavana V, Chaitanya KP, Gandi P, Patil J, Dola B, Reddy RB. Evaluation of antibacterial and antifungal activity of new calcium-based cement (Biodentine) compared to MTA and glass ionomer cement. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2015;18(1):44.
328. Hiremath GS, Kulkarni RD, Naik BD. Evaluation of minimal inhibitory concentration of two new materials using tube dilution method: An in vitro study. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2015;18(2):159.
329. Laurent P, Camps J, De Méo M, Déjou J, About I. Induction of specific cell responses to a Ca(3)SiO(5)-based posterior restorative material. *Dent Mater*. 2008;24(11):1486-94.
330. Zhao Q, Qian J, Zhou H, Yuan Y, Mao Y, Liu C. In vitro osteoblast-like and endothelial cells' response to calcium silicate/calcium phosphate cement. *Biomed Mater*. 2010;5(3):35004.
331. Morejón-Alonso L, Ferreira OJ, Carrodegua RG, dos Santos LA. Bioactive composite bone cement based on  $\alpha$ -tricalcium phosphate/tricalcium silicate. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2012;100(1):94-102.
332. Schwarz K, Milne DB. Growth-promoting effects of silicon in rats. *Nature*. 1972;239(5371):333-4.
333. Patel N, Best SM, Bonfield W, Gibson IR, Hing KA, Damien E, et al. A comparative study on the in vivo behavior of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules. *J Mater Sci Mater Med*. 2002;13(12):1199-206.
334. Han L, Okiji T. Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate-based endodontic materials into root canal dentine. *Int Endod J*. 2011;44(12):1081-7.

335. Jung S, Mielert J, Kleinheinz J, Dammaschke T. Human oral cells' response to different endodontic restorative materials: an in vitro study. *Head Face Med.* 2014;10:55.
336. Shayegan A, Jurysta C, Atash R, Petein M, Abbeele AV. Biodentine used as a pulp-capping agent in primary pig teeth. *Pediatr Dent.* 2012;34(7):e202-8.
337. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res.* 1992;71 Spec No:924-8.
338. Panighi M, G'Sell C. Influence of calcium concentration on the dentin wettability by an adhesive. *J Biomed Mater Res.* 1992;26(8):1081-9.
339. Hu X, Peng Y, Sum CP, Ling J. Effects of concentrations and exposure times of sodium hypochlorite on dentin deproteinization: attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy study. *Journal of endodontics.* 2010;36(12):2008-11.
340. Craig RG, Gehring P, Peyton FA. Relation of structure to the microhardness of human dentin. *Journal of Dental Research.* 1959;38(3):624-30.
341. Cox CF, Heys DR, Kent Gibbons P, Avery JK, Heys RJ. The effect of various restorative materials on the microhardness of reparative dentin. *Journal of Dental Research.* 1980;59(2):109-15.
342. Lewinstein I, Grajower R. Root dentin hardness of endodontically treated teeth. *Journal of endodontics.* 1981;7(9):421-2.
343. Fusayama T, Maeda T. Effect of pulpectomy on dentin hardness. *Journal of dental research.* 1969;48(3):452-60.
344. Huang T-JG, Schilder H, Nathanson D. Effects of moisture content and endodontic treatment on some mechanical properties of human dentin. *Journal of endodontics.* 1992;18(5):209-15.
345. Amaral C, Ormiga F, Boldrini L, Miranda P, Mendonça T, Granjeiro J, et al. Evaluation of the effects of the solution used for electrochemical dissolution of nickel–titanium endodontic files on dentine structure, microhardness and cell viability. *International Endodontic Journal.* 2018;51(12):1434-45.
346. Baras BH, Sun J, Melo MAS, Tay FR, Oates TW, Zhang K, et al. Novel root canal sealer with dimethylaminohexadecyl methacrylate, nano-silver and nano-calcium phosphate to kill bacteria inside root dentin and increase dentin hardness. *Dent Mater.* 2019;35(10):1479-89.
347. Naseri M, Eftekhari L, Gholami F, Atai M, Dianat O. The Effect of Calcium Hydroxide and Nano-calcium Hydroxide on Microhardness and Superficial Chemical Structure of Root Canal Dentin: An Ex Vivo Study. *Journal of endodontics.* 2019;45(9):1148-54.
348. Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R, Bogis J, Lin PS. The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study: part 2. *Journal of endodontics.* 1982;8(11):487-92.

349. Yamada RS, Armos A, Goldman M. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating. *J Endodon.* 1983;9:137-42.
350. Sayin TC, Cehreli ZC, Deniz D, Akcay A, Tuncel B, Dagli F, et al. Time-dependent decalcifying effects of endodontic irrigants with antibacterial properties. *Journal of endodontics.* 2009;35(2):280-3.
351. Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW. The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists.* 2003;14(1):13-29.
352. Yassen GH, Al-Angari SS, Platt JA. The use of traditional and novel techniques to determine the hardness and indentation properties of immature radicular dentin treated with antibiotic medicaments followed by ethylenediaminetetraacetic acid. *Eur J Dent.* 2014;8(4):521-7.
353. Barón M, Llena C, Forner L, Palomares M, González-García C, Salmerón-Sánchez M. Nanostructural changes in dentine caused by endodontic irrigants. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18(4):e733-6.
354. Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Savioli RN, Silva RG, Vansan LP, Pécora JD. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *Journal of endodontics.* 2011;37(3):358-62.
355. Fuentes V, Ceballos L, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, Pashley DH. Tensile strength and microhardness of treated human dentin. *Dent Mater.* 2004;20(6):522-9.
356. Lysaght V, DeBellis A. Microhardness testing. *Hardness testing handbook* New York: American Chain and Cable Co. 1969;1969:76-105.
357. Aslantas EE, Buzoglu HD, Altundasar E, Serper A. Effect of EDTA, sodium hypochlorite, and chlorhexidine gluconate with or without surface modifiers on dentin microhardness. *Journal of endodontics.* 2014;40(6):876-9.
358. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. *Phillips' science of dental materials*: Elsevier Health Sciences; 2012.
359. Mjör IA, Smith MR, Ferrari M, Mannocci F. The structure of dentine in the apical region of human teeth. *Int Endod J.* 2001;34(5):346-53.
360. Gurgel-Filho ED, Leite FM, Lima JBd, Montenegro JPC, Saavedra F, Silva EJNL. Comparative evaluation of push-out bond strength of a MTA-based root canal sealer. *Brazilian journal of oral sciences.* 2014;13:114-7.
361. Nagas E, Cehreli ZC, Uyanik MO, Vallittu PK, Lassila LV. Effect of several intracanal medicaments on the push-out bond strength of ProRoot MTA and Biodentine. *Int Endod J.* 2016;49(2):184-8.
362. Van Noort R, Cardew GE, Howard IC, Noroozi S. The effect of local interfacial geometry on the measurement of the tensile bond strength to dentin. *J Dent Res.* 1991;70(5):889-93.

363. Ungor M, Onay EO, Orucoglu H. Push-out bond strengths: the Epiphany-Resilon endodontic obturation system compared with different pairings of Epiphany, Resilon, AH Plus and gutta-percha. *Int Endod J*. 2006;39(8):643-7.
364. Brichko J, Burrow MF, Parashos P. Design Variability of the Push-out Bond Test in Endodontic Research: A Systematic Review. *Journal of endodontics*. 2018;44(8):1237-45.
365. Frankenberger R, Krämer N, Petschelt A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Oper Dent*. 2000;25(4):324-30.
366. Huffman BP, Mai S, Pinna L, Weller RN, Primus CM, Gutmann JL, et al. Dislocation resistance of ProRoot Endo Sealer, a calcium silicate-based root canal sealer, from radicular dentine. *Int Endod J*. 2009;42(1):34-46.
367. Patierno JM, Rueggeberg FA, Anderson RW, Weller RN, Pashley DH. Push-out strength and SEM evaluation of resin composite bonded to internal cervical dentin. *Endod Dent Traumatol*. 1996;12(5):227-36.
368. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Iravani A, Kharrazifard MJ, Dummer PM. Effect of acidic environment on the push-out bond strength of mineral trioxide aggregate. *Journal of endodontics*. 2010;36(5):871-4.
369. Silva E, Carvalho NK, Prado MC, Senna PM, Souza EM, De-Deus G. Bovine teeth can reliably substitute human dentine in an intra-tooth push-out bond strength model? *Int Endod J*. 2019;52(7):1063-9.
370. Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Adibfar A. Adhesion of composite resin to bleached and unbleached bovine enamel. *J Dent Res*. 1988;67(12):1523-8.
371. Poole DF, Shellis RP, Tyler JE. Rates of formation in vitro of dental caries-like enamel lesions in man and some non-human primates. *Arch Oral Biol*. 1981;26(5):413-7.
372. Abuabara A, Santos AJ, Aguiar FH, Lovadino JR. Evaluation of microleakage in human, bovine and swine enamels. *Braz Oral Res*. 2004;18(4):312-6.
373. Edmunds DH, Whittaker DK, Green RM. Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. *Caries Res*. 1988;22(6):327-36.
374. Bortoluzzi EA, Souza EM, Reis JM, Esberard RM, Tanomaru-Filho M. Fracture strength of bovine incisors after intra-radicular treatment with MTA in an experimental immature tooth model. *Int Endod J*. 2007;40(9):684-91.
375. Hatibović-Kofman S, Raimundo L, Zheng L, Chong L, Friedman M, Andreasen JO. Fracture resistance and histological findings of immature teeth treated with mineral trioxide aggregate. *Dent Traumatol*. 2008;24(3):272-6.
376. Cauwels RG, Pieters IY, Martens LC, Verbeeck RM. Fracture resistance and reinforcement of immature roots with gutta percha, mineral trioxide aggregate and calcium phosphate bone cement: a standardized in vitro model. *Dent Traumatol*. 2010;26(2):137-42.

377. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ. Reinforcement of immature roots with a new resin filling material. *Journal of endodontics*. 2006;32(4):350-3.
378. Elnaghy AM, Elsaka SE. Fracture resistance of simulated immature teeth filled with Biodentine and white mineral trioxide aggregate - an in vitro study. *Dent Traumatol*. 2016;32(2):116-20.
379. Ulusoy Ö, Nayır Y, Darendeliler-Yaman S. Effect of different root canal sealers on fracture strength of simulated immature roots. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;112(4):544-7.
380. Topçuoğlu HS, Arslan H, Akçay M, Saygılı G, Çakıcı F, Topçuoğlu G. The effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on the dislocation resistance of mineral trioxide aggregate to root canal dentin. *Journal of endodontics*. 2014;40(12):2041-4.
381. Guven Y, Tuna EB, Dincol ME, Ozel E, Yilmaz B, Aktoren O. Long-Term Fracture Resistance of Simulated Immature Teeth Filled with Various Calcium Silicate-Based Materials. *Biomed Res Int*. 2016;2016:2863817.
382. Oktay EA, Ersahan S, Gokyay S. Effect of intracanal medicaments used in endodontic regeneration on the push-out bond strength of a calcium-phosphate-silicate-based cement to dentin. *Pak J Med Sci*. 2018;34(2):310-5.
383. Verma P, Nosrat A, Kim JR, Price JB, Wang P, Bair E, et al. Effect of Residual Bacteria on the Outcome of Pulp Regeneration In Vivo. *J Dent Res*. 2017;96(1):100-6.
384. Harrison JW, Wagner GW, Henry CA. Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent Clorox. *Journal of endodontics*. 1990;16(7):328-30.
385. Vianna ME, Horz HP, Gomes BP, Conrads G. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J*. 2006;39(6):484-92.
386. Martinho FC, Gomes BP. Quantification of endotoxins and cultivable bacteria in root canal infection before and after chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*. 2008;34(3):268-72.
387. Harrison JW, Hand RE. The effect of dilution and organic matter on the antibacterial property of 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*. 1981;7(3):128-32.
388. Yang SF, Rivera EM, Baumgardner KR, Walton RE, Stanford C. Anaerobic tissue-dissolving abilities of calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Journal of endodontics*. 1995;21(12):613-6.
389. Mathew ST. Risks and management of sodium hypochlorite in endodontics. *Journal of Oral Hygiene & Health*. 2015:1-5.
390. Liu S, Zhai H, Fu S, Cui C, Xu J, Jiang J, et al. Evaluation of the cytotoxic effects of sodium hypochlorite on human dental stem cells. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2018;17(12):2375-80.

391. Wang T-F, Feng X-W, Gao Y-X, Wang M, Wang Y-N, Sa Y, et al. Effects of different concentrations and exposure time of sodium hypochlorite on the structural, compositional and mechanical properties of human dentin. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*. 2017;37(4):568-76.
392. Ribeiro JS, Münchow EA, Ferreira Bordini EA, de Oliveira da Rosa WL, Bottino MC. Antimicrobial Therapeutics in Regenerative Endodontics: A Scoping Review. *Journal of endodontics*. 2020;46(9s):S115-s27.
393. Berkhoff JA, Chen PB, Teixeira FB, Diogenes A. Evaluation of triple antibiotic paste removal by different irrigation procedures. *Journal of endodontics*. 2014;40(8):1172-7.
394. D'Aviz F S, Lodi E, Souza MA, Farina AP, Cecchin D. Antibacterial Efficacy of the Grape Seed Extract as an Irrigant for Root Canal Preparation. *Eur Endod J*. 2020;5(1):35-9.
395. Bosaid F, Aksel H, Makowka S, Azim AA. Surface and structural changes in root dentine by various chelating solutions used in regenerative endodontics. *Int Endod J*. 2020;53(10):1438-45.
396. Doğan H, Çalt S. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. *Journal of endodontics*. 2001;27(9):578-80.
397. Ari H, Erdemir A, Belli S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *Journal of endodontics*. 2004;30(11):792-5.
398. Slutzky-Goldberg I, Maree M, Liberman R, Heling I. Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *Journal of endodontics*. 2004;30(12):880-2.
399. Xu H, Ye Z, Zhang A, Lin F, Fu J, Fok ASL. Effects of concentration of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant on the mechanical and structural properties of root dentine: A laboratory study. *Int Endod J*. 2022;55(10):1091-102.
400. Saghiri MA, Delvarani A, Mehrvarzfar P, Malganji G, Lotfi M, Dadresanfar B, et al. A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(6):e29-34.
401. Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *Journal of endodontics*. 1992;18(12):605-12.
402. Tsuda H, Ruben J, Arends J. Raman spectra of human dentin mineral. *Eur J Oral Sci*. 1996;104(2 ( Pt 1)):123-31.
403. Davies JM, Horwitz DA, Davies KJ. Potential roles of hypochlorous acid and N-chloroamines in collagen breakdown by phagocytic cells in synovitis. *Free Radic Biol Med*. 1993;15(6):637-43.
404. Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP, Martín-Peinado FJ, González-López S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5%

- phosphoric acid and 2.5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *Int Endod J*. 2008;41(5):418-23.
405. Ulusoy Ö, Görgül G. Effects of different irrigation solutions on root dentine microhardness, smear layer removal and erosion. *Aust Endod J*. 2013;39(2):66-72.
  406. Ghisi AC, Kopper PM, Baldasso FE, Stürmer CP, Rossi-Fedele G, Steier L, et al. Effect of super-oxidized water, sodium hypochlorite and EDTA on dentin microhardness. *Braz Dent J*. 2014;25(5):420-4.
  407. Pashley D, Okabe A, Parham P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Dental Traumatology*. 1985;1(5):176-9.
  408. Seaman F, Shannon IL. Fluoride treatment and microhardness of dentin. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 1979;41(5):528-30.
  409. Butt N, Talwar S. In-vitro evaluation of various solvents for retrieval of mineral trioxide aggregate and their effect on microhardness of dentin. *J Conserv Dent*. 2013;16(3):199-202.
  410. Aydin B, Leme-Kraus AA, Vidal CM, Aguiar TR, Phansalkar RS, Nam J-W, et al. Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification. *Dental Materials*. 2019;35(2):328-34.
  411. Epasinghe DJ, Yiu CKY, Burrow MF, Hiraishi N, Tay FR. The inhibitory effect of proanthocyanidin on soluble and collagen-bound proteases. *Journal of dentistry*. 2013;41(9):832-9.
  412. Durigon M, Cecchin D, de Carli JP, Souza MA, Farina AP. Could calcium hypochlorite and grape seed extract keep the mechanical properties of root dentin and fracture resistance of weakened roots? *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020;106:103736.
  413. Hashem AA, Wanees Amin SA. The effect of acidity on dislodgment resistance of mineral trioxide aggregate and bioaggregate in furcation perforations: an in vitro comparative study. *Journal of endodontics*. 2012;38(2):245-9.
  414. De-Deus G, Di Giorgi K, Fidel S, Fidel RA, Paciornik S. Push-out bond strength of Resilon/Epiphany and Resilon/Epiphany self-etch to root dentin. *Journal of endodontics*. 2009;35(7):1048-50.
  415. Sly MM, Moore BK, Platt JA, Brown CE. Push-out bond strength of a new endodontic obturation system (Resilon/Epiphany). *Journal of endodontics*. 2007;33(2):160-2.
  416. Carvalho CN, Martinelli JR, Bauer J, Haapasalo M, Shen Y, Bradaschia-Correa V, et al. Micropush-out dentine bond strength of a new gutta-percha and niobium phosphate glass composite. *Int Endod J*. 2015;48(5):451-9.
  417. Chen WP, Chen YY, Huang SH, Lin CP. Limitations of push-out test in bond strength measurement. *Journal of endodontics*. 2013;39(2):283-7.

418. Nagas E, Uyanik O, Durmaz V, Cehreli ZC. Effect of plunger diameter on the push-out bond values of different root filling materials. *Int Endod J*. 2011;44(10):950-5.
419. Yan P, Peng B, Fan B, Fan M, Bian Z. The effects of sodium hypochlorite (5.25%), Chlorhexidine (2%), and Glyde File Prep on the bond strength of MTA-dentin. *Journal of endodontics*. 2006;32(1):58-60.
420. Sahebi S, Sobhnamayan F, Naghizade S. The effects of Various Endodontic Irrigants on the Push-out Bond Strength of Calcium-Enriched Mixture Cement and Mineral Trioxide Aggregate. *Iran Endod J*. 2016;11(4):280-5.
421. Sadegh M, Sohrabi H, Kharazifard M, Afkhami F. Effect of Smear Clear and Some Other Commonly Used Irrigants on dislodgement resistance of Mineral Trioxide Aggregate to Root Dentin. *Journal of clinical and experimental dentistry*. 2017;9(5):e617-e21.
422. Hong ST, Bae KS, Baek SH, Kum KY, Shon WJ, Lee W. Effects of root canal irrigants on the push-out strength and hydration behavior of accelerated mineral trioxide aggregate in its early setting phase. *Journal of endodontics*. 2010;36(12):1995-9.
423. Loxley EC, Liewehr FR, Buxton TB, McPherson JC, 3rd. The effect of various intracanal oxidizing agents on the push-out strength of various perforation repair materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;95(4):490-4.
424. Kogan P, He J, Glickman GN, Watanabe I. The effects of various additives on setting properties of MTA. *Journal of endodontics*. 2006;32(6):569-72.
425. Adl A, Shojaee NS, SOBHNAMAYAN F, Shojaee NS. The effect of chlorhexidine on push-out bond strength of mineral trioxide aggregate. 2014.
426. Elnaghy AM. Influence of QMix irrigant on the micropush-out bond strength of biodentine and white mineral trioxide aggregate. *J Adhes Dent*. 2014;16(3):277-83.
427. Guneser MB, Akbulut MB, Eldeniz AU. Effect of various endodontic irrigants on the push-out bond strength of biodentine and conventional root perforation repair materials. *Journal of endodontics*. 2013;39(3):380-4.
428. Nandini S, Natanasabapathy V, Shivanna S. Effect of various chemicals as solvents on the dissolution of set white mineral trioxide aggregate: an in vitro study. *Journal of endodontics*. 2010;36(1):135-8.
429. Reboloso de Barrio E, Gancedo-Caravia L, García-Barbero E, Pérez-Higueras JJ. Effect of exposure to root canal irrigants on the push-out bond strength of calcium silicate-based cements. *Clin Oral Investig*. 2021;25(5):3267-74.
430. Neelakantan P, Ahmed HMA, Wong MCM, Matinlinna JP, Cheung GSP. Effect of root canal irrigation protocols on the dislocation resistance of mineral trioxide aggregate-based materials: A systematic review of laboratory studies. *Int Endod J*. 2018;51(8):847-61.
431. Nagas E, Kucukkaya S, Eymirli A, Uyanik MO, Cehreli ZC. Effect of Laser-Activated Irrigation on the Push-Out Bond Strength of ProRoot Mineral Trioxide

- Aggregate and Biodentine in Furcal Perforations. *Photomed Laser Surg.* 2017;35(4):231-5.
432. Buldur B, Oznurhan F, Kaptan A. The effect of different chelating agents on the push-out bond strength of proroot mta and endosequence root repair material. *Eur Oral Res.* 2019;53(2):88-93.
  433. El-Ma'aita AM, Qualtrough AJ, Watts DC. The effect of smear layer on the push-out bond strength of root canal calcium silicate cements. *Dent Mater.* 2013;29(7):797-803.
  434. Lotfi M, Ghasemi N, Rahimi S, Bahari M, Vosoughhosseini S, Saghiri MA, et al. Effect of smear layer on the push-out bond strength of two endodontic biomaterials to radicular dentin. *Iran Endod J.* 2014;9(1):41-4.
  435. Gokturk H, Ozkocak I. The effect of different chelators on the dislodgement resistance of MTA Repair HP, MTA Angelus, and MTA Flow. *Odontology.* 2022;110(1):20-6.
  436. Alandia-Román CC, Vincenti SA, Silami FD, Silveira RE, Pinto GC, Pires-de-Souza FC. The effect of proanthocyanidins and chlorhexidine on the bond strength of glass fiber posts to root dentin. *Gen Dent.* 2017;65(2):23-7.
  437. Banu MA, Sravanthi T, Bolla N, Vemuri S, Basam RC, Garlapati R, et al. Evidence of improved bond strength of resin-based sealer with the use of natural antioxidants on hypochlorite treated dentin: an in vitro study. *Med Pharm Rep.* 2022;95(3):300-4.
  438. Atabek Ş, Özden AN. Comparison of the Effect of Proanthocyanidin Surface Treatments on Shear Bond Strength of Different Cements. *Materials (Basel).* 2019;12(17).
  439. Lee KW, Williams MC, Camps JJ, Pashley DH. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. *Journal of endodontics.* 2002;28(10):684-8.
  440. Ballal NV, Ulusoy Ö, Chhapparwal S, Ginjupalli K. Effect of novel chelating agents on the push-out bond strength of calcium silicate cements to the simulated root-end cavities. *Microsc Res Tech.* 2018;81(2):214-9.

## 8. EKLER

### EK-1. Tez Çalışması Orijinallik Raporu

#### PROANTOSİYANİDİN'İN DENTİN MİKROSERTLİĞİNE VE BİODENTİN'İN BAĞLANMA DAYANIMINA ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

##### ORJİNALLİK RAPORU

%**8**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**7**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%**1**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

##### BİRİNCİL KAYNAKLAR

**1**

[www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080](http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080)

İnternet Kaynağı

%**3**

**2**

[acikbilim.yok.gov.tr](http://acikbilim.yok.gov.tr)

İnternet Kaynağı

%**2**

**3**

[nek.istanbul.edu.tr:4444](http://nek.istanbul.edu.tr:4444)

İnternet Kaynağı

<%**1**

**4**

EKİCİ, Mügem Aslı, KIVANÇ HELVACIOĞLU, Bağdagül, EKİCİ, Adil and UZUN, Özgür. "Farklı endodontik irrigasyon aktivasyon teknikleri kullanılarak yapay oluklardan debris uzaklaştırılması: ex vivo", Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2017.

Yayın

<%**1**

**5**

[dergipark.org.tr](http://dergipark.org.tr)

İnternet Kaynağı

<%**1**

**6**

[docs.neu.edu.tr](http://docs.neu.edu.tr)

İnternet Kaynağı

<%**1**

[dspace.gazi.edu.tr](http://dspace.gazi.edu.tr)

|    |                                                                                                                                                                                           |      |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 7  | İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                          | <% 1 |
| 8  | Submitted to Istanbul Aydın University<br>Öğrenci Ödevi                                                                                                                                   | <% 1 |
| 9  | tr.ovalengineering.com<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                | <% 1 |
| 10 | Submitted to Hacettepe University<br>Öğrenci Ödevi                                                                                                                                        | <% 1 |
| 11 | link.springer.com<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                     | <% 1 |
| 12 | KABAKCI, Halise Filiz and ERDEMİR, Ali.<br>"REJENERATİF ENDODONTİDE BÜYÜME<br>FAKTÖRLERİ", Atatürk Üniversitesi, 2018.<br>Yayın                                                           | <% 1 |
| 13 | acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                    | <% 1 |
| 14 | www.sporbilimleri.org.tr<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                              | <% 1 |
| 15 | 2dc40e33-085f-40e0-8172-<br>9a1f898c1942.filesusr.com<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                 | <% 1 |
| 16 | Doglas Cecchin, Ana Paula Farina, Matheus<br>Albino Souza, Lourenço Luís Albarello et al.<br>"Evaluation of antimicrobial effectiveness and<br>dentine mechanical properties after use of | <% 1 |

chemical and natural auxiliary irrigants",  
Journal of Dentistry, 2015

Yayın

|    |                                                                                                                                                                                                                                 |      |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 17 | S. Rajasekharan, L. C. Martens, R. G. E. C. Cauwels, R. P. Anthonappa. "Biodentine™ material characteristics and clinical applications: a 3 year literature review and update", European Archives of Paediatric Dentistry, 2018 | <% 1 |
| 18 | dspace.ankara.edu.tr<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                        | <% 1 |
| 19 | oaji.net<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                    | <% 1 |
| 20 | openaccess.hacettepe.edu.tr:8080<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                            | <% 1 |
| 21 | tur.legatechnics.com<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                        | <% 1 |
| 22 | acikerisim.pau.edu.tr:8080<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                  | <% 1 |
| 23 | businessdocbox.com<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                          | <% 1 |
| 24 | ejfm.trakya.edu.tr<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                          | <% 1 |
| 25 | issuu.com<br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                                                   | <% 1 |

**EK-2. Tez Çalışması Dijital Makbuz****Dijital Makbuz**

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Büşra Tavşan  
Ödev başlığı: Büşra Tavşan -Uzmanlık tezi  
Gönderi Başlığı: PROANTOSİYANİDİN'İN DENTİN MİKROSERTLİĞİNE VE BİODE...  
Dosya adı: turnitin.DOCX  
Dosya boyutu: 18.9M  
Sayfa sayısı: 75  
Kelime sayısı: 16,774  
Karakter sayısı: 122,061  
Gönderim Tarihi: 02-Kas-2022 12:27ÖS (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1942286561

