



T.C.

**RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI**

**MİNERAL TRİOKSİT AGREGATIN VE
METİLSÜLFONİLMETANIN RUNX2 VE OPG/RANKL
YOLAKLARI İLE PULPA EKSPÖZUNA BAĞLI PULPA
HASARI ÜZERİNDEKİ TERAPÖTİK ETKİLERİ**

Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Dt. Altar ATEŞ

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Ayça KURT

RİZE
2022

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalında, Dr. Öğr. Üyesi Ayça KURT danışmanlığında, Altar ATEŞ tarafından hazırlanan “Mineral Trioksit Agregatın ve Metilsülfonilmetanın runx2 ve OPG/RANKL yolakları ile pulpa ekspozuna bağlı pulpa hasarı üzerindeki terapötik etkileri” adlı bu tez çalışması, 11/11/2022 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı, Adı Soyadı, İmza

Başkan: Doç. Dr. Sema AYDINOĞLU

Üye: Doç. Dr. Burak BULDUR

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ayça KURT

ETİK BEYAN

Çocuk Diş Hekimliği Uzmanlık Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Mineral Trioksit Agregatın ve Metilsülfonilmetanın runx2 ve OPG/RANKL yolakları ile pulpa ekspozuna bağlı pulpa hasarı üzerindeki terapötik etkileri” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır. Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Usul ve Esaslarına uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılacak bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

14 /11/2022

(İmza)

Yazarın Adı SOYADI

ÖN SÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve bu tez çalışmasının tüm aşamalarında bana bilgi ve deneyimleri ile destek olan değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayça KURT'a,

Eğitim programım boyunca bana tüm bilgi ve tecrübelerini içtenlikle aktaran değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Sema AYDINOĞLU ve Sayın Doç. Dr. İpek ARSLAN'a,

Tez kapsamında titizlikle gerçekleştirilen histolojik çalışmalar için Prof Dr. Levent TÜMKAYA ve Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE'ye,

Çalışmamda desteğini hissettiğim Sayın Dr. Öğr. Üyesi Atilla TOPÇU'ya

Dostlukları ile destek olan Sayın Arş. Gör. Ali Rıza SÜLEYMAN ve Sayın Arş. Gör. Yakup ATMACA, Sayın Arş. Gör. Umutcan DOĞAN'a, Arş. Gör. Yeşim DEMİREL'e

Sevgisi ve desteği ile hep yanımda olan hayatıma anlam ve önem katan Eda ÇOBANOĞLU'na

Berber anılar biriktirdiğimiz, iyi ve kötü günde yanyana olduğumuz bölümde çalışanların her birine,

Her an sevgileri ve destekleriyle yanımda olan, hayatımın tüm evrelerinde büyük özveriler ve fedakarlıklarla bugünlere ulaşmamı sağlayan, haklarını ödeyemeyeceğim Jale ATEŞ ve Gürsel ATEŞ'e,

Candan öte kardeşlerim Atamer ATEŞ ve Jalis ATEŞ'e,

Sonsuz teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	II
ETİK BEYAN	III
ÖN SÖZ	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	VIII
ABSTRACT.....	IX
KISALTMALAR	X
TABLolar LİSTESİ	XII
ŞEKİLLER LİSTESİ	XIII
RESİMLER LİSTESİ.....	XIV
GİRİŞ.....	1
1.GENEL BİLGİLER.....	3
1.1. Diş Dokuları.....	3
1.1.1. Mine Dokusu.....	4
1.1.2 Dentin Dokusu	4
1.1.3. Sement.....	7
1.1.4 Pulpa Dokusu	7
1.2 Kök hücreler	12
1.2.1 Dental pulpa kök hücreleri	12
1.2.2 Periodontal Ligament Kök Hücreleri	13
1.2.3 Dental Apikal Papilla Kök Hücreleri	13
1.2.4 Dental Follikül Prekürsör Hücreleri	13
1.2.5. Süt Dişlerinde Bulunan Kök Hücreler	14
1.2.6. Gingivada Bulunan Kök Hücreler.....	14
1.3. Pulpanın Cevap Mekanizması	14
1.3.1. Runt-Related Transcription Factor 2 (Runx2)	16
1.3.2. Nükleer Faktör-Kappa B Ligand Reseptör Aktivatörü (RANKL).....	17

1.4. Vital Pulpa Tedavisi.....	19
1.4.1. Kuafaj Çeşitleri	19
1.4.1.1. İndirekt Kuafaj.....	20
1.4.1.2. Stepwise Tekniği.....	20
1.4.1.3 Direkt Pulpa Kuafajı.....	21
1.4.2. İdeal Bir Kuafaj Materyalinde Bulunması Gereken Özellikler	22
1.4.3. Pulpa kuafajında kullanılan restoratif materyaller	22
1.4.3.1. Kalsiyum Hidroksit.....	23
1.4.3.2. Mineral Trioksit Agregat (MTA).....	24
1.4.3.3. Metilsülfonilmetan (MSM).....	26
1.5. Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar	28
1.5.1. MTA ile Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar.....	28
1.5.2. MSM ile Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
2.1. Çalışma Etik Onayı.....	31
2.2. Çalışma için gerekli Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) desteğinin alınması	31
2.3. Deney Hayvanlarının Seçilmesi ve Barınması.....	31
2.4. Deney Grupları.....	32
2.5. Materyal Seçimi.....	33
2.6. Deney Hayvanlarına Yapılan Dental Uygulamalar	33
2.7. Histopatolojik Doku Takibi.....	36
2.8. İmmünohistokimyasal Doku Takibi	38
2.9. Semi-Kantitatif Analizler	40
2.10. İstatistiksel Analiz	42
3. BULGULAR.....	43
3.1. Histopatolojik Bulgular	43
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	44
3.2.1. RANKL pozitivitesi	44
3.2.2. RUNX2 pozitivitesi.....	45
4. TARTIŞMA	78
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	85
KAYNAKÇA.....	86
EKLER	104

ETİK KURUL KARARI.....106



Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Uzmanlık Eğitim Programı

Anabilim Dalı: Çocuk Diş Hekimliği

Tez Türü: Uzmanlık Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ayça Kurt

Hazırlayan: Dt. Altar Ateş

Yıl: 2022

Sayfa Sayısı: 106

ÖZET

Mineral Trioksit Agregat ve Metil Sülfonil Metanın RUNX2 ve OPG/RANKL Yolakları ile Pulpa Ekspozuna Bağlı Pulpa Hasarı Üzerindeki Terapötik Etkileri

Amaç: Bu çalışmanın amacı; Mineral Trioksit Agregat (MTA) ve Metil Sülfonil Metanın (MSM), ile pulpa ekspozuna bağlı pulpa hasarı üzerindeki terapötik etkilerini RUNX2 ve OPG/RANKL yolakları ile belirlemektir.

Kapsam: Çalışma için 72 adet ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 4-6 aylık erkek Sprague Dawley cinsi ratlar kullanıldı. Ratlar, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi

Gereç ve Yöntem: Ratlar, sağlıklı çalışma grubu, kontrol grubu, MTA grubu ve MSM grubu olarak 4 gruba ayrıldı. Sağlıklı çalışma grubuna hiçbir işlem yapılmadı. Kontrol grubundaki ratlarda sağ ve sol maksiller 1. azı dişlerinin pulpası ekspoz edildi ve cam iyonomer siman (CİS) ile kapatıldı. MTA ve MSM gruplarında ise ratların maksiller azı dişlerine pulpa ekspozu yapıldıktan sonra materyaller yerleştirildi ve CİS ile kapatıldı. Ratlar 2, 4 ve 8. hafta olmak üzere 3 farklı zamanda sakrifiye edildi ve histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeye alındı. Semi-kantitatif analizler sonucu elde edilen veriler SPSS 20 (IBM, USA) istatistik programı kullanılarak Shapiro-Wilk test, Q-Q plot, Skewness-Kurtosis değerleri ve Levene testleri yapılarak değerlendirildi. Parametrik olmayan veriler ortanca-25% ve %75'lik çeyrekler açıklığı şeklinde hesaplanarak Kruskal Wallis ve bunu takiben Tamhane T2 test ile değerlendirildi. p değeri <0.05 anlamlı olarak seçildi.

Bulgular: Yapılan çalışmamızda kontrol 4. hafta grubunda ve kontrol 2.hafta grubunda benzer olarak odontoblastlarda nekrozis, pulpada ödem, polimorf nükleuslu lökositler (PMNL) ve vasküler konjesyonlar izlendi. Bunun aksine, kontrol 8. hafta grubunda nekrotik odontoblastlarda azalma, diş pulpasında ödematöz alanlarda PMNL ve vasküler konjesyonlarda azalma olduğunu saptandı. MTA tedavi grupları ve MSM tedavi grupları arasında odontoblastlarda gözlemlenen nekrozis, diş pulpasında gözlemlenen ödem, inflamasyon ve vasküler konjesyon bulguları göz önüne alınıp histolojik hasar skoru (HHS) hesaplandığında, MTA 2. ve 4. hafta gruplarının benzer olduğu HHS skorları bakımından sadece MSM 8. hafta grubunda azalma olduğu izlendi. Odontoblastik aktivitenin RANKL ve Runx2 pozitivitesini artırarak çene kemiği dokusunun kendisini rejenere ettiği gözlemlendi. MTA ve MSM tedavilerinin ise pulpotomi sonrası gelişen çene kemiği dokusu hasarını RANKL ve Runx2 pozitivitesini artırarak sekizinci haftadan dördüncü haftaya kadar hızlandırdığı saptandı. Bunun yanında MSM tedavisinin sekizinci hafta MTA tedavisine kıyasla çene kemiği doku hasarını daha iyi rejenere ettiği saptandı.

Sonuç: Çalışmanın limitasyonları dahilinde elde edilen bulgulardan yola çıkarak pulpa ekspozu sonrası pulpa kapaklamasında kullanılan MSM materyalinin pulpa üzerindeki anti-inflamatuvar özellik ve pulpa hasarındaki rejenerasyon yeteneği açısından MTA materyaline göre daha başarılı sonuçlar gösterdiği elde edildi. Konu ile ilgili daha farklı histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler ve deney ortamları ile daha ileri çalışmalar yapılmasının daha kapsamlı sonuçlar doğuracağı öngörülmektedir.

Anahtar kelimeler: Dental pulp, Methyl Sulfonyl Methane, Mineral Trioxide Aggregate, RUNX2, OPG/RANKL

Recep Tayyip Erdogan University, Faculty of Dentistry Master's Program
Department : Pediatric Dentistry
Thesis Type : Master's Thesis
Supervisor : Assist. Prof. Ayça Kurt
Author : Dt. Altar Ateş
Year : 2022

ABSTRACT

Therapeutic Effects of Mineral Trioxide Aggregate and Methyl Sulfonyl Methane on RUNX2 and OPG/RANKL pathways and Pulp Damage Due to Pulp Exposure

Purpose: The aim of this study; To determine the therapeutic effects of Mineral Trioxide Aggregate (MTA) and Methyl Sulfonyl Methane (MSM) on pulp damage due to pulp exposure by RUNX2 and OPG/RANKL pathways.

Scope: For the study, 72 male Sprague Dawley rats weighing between 250-300 grams, 4-6 months old, were used. Rats were obtained from Recep Tayyip Erdogan University Medical Experimental Application and Research Center.

Materials and Methods: The rats immobile with intraperitoneal anesthesia were divided into 4 groups as the healthy study group, control group, MTA group and MSM group. No procedure was applied to the healthy study group, and the pulp of the right and left maxillary first molars in the control group was exposed and sealed with glass ionomer cement (CIS). In MTA and MSM groups, after pulp exposure was performed on the maxillary molars of the rats, appropriate materials were placed and closed with CIS. Rats were sacrificed at 3 different times, at 2nd, 4th and 8th weeks, and were taken into histopathological and immunohistochemical examinations. Shapiro-Wilk test, Q-Q plot, Skewness-Kurtosis values and Levene tests were applied to the data obtained as a result of semi-quantitative analyzes using SPSS 20 (IBM, USA) statistical program, and the conformity of the data to the normal distribution was evaluated. Non-parametric data will be calculated as median-25% and %75 interquartile range and evaluated with Kruskal Wallis followed by Tamhane T2 test. p value <0.05 was chosen as significant.

Results: Based on the findings obtained within the limitations of our study, it was found that MSM material used in pulp capping after pulp exposure showed more successful results than MTA material in terms of anti-inflammatory properties on the pulp and regeneration ability in jaw bone damage. It is anticipated that further studies with different histopathological and immunohistochemical analyzes and experimental environments on the subject will yield more comprehensive results.

Conclusion: Based on the findings obtained within the limitations of our study, it was found that MSM material used in pulp capping after pulp exposure showed more successful results than MTA material in terms of anti-inflammatory properties on the pulp and regeneration ability in jaw bone damage. It is anticipated that further studies with different histopathological and immunohistochemical analyzes and experimental environments on the subject will yield more comprehensive results.

Keywords: Mineral Trioxide Aggregate, Concentrated Growth Factor, pulpotomy, inflammatory response

KISALTMALAR

%	: Yüzde
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
BAP	: Bilimsel Araştırma Projesi
BGLAP	: Osteokalsin
Bi₂O₃	: Bizmut oksit
BMP	: Bone morfogenetik protein
BSP	: Kemik sialoprotein
CaO	: Kalsiyum oksit
CSF-1	: Monositif Stimulan Faktör
DFPCs	: Dental folikül prekürsör hücreleri
DMSO₂	: Dimetilsülfon
DPSCs	: Dental pulpa kök hücreleri
DSP	: Dentin sialoprotein
Glikozaminglikanlar	: GAG
HA/TCP	: Hidroksiapatit/trikalsiyum fosfat
HHS	: Histolojik Hasar Skorlaması
Inf-γ	: Inf-gama
IRM	: İnterim Rezin Materyal
K₂SO₄	: Potasyum sülfat
KH	: Kalsiyum hidroksit
LPS	: Lipopolisakkaritlerini
MgO	: Magnezyum oksit
MPP	: Matriks metalloproteinaz
MSC'ler	: Mezenkimal kök hücreleri
MSM	: Metilsülfonilmetan
MTA	: Mineral Trioksit Agregat
OH⁻	: Hidroksil
OPG	: Osteoprotegerin
OSCAR	: Osteoklast ile ilişkili reseptö

PDLSCs	: Periodontal ligament kök hücreleri
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
RANK	: RANKL Reseptörü
RANKL	: Nükleer Faktör-Kappa B Ligand Reseptör Aktivatörü
RMCİS	: Rezin modifiye cam iyonomer
S⁻²	: Kükürt
SCAPs	: Dental apikal papilla kök hücrelerinin
SHED	: Süt dişlerinde bulunan kök hücreler
SPP1	: Osteopontin
TG-2	: Transglutaminaz-2
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
TRANCE	: TNF ile ilişkili aktivasyonla indüklenen sitokin
TRAP	: CD40 ligand
ZOE	: Çinko oksit ojenol

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Deney hayvanlarına verilen standart pelet rat yeminin içeriği	32
Tablo 2. Histolojik doku takip aşamaları	37
Tablo 3. İmmunohsitokimyasal Doku Takibi.....	39
Tablo 4. Histolojik Hasar Skorlaması	41
Tablo 5. Semikantitatif Analiz.....	42
Tablo 6. Histopatolojik Hasar Skorlaması Sonuçları.....	47
Tablo 7. Semi-kantitatif Analiz Skorlaması.....	48



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Runx2 geninin farklılaşmadaki rolü [75].....	17
Şekil 2 RANK/RANKL/OPG sistemi [82].....	18
Şekil 3. Metilsülfonilmetanın kimyasal yapısı	26



RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Anestezi uygulanmış rat.	33
Resim 2. Çalışma alanın hazırlanması.....	34
Resim 3. Pulpa perforasyonunun değerlendirilmesi.....	34
Resim 4. Perforasyon alanına pulpa kapaklama materyalinin yerleştirilmesi	35
Resim 5. Dişin restorasyonunun tamamlanması.....	36
Resim 6. H+E ile boyanmış kontrol 2. Hafta grubuna ait kesitlerin maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.	49
Resim 7. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	50
Resim 8. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	51
Resim 9. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	52
Resim 10. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	53
Resim 11. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	54
Resim 12. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	55
Resim 13. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	56
Resim 14. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	57
Resim 15. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait ışık mikroskopik resmi.....	58
Resim 16. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait ışık mikroskopik resmi.....	59
Resim 17. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait ışık mikroskopik resmi.....	60

Resim 18. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait ışık mikroskopik resmi.....	61
Resim 19. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	62
Resim 20. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	63
Resim 21. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	64
Resim 22. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	65
Resim 23. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	66
Resim 24. RANKL primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	67
Resim 25. RUNX2 primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	68
Resim 26. RUNX2 primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	69
Resim 27. Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.	70
Resim 28. RUNX2 primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	71
Resim 29. RUNX2 primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	72
Resim 30. RUNX2 primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	73
Resim 31. RUNX2 primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	74
Resim 32. RUNX2 primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	75
Resim 33. RUNX2 primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.....	76

Resim 34. RUNX2 primer antikoru ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskobik resmi..... 77



GİRİŞ

Vital pulpa, kan dolaşımı ve sinir innervasyonu ile donatılmaktadır. Bağışıklık sisteminin hücresel ve hümorale bileşenleri kan dolaşımında bulunmaktadır. Pulpa hasar gördüğünde, kan dolaşımı, bir immüno-enflamatuar yanıt oluşturarak irritan ile mücadele etmek ve onu ortadan kaldırmak için immün bileşenleri derhal yaralanma bölgesine iletmektedir. Duyusal sinir lifleri ise kan akışını, yara iyileşmesini ve immün yanıtı düzenlemektedir (de Almeida Heilborn ve ark., 2011; Maxim ve ark., 2011). Ayrıca, pulpadaki pulpa kök/ progenitör hücreler, odontoblast benzeri hücrelere farklılaşarak reperatif (onarıcı) dentin üreterek pulpayı ileri yaralanmalardan korumaktadır (Bansal ve ark., 2017). Bu nedenle vital pulpa dokusunun mümkün olduğunca korunması, dişin uzun dönem prognozu açısından son derece önemlidir. Bu amaçla pulpal inflamasyonun geri dönüşümsüz bir hasar oluşturmadan durdurulması ve pulpanın canlılığını ve fonksiyonunu devam ettirmesini sağlamak için indirekt pulpa kuafajı, direkt pulpa kuafajı, parsiyel/total pulpotomi gibi vital pulpa tedavileri uygulanmaktadır.

Direkt pulpa kuafajı, mekanik veya travmatik nedenlerle açılmış pulpa dokusu üzerine doğrudan bir dental materyal yerleştirilerek pulpa ekspozunu örtülemek olarak tanımlanmaktadır. Bu tedavinin hedefi reperatif dentin oluşumunu uyararak açığa çıkan pulpayı ve rezidüel pulpa dokusunu korumak ve devamlılığını sağlamaktır. Bu tedavi prosedürü; travma veya diş preparasyonu nedeniyle açığa çıkan pulpanın tedavisinde endikedir (Delikan, 2018). Bu tedavilerin başarısını; doğru pulpal tanı, hastanın tıbbi hikayesi ve prosedürün doğru uygulanması gibi birçok faktör etkilemektedir ve en önemli kriterlerden biri uygun materyal kullanımınıdır.

Kalsiyum hidroksit (KH), vital pulpa tedavisi için uzun zamandır kullanılan bir materyaldir ve dentin köprüsü oluşumunu uyarma kabiliyetine sahiptir. Fibroblastları ve enzim sistemlerini uyarmaktan sorumlu olan yüksek alkali pH içeren KH, düşük pH asitlerini nötralize ederek antibakteriyel özellik göstermekte ve pulpa dokusunun savunma mekanizmalarını ve onarımını desteklemektedir (Aksoy, 2013). Ancak bu avantajlarının yanında, KH'nin dentine zayıf marjinal adaptasyonu ve zamanla rezorbe

olması uzun dönem prognozu için dezavantaj oluşturmaktadır (Kaptan & Çukurcu, 2020).

1990'ların ortasında Mineral Trioksit Agregat (MTA) pulpa kuafaj materyali olarak piyasa sürülmüştür. Bu materyal, sert doku oluşumuna hücreleri bir araya toplayıp aktive ederek reperatif dentinogenezi tetikler ve böylece matriks formasyonuna ve mineralizasyona katkıda bulmaktadır. Ayrıca, progenitör hücrelerin merkezi pulpadan yaralanma bölgesine göçünü, proliferasyonunu ve odontoblast benzeri hücrelere farklılaşmasını teşvik etmektedir (M. Parirokh & M. Torabinejad, 2010). Dentin-pulpa kompleksinin yara onarımına aracılık eden sitokinler ve büyüme faktörleri ekstraselüler matrikste toplanmıştır ve MTA, bu büyüme faktörlerinin ve çevreleyen dentin matriksine gömülü sitokinlerin salımını sağlayarak onarıcı sert doku oluşumunu uyarmaktadır (Cox ve ark., 1982; T. W. Pearson ve ark., 1981) .

Dimetilsülfon (DMSO_2) ve Metilsülfon olarak da bilinen Metilsülfonilmetan (MSM), çeşitli meyvelerde, sebzelerde, tahıllarda ve hayvanların yapısında doğal olarak bulunan organik bir kükürt (S^{-2}) bileşimidir. Beyaz, kokusuz, hafif acı tatta, kristal yapıdaki bu bileşiğin %34'ünü element halindeki S^{-2} oluşturmaktadır. Metilsülfonilmetanın etki mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik çalışmalar 1980'li yılların başına dayanmaktadır. 1980'li yılların başından günümüze kadar yapılmış olan tüm bu çalışmalar, MSM'nin etki mekanizmasında antioksidan kimliğinin yanı sıra farklılaşma, proliferasyon ve inflamasyon gibi süreçlerdeki rolünün de önemli fonksiyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak MSM'nin biyolojik yolaklardaki etkilerinin araştırıldığı bu çalışmaların hiçbirinde MSM'nin pulpa dokusu üzerindeki mekanizmaları belirlenmemiştir. Bu çalışmada, MSM ve MTA'nın pulpal iyileşmedeki rolünün RUNX2, OPG ve RANKL antikorumları ile tespiti ve pulpa ekspoz tedavisinde alternatif materyal kullanımı için sonraki çalışmalara ışık tutulması amaçlanmıştır.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Diş Dokuları

Gastrointestinal sistemin başlangıcında önemli bir yere sahip olan, kron bölümü ve kök bölümü olmak üzere iki bölümden oluşan dişler ağız içerisindeki bölümünü temsil eden kron bölümünü vücudumuzdaki en mineralize doku olarak bilinen mine dokusu örtülmektedir. Yalnızca kron bölümünde bulunan mine dokusu, ameloblastların sentezlediği organik matriksin kalsifiye olması sonucunda üretilmektedir (Boushell & Sturdevant, 2014; Zhou & Zheng, 2008) . Kron bölümünde ve kök bölümünde bulunan, ayrıca dişin sert dokuları içerisinde hacimce en fazla bölümünü oluşturan dentin dokusu ise odontoblastların salgıladığı kolajence zengin organik matriksin kalsifikasyona uğraması ile oluşmaktadır. Dentinin asıl vazifesi, pulpal dokuyu korumak ve mine dokusu için ise destek sağlamaktır. Sadece kök bölümünde yer alan sement ise, dental yapının bir diğer kalsifiye dokusudur ve mine ile dentinden daha az mineral yapısı içermektedir (Boushell & Sturdevant, 2014; Özçobanoğlu & Durutürk, 2013).

Pulpa dokusu ektomezenşim ve nöral krest hücrelerinden oluşturulan gevşek bir bağ dokusudur (Özçobanoğlu & Durutürk, 2013). Pulpa ve dentin yapı kompozisyonlarında farklılıklar görülmesine rağmen birbirleriyle çok yakın ilişkiindedirler. Birinde oluşan fizyolojik ve patolojik reaksiyonların diğerini etki altında bırakmasından dolayı bu dokuları birlikte değerlendirmek önemlidir. Bu iki dokunun dentin-pulpa kompleksi adıyla incelenmeleri daha doğru bir yaklaşım biçimidir (Boushell & Sturdevant, 2014; Goldberg & Lasfargues, 1995; Özçobanoğlu & Durutürk, 2013; Pashley & Liewehr, 2006) .

1.1.1. Mine Dokusu

Mine vücudun ektodermal tabakasından kaynak alan ameloblast hücreleri tarafından oluşturulan, canlı olmayan, hücre bulundurmeyen bir sert dokudur. Dişin en dış tabakasını oluşturur. Mine yarı saydam (translütent) renksiz bir dokudur. Mine içeriği hacimce %88 inorganik, %2 organik ve %10 su ve diğer maddelerden oluşur. Minenin inorganik yapısının büyük bölümünü hidroksiapatit kristalleri oluşturmaktadır. Bu hidroksiapatit kristalleri komşu kristallerden mikro düzeyde boşluklarla ayrılır, bu boşluklar su ve organik yapı ile doludur. Bu yüzden minenin mikroporlu bir yapıya sahip olduğu düşünülebilir. Mine yarı geçirgen bir dokudur, bu özelliğinden dolayı bazı moleküllerin tamamının veya bir kısmının difüzyon yoluyla geçişine izin verir (Li & Risnes, 2004).

1.1.2 Dentin Dokusu

Dişin büyük bir bölümü kolajen esaslı, mineralize bir doku olan dentinden oluşmaktadır (Kagayama ve ark., 1999) . Dentinin, hacimce yaklaşık olarak % 50'si hidroksiapatit mineralinden, %30'u önemli ölçüde tip I kolajeni içinde bulunduran organik maddeden oluşmaktadır; geriye kalan %20'lik bölüm ise plazmaya benzeyen sıvıdır. Bu sıvı "dentin lenfi" olarak adlandırılmaktadır (Marshall Jr ve ark., 1997). Dentin dokusu hem süt hem de sürekli dişler için morfoloji ve histolojik yapısı bakımından benzer olup, prenatal ve postnatal olmak üzere iki ayrı tabakadan oluşmaktadır. Postnatal dentinin prenatal dentine göre daha az yoğun ve daha az pöröz bir yapısının olduğu belirtilmektedir (Özçobanoğlu & Durutürk, 2013; Sumikawa ve ark., 1999).

Primer Dentin

Diş yapısının gelişimi esnasında oluşturulan dentin tipi olan primer dentinin oldukça büyük kısmı diş henüz sürmeden önce oluşmaktadır (Pashley & Liewehr, 2006).

Dentin tübülleri odontoblast hücrelerinin primer dentini meydana getirmesinin ardından dişin sürmesi esnasında da dentin yapımına devam etmektedir. Dentin yapımına devam ederken dentinin içerisine uzantılarını bırakmaları sonucunda dentin tübülleri oluşmaktadır. Odontoblastik uzantıların dentinin tübüler yapısının içinde bulunması bu dentinin canlı bir doku olduğunu göstermektedir (Sumikawa ve ark., 1999).

İnterglob ler Dentin

Organik matriksin mineralize olmadan kalması sonucu mineralize olan globüllerin birbirleriyle tam olarak birleŐemediĐi alanlarda görülmektedir. Bu birleŐememiŐ alanlar interglob ler dentin olarak adlandırılmaktadır. İnterglob ler dentinin postnatal dentine ait bir yapısal özellik olduğu belirtilmektedir.(Pashley & Liewehr, 2006)

Predentin

Odontoblast tabakası ve mineralize olmuş dentinin aralarında bulunan kısım predentin olarak adlandırılmaktadır. Predentin tip 1 ve tip 2 primer kolajenden oluŐmuŐ bir makromoleküler yapıya sahiptir. Bu predentin tabakası, süt diŐlenmede dişlerin kökün orta üçlüsüne doğru azalma eğilimi gözlenmektedir. Apikal bölgede ise predentin gözlenmemektedir (Fox & Heeley, 1980).

Sekonder Dentin

Primer dentinin yapımı tamamlandıktan itibaren yapılmaya başlayan ve fizyolojik olarak dişin canlılığı devam ettikçe yapımına devam edilen dentin sekonder dentini oluşturmaktadır. Sekonder dentinin büyük bölümü dıŐsal etkenler sonucunda üretilmektedir. Fizyolojik bir uyarı olarak yaŐlanmanın sonucunda düzenli bir Şekilde pulpal duvarlarda tübüler yapıda olarak depolanmaktadır. (Morse, 1991)

Tersiyer Dentin

Tersiyer dentin; çürük, restoratif işlemler, kimyasal temas ve travma gibi çeşitli uyaranlara cevap olarak lokalize olarak oluşan bir savunma dentinidir. Tersiyer dentin; irregüler dentin, reaksiyonel, tamir ve irritasyon dentini olarak adlandırılmaktadır. Pulpa odasında uyarılan bölgeye bakan iç bölümünde oluşmaktadır (Morse, 1991). Düzenli olmayan bir şekilde tübül içeren veya içermeyen tarzda, daha az kalsifiye olmuş bir biçimde depolanmaktadır. Uyaranların şiddeti arttıkça odontoblast hücre fonksiyonları bozulabilmektedir. Bunun sonucunda daha düzensiz ve daha az hacimde tamir dentini oluşmaktadır. Uyarının şiddetinin çok fazla arttığı durumlarda odontoblast hücreleri canlılığını kaybedebilmekte ve reperatif dentin oluşturamamaktadır (Cox ve ark., 1992).

Dentin Tübülleri

Dentin tübülleri odontoblastların uzantılarının çevresinde şekillenmektedir. Pulpa dentin sınırından başlayarak sement ve mine birleşimine uzanmaktadır. Tübüllerin sayısı dentinin farklı bölgelerinde sayı olarak farklılık göstermektedir. Tübülleri sayısı ve çapı pulpadan perifer alanlara doğru gidildikçe azalmaktadır. Pulpal yüzeye bakan tübüllerin çapı yaklaşık olarak 3 µm iken, dentinin dış yüzeyinde tübüllerin çapı iki kata kadar azalmaktadır (Garberoglio & Brännström, 1976). Tübüllerin içerisinde odontoblast uzantısı ve dentin lenfi bulunmaktadır. Dentin lenfi albümin, immunglobulin G, transferrin, tenascin ve proteoglikan gibi kompleks proteinleri içeriğinde bulundurmaktadır (Demirci ve ark., 2014; Embery ve ark., 2001; Linde & Goldberg, 1993). Dentin duyarlılığının en önemli etkeni tübüllerin içindeki lenf sıvısının odontoblastlardan dışarıya doğru yaptığı ve odontoblastların mekanoreseptör gibi davrandığını gösteren harekettir (Mjör & Ferrari, 2002).

Sirkumpulpal Dentin

Dentinin tübül yapısını çevreleyen, pulpaya doğru sıklaşan peritbller ve intratübüler dentin tiplerden meydana gelen dentin grubu sirkumpulpal dentin olarak adlandırılmaktadır (Kinney ve ark., 1996; Pashley, 1989).

1.1.3. Sement

Sement damarsal yapı içermeyen, diş kökünün çevresini örten, mezenşimal kökenli kalsifiye bir doku olarak bilinmektedir. Sementin sinirsel innervasyonu bulunmamaktadır. Sement dokusu kök yapısının dış kısmında yığılma şeklinde birikmekte olup, remodelling ve rezorpsiyon göstermemektedir. Sement hücreli ve hücresiz sement olmak üzere iki şekilde görülmektedir. Hücresiz sement kökün krona yakın kısımlarında görülürken aynı zamanda periodontal lifleri köke bağlanmasında sağlamaktadır. Hücreli sement ise kökün u kısımlarını kaplar ve dişin ortodontik hareketine izin vererek, üzerine gelen mekanik gleri tamponlayabilmektedir. Kalınlıkları bakımından incelediğinde hücreli sementin hücresiz semente oranla daha kalın olduğu bildirilmiştir. Ancak hücresiz sementin mineralizasyonu daha fazladır.

1.1.4 Pulpa Dokusu

Pulpa; dişin merkezinde konumlanmış, çevresi dentin ile çevrili bir bağ dokusudur (Pinkham ve ark., 2005). Pulpanın görevleri arasında embriyonel dönemde dentin dokusunu üretmek, dişin sürmesi sonrasında da dentinin vitalitesini hassas bir uyarı mekanizması olan ağrı mekanizması sayesinde korumak yer almaktadır(Demarco ve ark., 2011).

Pulpa, içeriği ile bir takım görevlerde rol almaktadır (Pashley, 1996).Bunlar;

Nutritif fonksiyon: Pulpa ve dentin yapısının beslenmesini içerdiği kapiller aę ile sağlamaktadır.

Defansif Fonksiyon: Odontoblast hücrelerinin yaralanması sonucunda pulpa – dentin kompleksi savunma oluşturmaktadır.

Sinirsel fonksiyon: Nervus Trigemusun dallanmaları pulpanın duyu sinirlerini oluşturmaktadır. Motor sinirleri ise otonom sinir sistemde sempatik kısımdan kaynak almaktadır.

Formatif fonksiyon: Diş yapısı canlı olduğu süre boyunca dentin oluşturabilmektedir. Dentin oluşturarak erozyon ve çürük nedeniyle pulpal perforasyonu önleyerek savunma fonksiyonunu desteklemektedir (Pashley, 1996).

Pulpanın tabakaları

Odontoblastik Tabaka: Odontoblast hücrelerinin gövdeleri tarafından oluşturulmaktadır. Bu hücrelerin sitoplazmadan çıkan uzantıları dentinin tübülerine kadar erişmektedir (Garg & Garg, 2010a; Pinkham ve ark., 1999).

Hücreden Fakir Tabaka: Bu tabaka odontoblastik tabakanın altında yer almaktadır. İçeriğinde kapiller damarlar ve miyelin içermeyen sinir liflerinin birlikte oluşturduğu bir sinir ağı bulunmaktadır (Garg & Garg, 2010a; Pinkham ve ark., 1999).

Hücreden Zengin Tabaka: Hücreden zengin tabakanın içeriğinde fibroblast hücreleri ve farklılaşmamış mezenşimal hücreler bulunmaktadır. Bu mezenşimal hücreler hasar durumunda proliferere olabilmektedir, farklılaşarak odontoblast benzeri hücrelere dönüşmektedir (Garg & Garg, 2010a; Potdar & Jethmalani, 2015).

Santral Pulpa Tabakası: Pulpanın en iç tabakasıdır. Bu tabaka pulpa özü olarak da ifade edilmektedir. Santral pulpa tabakası; büyük kan damarları, sinir lifleri ve pleksuslar içermektedir. Pulpada bulunan sinir lifleri arasında proprioseptif sinir lifleri bulunmamaktadır (Pashley & Liewehr, 2006). Pulpanın sinir liflerinden iki tanesi ağrı iletiminden sorumludur. Bunlar A delta lifleri ve C lifleridir. A delta lifleri miyelin içermektedir. Miyeline sahip olduğundan dolayı ani, keskin ve geçici ağrıdan sorumlu olmaktadır. Miyelin içermeyen C lifleri ise daha yavaş sinirsel iletim yaparlar. Künt ve şiddetli ağrıdan sorumlu tutulmaktadırlar (Garg & Garg, 2010b; Holland & Torabinejad, 2008).

Pulpanın Histolojik Yapısı

Pulpa dokusu; hücreler, ekstrasellüler matriks, kan damarları, lenfatikler ve sinirlerden oluşan bir kompleks yapıdır. Pulpanın hücresel yapısını; odontoblast hücreleri, fibroblastlar ve makrofajlar, dentritik hücreler, polimorf hücreli lökositler, mast hücreleri, mezenşim hücreleri oluşturmaktadır (Özçobanoğlu & Durutürk, 2013).

Dentin-pulpa kompleksinde bulunan en önemli hücrelerden biri odontoblastlardır. Çünkü hem dişin gelişimde hem devamında süregelen dentin formasyonundan sorumlu olmaktadır. Pulpanın en dış bölgelerinde bulunmaktadır. Prendentinden gevşek bağ dokusu yapısındaki pulpayı ayırmaktadır. Koronal pulpaya doğru uzun ve silindirik bir şekil alan bu hücreler özellikle pulpa boynuzlarında çok sayıda olmalarından dolayı yalancı çok katlı bir görünüm almaktadır. Odontoblastların uzunlukları birbirlerinden farklı uzunluklarda olup çekirdekleri de farklı seviyede bulunmaktadır. Olgunlaşmış kron pulpasında genellikle daha silindirik bir şekilde bulunmaktadır. Kök pulpasında daha az tübül yapısı bulunmaktadır. Bu nedenle odontoblast hücreleri daha geniş alanlara yayılmakta ve apikal foramene doğru giderek yassılaşmaktadır (Marion ve ark., 1991).

Hücrelerin arasında yaklaşık olarak 30 ile 40 µm kadar küçük boşluklar ve komşuluğundaki odontoblast hücreleri ile bağlantıyı sağlayan özelleşmiş yapılar bulunmaktadır. Bunlar desmozomlar, geçirgen (gap junction) ve sıkı bağlantılardır (tight junction) (Bishop & Yoshida, 1992). Bu hücreler arası bağlantıların primer dentinin oluşumu sırasında arttığı gözlenmektedir.

Konneksin proteinleri tarafından geçirgen bağlantılar oluşturulmaktadır. Bu bağlantılar hücreden hücreye küçük moleküllerin taşınmasına izin vermektedir. Bu moleküllerin, odontoblastları aktive ederek yeni matriks salgılanmasını ve mineralizasyonu sağladıkları düşünülmektedir. Bu bağlantıların primer dentin üretimi esnasında arttığı gözlenmektedir. Sıkı bağlantıların ise sıklıkla odontoblast

hücrelerinin apikal bölgesinde yer aldığı görülmektedir. İntersellüler alandan herhangi bir molükül veya sıvının geçişini engellemektedir (Pashley & Liewehr, 2006).

Ayrıca dişin reperatif yeteneği, yüzeysel çürük lezyonlarının odontoblastik hücreleri salgılama etkinliğini arttıracak biçimde stimüle edilmesi olarak belirtilmektedir (Smith ve ark., 2008). Şayet uygun ortam oluştursa odontoblast hücreleri primer ve sekonder dentine nazaran daha az mineralize olmuş reaksiyoner tersiyer dentini oluşturmaktadır (Nakashima & Akamine, 2005). Oluşturulmuş olan bu yeni dentin pulpayı bakterilere ve onların ürünlerine karşı korumaktadır.

Pulpanın yapısında en çok sayıda bulunan hücre fibroblastlardır. Fibroblastlar jelatin yapısında bulunan hücrelerarası matriksin yapımından sorumlu tutulmaktadır. Bu hücreler tip I ve tip III kollajenin dışında proteoglikanları, fibronektinleri ve GAG (glikozaminglikanları) sentezlemektedir. Fibroblastlar matriks proteinlerinin üretiminin dışında pulpadaki kollajen yıkımından da sorumludur. Sağlıklı genç Fibroblastların odontoblast hücrelerine farklılaşabilmesi sebebiyle pulpanın vitalitesini sağladığı kabul edilmektedir. Ayrıca pulpadaki kollajen liflerin sayıca artışının fibroblast sayısındaki azalmayla beraber paralel olduğu görülmektedir. Fibroblastların pulpada boylu boyunca yayıldığı ve özellikle subodontoblastik tabakanın altındaki hücreden zengin tabakada buldukları görülmektedir (Pashley, 1996).

Monosit ve lenfositlerden farklılaşarak kan dolaşımı ile pulpaya katılan makrofajlar, dokulara girip histiyositlere dönüşüm göstermektedir. Kan sirkülasyonu ile monosit ve lenfositlerden farklılaşarak pulpanın yapısına katılmaktadır (Greeley, 1981).Genellikle kan damarlarının çevresinde bulunmaktadır. Makrofaj hücreleri aktif olarak fagositoz ve endositoz yapmaktadır. Aktif olarak fagositoz yapan makrofajların fagositte ettiklerinin parçalanması lizozomal enzimler tarafın yapılmaktadır (Pashley, 1996). Fagositoz yapmayan makrofajlar ise antijenleri tanımakta ve aldıkları antijenleri lenfositlerin bir alt kümesi olan T hücrelerine sunarak savunma sisteminde görev almaktadır (Okiji ve ark., 1992; Pashley, 1996).

Dendritik hücreler antijen sunan hücreler olarak da adlandırılmaktadırlar. İmmün sistemin yardımcı hücreleridir (Pashley, 1996). Çoğunlukla lenfoid dokularda bulunurlar ancak vücutta geniş bir yayılım göstererek pulpa dahil olmak üzere tüm bağ dokularına dağılmıştır. Dendritik hücreler sitoplazmik uzantılara ve antijen taşıyıcı bir kompleks olan MHC sınıf 2 moleküllerine sahiptir. Bu hücrelerin bir kısmı pulpada odontoblast takasına yakın olarak bulunmaktadır ve sitoplazmik uzantılarını dentin tübüllerinin içerisine kadar uzatmaktadır. Diğer bir kısmı ise pulpanın orta kısımlarında konumlanmıştır. Sayıları pulpal inflamasyon sırasında artmaktadır (Mjör ve ark., 2001). Bu hücrelerin lenfositlerin bir alt kümesi olan T hücrelerini indükte ettiği bilinmektedir (Pashley, 1996).

Lenfositler, sağlıklı bir pulpanın, immün cevabı başlatması için gerekli olan makrofaj ve dendritik hücrelerin yanı sıra hücrel immünite bakımından T-lenfositlere sahip olması açısından önem taşımaktadır (Jontell ve ark., 1998; Sakurai ve ark., 1999). B-lenfositler az sayıda görülürken, polimorfonükleer lökositler ise ender olarak sağlıklı pulpada görülmektedir (Mjör ve ark., 2001; Rapp ve ark., 1977).

Mast hücreleri bağ dokuda bilhassa kan damarları ile ilişki içinde bulunarak küçük kümeler şeklinde bulunmaktadır. Kronik inflamasyonlu pulpa dokusunda sıkça bulunurken, sağlıklı pulpada seyrek olarak görülmektedir (Sakurai ve ark., 1999). İnflamasyonda önemli rolleri bulunmaktadır. İnflamatuar cevapta büyük önem arz eden bu hücrelerin granülleri heparin ve histamin gibi farklı inflamatuvar mediyatörler içermektedir (Pashley, 1996).

Diferansiye olmamış mezenşimal hücreler, ışık mikroskobu altında yıldız şeklindeki hücrelerdir. Fibroblastlardan bu hücreleri mikroskop altında ayırmak oldukça güçtür. Farklılaşma kapasiteleri ile ihtiyaç halinde odontoblastlara, fibroblastlara, makrofajlara ve osteoklastlara farklılaşabilmektedir. Pulpa yaşlandıkça bu hücreleri sayısı azalmaktadır. Buna bağlı olarak pulpanın rejenerasyon kapasitesinin de azaldığı öngörülmektedir (d'Souza ve ark., 1995; Özçobanoğlu & Durutürk, 2013).

1.2 Kök hücreler

Kök hücreler kendilerini bölünerek yenileyebilen, indeferansiye hücrelerdir. Kaynak aldığı dokuların özelleşmiş hücre tiplerine dönüşerek öncüsüne benzemeyen farklı tipte hücreler oluşturmaktadır (Verfaillie ve ark., 2002). Vücudumuzda bulun tüm hücrelere dönüşebilecek kapasitede olan ilk embriyonel hücreye totipotent hücre denmektedir. Totipotent hücreler sınırsız farklılaşma özelliğine sahiptir (Peng ve ark., 2009). Döllenmenin yaklaşık 5. Gününde totipotent hücreler içinde boşlukları bulunan blastosist adı verilen hücre topluluklarına dönüştürmektedir. Blastosistin iç tabakasında bulunan bu hücreler (embriyoblastlar), endoderm, ektoderm ve mezodermden köken alan 250 farklı hücre tipine dönüşebilmektedir. Bu farklılaşma potansiyeline sahip hücrelere pluripotent hücre denmektedir. Fetal gelişim ilerledikçe hücreler bir miktar daha özelleşmektedir. Erişkin kök hücrelere dönüşmektedir. Bu hücreler buldukları dokunun hücre tiplerini üretirler. Bir miktar daha özelleşmiş halde bulunan bu hücrelere mutlipotent hücre denmektedir (Herzog ve ark., 2003).

1.2.1 Dental pulpa kök hücreleri

Dental pulpa kök hücreleri (DPSCs), ilk kez Gronthos ve arkadaşları tarafından henüz 21.yüzyılın başlarında insan dental pulpasından izole edilebilmiştir (Peng ve ark., 2009; Volponi ve ark., 2010) . Bu hücreler çeşitli hücre markerları ekspres etmektedir. Bu markerlar STRO-1, CD146 ve 3G5 olarak belirtilmektedir. DPSCs doğru koşullar altında adiposit, osteoblast, kondroblast, nöron, düz kas hücresi, iskelet kası hücresi ve odontoblast benzeri hücrelere farklılaşabilen yüksek klonojenik potansiyele sahip hücrelerdir (Pilbauerová & Suchánek, 2018; Volponi ve ark., 2010). In vivo bir çalışmada DPSCs immun sitemleri baskılanan farelerin deri altına hidroksiapatit/trikalsiyum fosfat (HA/TCP) birleşiminden oluşan bir yapı iskelesiyle enjekte edildiğinde, odontoblastlara dönüşerek dentin/pulpa benzeri bir yapıyı oluşturdukları gösterilmektedir (Gronthos ve ark., 2002).

1.2.2 Periodontal Ligament Kök Hücreleri

Periodontal ligament çeşitli hücre tiplerini içeren, kemik ve dişle olan bağlantısı değerlendirildiğinde tekrardan yapılması oldukça zor olan bir yapı olarak belirtilmektedir (Gronthos ve ark., 2002). Bir gen olan STRO-1 (+) hücreler periodontal ligamentte bulunmaktadır. Periodontal ligament kök hücreleri (PDLSCs) laboratuvar ortamında adipojenik, osteojenik ve kondrojenik fenotip kazanabilmektedir (Aydin & Şahin, 2019; Volponi ve ark., 2010).

1.2.3 Dental Apikal Papilla Kök Hücreleri

Diğer erişkin doku kaynakları ile kıyaslandığında Dental apikal papilla kök hücrelerinin (SCAPs), insan 3. molar dişinden kolayca elde edilebilen hücreler olduğu görülmektedir. İnsan kök hücre çalışmalarında alternatif bir hücre grubu olmaktadır. Dental apikal papilla kök hücreleri osteojenik, odontojenik, nörojenik, adipojenik, kondrojenik ve hepatojenik hücre çeşitlerine dönüşebilme yeteneğine sahiptir. Dental apikal papilla kök hücreleri yüksek bölünme kapasitesine sahiptir ve dişlerin gelişiminde PDLSCs'den çok daha etkilidir. Dental apikal papilla kök hücreleri dentin dokusunun rejenerasyonunda DPSCs'a göre daha fazla bir kapasiteye sahiptir. Çünkü dental papilla hücreleri, olgun pulpa ile kıyaslandığında daha çok miktarda erişkin kök hücreye sahiptir (Volponi ve ark., 2010; Zhai ve ark., 2019).

1.2.4 Dental Follikül Prekürsör Hücreleri

İnsanlarda 20 yaş dişinin dental foliküllerinden elde edilebilen dental folikül prekürsör hücreleri (DFPCs) laboratuvar ortamında osteoblast benzeri hücelere dönüşebilmektedir. DFPCs de farklılaşabilme kapasitesine sahip olmakla birlikte mineralize alanlar oluşturabilmektedir. Mezenkimal kök hücrelerin protein markeri için bir gen olan STRO-1 eksprese eder. DFPCs sementoblastlar, kondrositler ve adipositler oluşturabilecek progenitör hücelere sahiptir (Volponi ve ark., 2010; Zhai ve ark., 2019).

1.2.5. Süt Dişlerinde Bulunan Kök Hücreler

Keser dişlerin pulpa dokusundan süt dişlerinde bulunan kök hücreler (SHED) elde edilebilmektedir. Bu hücrelerin yüksek farklılaşabilme kapasitesine sahip oldukları bilinmektedir. SHED nöronlara, adipositlere, osteoblastlara ve odontoblastlara farklılaşabilmektedir. İlaveten bu hücreler dentin ve kemik oluşumunu sağlamaktadır (Volponi ve ark., 2010). Süt dişlerinde bulunan kök hücreler daimi dişlerden alınan kök hücrelere kıyasla daha yüksek bölünme oranına sahiptir ve in vitro olarak çoğaltılmaları daha pratik olmaktadır (Peng ve ark., 2009).

1.2.6. Gingivada Bulunan Kök Hücreler

Gingivanın mezenşimal kökenli kök hücreleri hem mezenkimal kök hücre markırlarını hem de ekstrasellüler matriks proteinlerini sentezlemektedirler. Zhang tarafından izole edilen bu kök hücrelerin kendilerini yenileyebildiği ve farklılaşabildiği belirtilmektedir (Zavan & Bressan, 2016). Vücudumuzda bulunan lenfositlerin bölünmesini baskılaması, inflamasyonda görevli olan bir sitokin olan Inf-gama (Inf- γ)'a yanıt olarak immün sistemi baskılayan faktörlerin ekspresyonunu aktive etmektedir (Zhang ve ark., 2009). Ayrıca bu hücrelerin adiposit, kondrosit ve osteoblastlara dönüşebildikleri yapılan araştırmalarca gösterilmektedir (Zavan & Bressan, 2016).

1.3. Pulpanın Cevap Mekanizması

Pulpanın farklı değişkenlere verdiği yanıtların değerlendirilmesi üzerine yapılan çalışmalarda pulpa–dentin kompleksinde meydana gelen olayların araştırılması büyük önem taşımaktadır (Yıldırım & Alaçam, 2007). Bu konuda yapılan araştırmaların büyük çoğunluğunda büyüme ve morfogenetik faktörlerden sentezlenen biyolojik markırların dentin yapımını başlattığı belirtilmektedir (Lianjia ve ark., 1993; Smith, 2002). Dişlerin oluşumu ve gelişimi safhalarında erken dönemdeki morfogenetik dizinin dışında dentin oluşumunda görevli olan hücrelerin farklılaşmasının da geç dönem olaylarda görevli olduğu gösterilmektedir (Cobourne

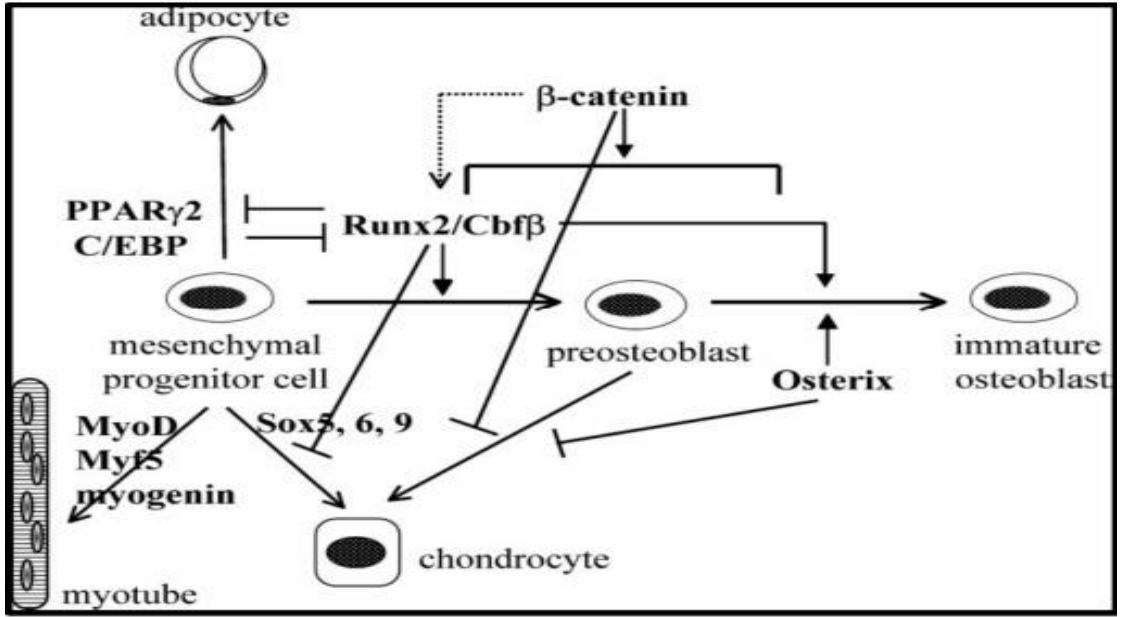
& Sharpe, 2003; Zeichner-David ve ark., 1995). Dişlerin gelişiminin histodiferansiyasyon döneminde dental papillanın dış tarafında bulunan hücreleri iç mine epiteliyle birlikte bazal membran tarafından odontoblast hücrelerine farklılaşması için uyarılmaktadır. Bu aşamadaki farklılaşmada Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF) ailesi olmak üzere büyüme faktörlerinin yanı sıra osteokalsin, osteonektin, kemik sialoprotein (BSP), dentin sialoprotein (DSP), matris metalloproteinaz (MPP), katepsin moleküllerinin görev aldığı düşünülmektedir (Begue-Kirn ve ark., 2004; Zeichner-David ve ark., 1995). Odontoblast benzeri hücrelerin dentin köprüsü yapmak üzere oluşmasında da benzeri bir süreç olduğu için tamir mekanizmasında da uyarıcı moleküllerin bulunması son derece beklendiği düşünülmektedir (Begue-Kirn ve ark., 2004; Roberts-Clark & Smith, 2000).

Büyüme faktörlerinin dentinden dokuda hasarın meydana gelmesinin ardından ve/veya dental restoratif işlemlerin sonucu olarak salgılandığı bildirilmektedir. Örneğin; dişe bir pulpa kuafaj materyali olan KH uygulandığında dentin köprüsünün başlangıcına katkı sağlaması için TGF- β 1 büyüme faktörünün dentin dokusundan salındığı belirtilmektedir (Demirci ve ark., 2014). Tersiyer dentinin salgılanmasında bu belirtilenlerin reaksiyoner ve reperatif tersiyer dentin oluşumu sürecinde biyolojik olayların uyarılardan sorumlu olduğu belirtilmektedir (Smith, 2003). Kemik Morfogenetik Protein, TGF ailesine ait olan bir proteindir. Dişlerin gelişimi sırasında ve yaralanmanın ardından dokunun tamirinde görev almaktadır (Nakashima, 1990; Rutherford ve ark., 1993). Reperatif dentin ve osteodentinin üretimini BMP-2, BMP-4 ve BMP-7 tarafından aktive edildiği çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir. Laboratuvar ortamında alınan diş kesitlerine TGF- β 1 ve BMP-7 moleküllerini direkt veya yerleştirilen bir dentin bariyeri aralığıyla uygulandığında reaksiyoner dentin oluşumunu uyardığı gösterilmektedir. Ayrıca bazı çalışmalarda TGF, BMP ve IGF moleküllerinin odontoblast benzeri hücrelere farklılaşmayı aktive ettiği de belirtilmektedir (Melin ve ark., 2000; Sloan ve ark., 2000; Sloan & Smith, 1999).

1.3.1. Runt-Related Transcription Factor 2 (Runx2)

Osteoblast hücrelerinin farklılaşması için PDL fibroblastlarının değerli bir transkripsiyon faktörü olan Runx2'yi sentezlediği belirtilmektedir (Basdra & Komposch, 1997; Carnes ve ark., 1997). Osteoklast hücreleri kemik rezorpsiyonunda görev yapmaktadır. PDL fibroblastlarının osteoklastik perküsör hücreler için gerekli sinyalleri ileterek Nüklear Faktör-Kappa B Ligand Reseptör Aktivatör (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) ürettiği belirtilmektedir (Hasegawa ve ark., 2002; Joe ve ark., 2001).

Runx2 geni erken dönemde osteoblastik hücrelerin farklılaşmasında görev almaktadır. Ayrıca kemik morfogenezinde, dental yapının gelişiminde, kıkırdak ve damar yapılanmasında fonksiyonu olduğu bildirilmektedir. Pluripotent mezenşim hücrelerinden köken almakta olan bir transkripsiyon faktörüdür (Komori ve ark., 1997). İnsan DNA'sının spesifik alanlarına bağlanmakta böylece kıkırdak gelişimini kontrol altında tutan diğer genlerle etkileşime geçmektedir (Komori, 2006). Runx2 geni pluripotent mezenşimal hücreleri etkileyerek bu hücreleri matür olmayan osteoblastlara dönüştürmektedir. İmmatür osteoblastların matür osteoblastlara dönüşürken osteopontin (Spp1) olan yapısını osteokalsin (Bglap) yapısına dönüştürdüğü belirtilmiştir. Matür osteoblast hücreleri kemik matriksinin içinde kalmakta ve gelecekte osteositlere dönüşmektedir.



Şekil 1.1. Runx2 geninin farklılaşmadaki rolü [75]

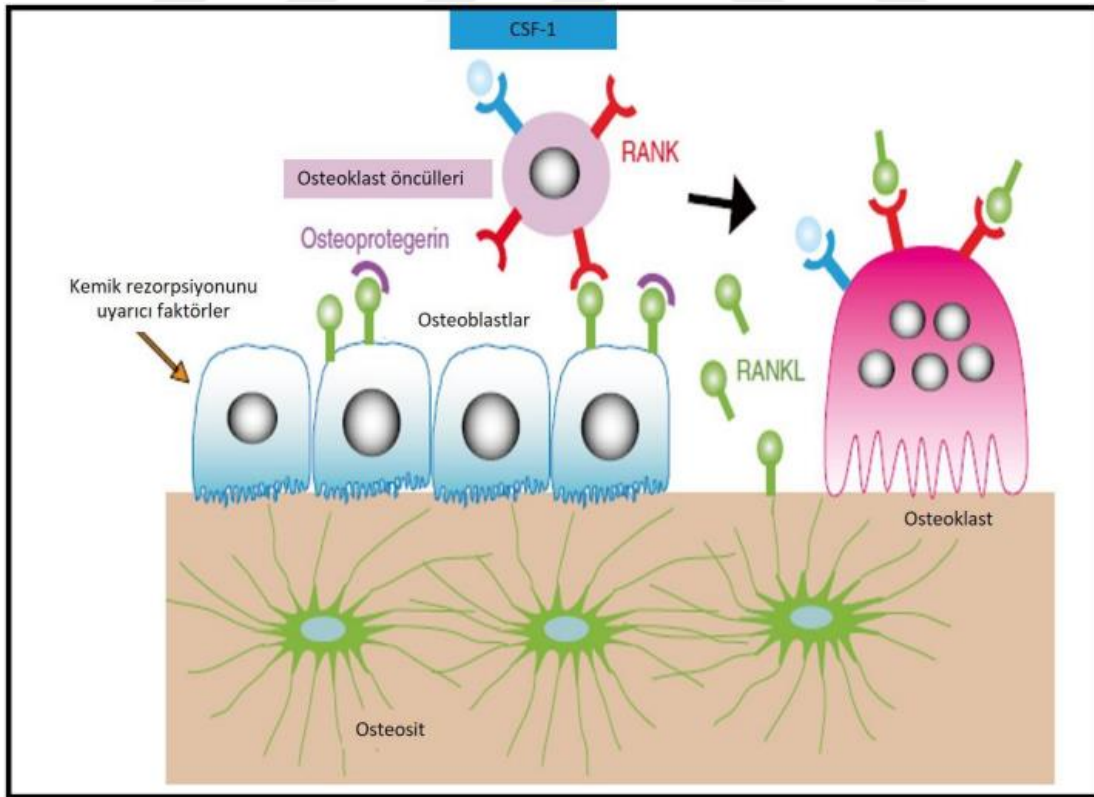
İnsanda kemik dokusunun oluşum sürecinde Runx2 osteoblastların hücre sayısını artırırken bu hücrelerin maturasyonunu durdurmaktadır (Komori ve ark., 1997). Dişlerin oluşum mekanizmasında bulunan Runx2 osteoblast, osteosit, kondrosit, odontoblast, dental folikül hücreleri, sementoblast ve PDL tarafından da oluşturulmaktadır (Bronckers ve ark., 2001).

1.3.2. Nükleer Faktör-Kappa B Ligand Reseptör Aktivatörü (RANKL)

RANKL, bir diğer adıyla “osteoklast farklılaşma faktörü”, 13q14 kromozomunda yer alan TNF grubunun (TNF süper aile üyesi 11, TNFSF11) üyesi olan 317 amino asitlik bir tip 2 transmembran proteindir. RANKL; bazı kaynaklarda TNF ile ilişkili aktivasyonla indüklenen sitokin (TRANCE) olarak da adlandırılmaktadır. RANKL’ın bilinen 3 izoformu multimerize olabilmektedir. Bunlardan RANKL-1 hücrenin içinde, hücre zarının ötesinde ve hücre dışı bölgede bulunmaktadır. RANKL-2’nin hücre içi alanı nispeten daha küçüktür. Çözünmüş bir ligand olduğu düşünülmekte olan RANKL-3’ün ise hücre dışı alanı olduğu belirtilmektedir. Bu RANKL tipleri osteoklast oluşmasının düzenlenmesinde farklı rollere ve yeteneklere sahip olduğu düşünülmektedir. RANKL-1’in baskın

indükleyici, RANKL-3'ün ise potansiyel bir inhibitör olduğu belirtilmektedir (Belibasakis & Bostanci, 2012; Elango ve ark., 2021).

RANKL'ın yüzeyinde bulunan özelleşmiş reseptörüne faktör- Kappa B aktivatör reseptörü (RANK) adı verilmektedir. RANK osteoklast hücrelerinde bulunmaktadır. RANKL osteoklast yüzeyinde reseptöre bağlandığında hücrede transkripsiyon faktörleri aktive edilmektedir (Boyle ve ark., 2003). Bu aktivasyon tuzak reseptörü olan OPG tarafından bloke edilebilmektedir. OPG de RANKL gibi TNF reseptör grubunun bir üyesidir, yapıca RANKL'a benzemektedir. Temel olarak kemik iliği hücreleri tarafından sentezlenmektedir. OPG ortamda RANKL ile bağlanırsa RANK ile bağlantının oluşmamasını sağlamakta, osteoklastogenezisi inhibe etmektedir. RANKL ve OPG'nin ratların pulpa ve odontoblast hücrelerinde, insanların ise pulpa hücrelerinde, odontoblastlarda ve dental folikül hücrelerinde bulunduğu bildirilmektedir (Hasegawa ve ark., 2002; Rani & MacDougall, 2000; Sakata ve ark., 1999).



Şekil 2 RANK/RANKL/OPG sistemi [82]

1.4. Vital Pulpa Tedavisi

İnsanlarda en sık gözlemlenen diş hastalıklarının başında gelen diş çürüklerinin tedavi sürecinde çürük ve enfekte diş yapısının kaldırılması ve uygun bir restorasyonun yapılması yer almaktadır (Ünlüer ve ark., 2007). Çürük dokusu uzaklaştırıldığında mevcut dentin tabakası ile pulpa boynuzları arasındaki mesafe uygulanacak tedavinin şeklini belirlemektedir. Bu iki doku arasındaki mesafeye efektif dentin kalınlığı denmektedir. Kavitede kalan dentinin miktarı ve kalınlığı odontoblast hücrelerinin tersiyer dentin salgılamasıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Murray ve ark., 2002). Dentin çürüğü efektif dentin kalınlığına göre sınıflandırılmaktadır. Efektif dentin 1mm'den çok ise dentin çürüğü, 1 mm ve daha az miktarda ise derin dentin çürüğü denmektedir. Derin dentin çürüğünde yapılan tedavisi kuafaj adını almaktadır. Derin dentin çürüklü dişin canlılığını, biyolojik ve fonksiyonel aktivitesinin devamını sağlamak amacıyla kuafaj tedavisi uygulanmaktadır (Schröder, 1985). Bu girişim sırasında ve sonrasında dentin ile restorasyon malzemesi arasına bir veya birden çok tabaka halinde materyaller uygulanmaktadır. Bu materyaller mikro sızıntının önlenmesi ve pulpanın korunması amacıyla yerleştirilmektedir (Modena ve ark., 2009).

Diş hekimliğinde kuafaj tedavisi ilk kez perfore olmuş vital pulpanın üzerine bir miktar altın parçası koyularak 1756'da Phillip Pfaff tarafından uygulanmıştır. Bu uygulamadan yaklaşık 100 yıl sonra perfore olmuş pulpanın tedavisinde KH içeren materyaller kullanılmıştır. Hermann 1930 senesinde KH'yi kuafaj tedavisinde kullanıp, yayımladıktan sonra kullanımı önem kazanmıştır. Yeni geliştirilen materyallerin kuafaj tedavisinde karşılaştırılması ve değerlendirilmesi için KH altın standart olarak bildirilmiştir (Cohen & Combe, 1994).

1.4.1. Kuafaj Çeşitleri

Kuafaj çeşitleri kalan dentin miktarına bağlı olarak direkt ve indirekt kuafaj olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

1.4.1.1. İndirekt Kuafaj

Çürük dentinin uzaklaştırılmasının ardından geriye kalan dentin miktarının 1 mm veya daha fazla olduğu ve pulpanın perforasyon olmadığı olgularda uygulanan bir tedavidir. Çürük dentin uzaklaştırıldıktan sonra yüzeyin pulpaya komşu kısmı biyouyumlu bir restoratif materyal ile örtülmektedir. Diş dokusundan çürük dokunun uzaklaştırılmasından sonra geriye kalan bakterilerin, uygulanan restoratif tedavi sonrası canlılıklarını kaybettikleri düşünülmektedir. Pulpanın yüzeyinin üstünde dentin tabakasına KH, rezin modifiye cam iyonomer (RMCİS), MTA gibi materyaller uygulanmaktadır (Cohen & Combe, 1994; Gruythuysen ve ark., 2010; Kotsanos & Arizos, 2011; Petrou ve ark., 2014). Daimi dişlerde bu tedavinin başarı oranının yüksek olduğu ifade edilmektedir (Nirschl & Avery, 1983; Petrou ve ark., 2014). Süt dişlerine yapılan indirekt pulpa kuafajı tedavisinin klinik başarı oranının ise %90'ın üzerinde bildirilmektedir (Al-Zayer ve ark., 2003; Vij ve ark., 2004).

1.4.1.2. Stepwise Tekniği

Kademeli çürük kaldırma tedavisi olarak da adlandırılan bu tedavi tekniği iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada derin dentin çürüğü temizlenir ve kavite tabanında 1 mm kalınlığında rezidüel çürük dentin bırakılmaktadır. Bu çürük tabakasının üzerine 1 mm kalınlığında, KH, çinko oksit ojenol (ZOE) gibi pulpa kapaklama materyalleri uygulandıktan sonra kavite geçici restorasyon ile restore edilmektedir. İlk randevuda işlemler yapıldıktan 4-6 hafta, 6 ay veya 1 yıl sonra hasta tekrar randevularına çağırılmaktadır (Bjørndal & Thylstrup, 1998; Eidelman, 1965; Law & Lewis, 1961; Magnusson, 1977). Geçici dolgu kaldırılmakta, son çürük temizleme işlemleri yapılmaktadır. Ardından derin dentin yüzeyine yeniden KH uygulanmakta ve daimî restorasyon ile tedavi tamamlanmaktadır. Kademeli çürük kaldırma tedavisi ile geleneksel çürük temizleme tedavisi ile karşılaştırıldığında pulpal perforasyon oranının %40'tan %17.5'lere düştüğü belirtilmiştir (Leksell ve ark., 1996).

1.4.1.3. Direkt Pulpa Kuafajı

Direkt pulpa kuafajı dentin köprüsünün oluşumunu indükleyen bir pulpa kuafaj materyalinin semptomatik olmayan pulpa dokusunun üzerine yerleştirildiği bir tedavi olarak tanımlanmaktadır. Bu tedavide amaç tersiyer dentin dokusunun oluşumunu sağlamak ve pulpanın vitalitesini koruyarak, iyileşmesini sağlamaktır (Horsted-Bindslev & Mjor, 1988). Güncel kılavuzlar; eksfoliyeye olmaya yakın süt dişlerinin kavitealarında direkt pulpa kuafajının ‘toplu iğne ucu boyutunda’ perforasyon meydana gelen sağlıklı pulpa dokusunda uygulanabileceğini bildirmektedir (Rodd ve ark., 2006). Fakat yapılan son çalışmaların umut veren sonuçları bu algıyı değiştirebilir niteliktedir (Haghgoo & Ahmadvand, 2016). Direkt pulpa kuafajı tedavisinin başarısına etki eden faktörler; hastanın sistemik durumu ve yaşı, pulpanın durumu ve ekspozite alanının büyüklüğü, bakteri kontaminasyonu, mikro sızıntı, kullanılan restoratif materyal ve iatrojenik faktörler olarak özetlenebilmektedir (MK, 2006).

Direkt pulpa kuafajı tedavisinde başarı operasyon öncesi ve sonrası birçok kriterde bağlıdır. Hastadan alınan anemnezde edinilen bilgiler tedavinin endikasyonu açısından önemlidir. Kuafaj yapılacak dişte devamlı ağrı olmamalı, ayrı uyarana bağlı başlayıp, kısa sürede geçmelidir (Petrou ve ark., 2014). Direkt pulpa kuafajı yapılacak diş klinik açıdan değerlendirildiğinde canlılık testlerine normal cevap vermeli, hastanın perküsyonda ağrısı olmamalıdır. Radyolojik açıdan değerlendirildiğinde apikal bir lezyon bulunmamalı, pulpa ve kök kanalları normal bir şekilde izlenmelidir.

Girişimsel tedavi öncesi en önemli faktörlerden biri diş pulpasının sağlık durumudur. Pulpanın sağlığı klinisyenlerce hastadan alınan anemnez, sıcak-soğuk testi, vitalite testi ve perküsyon testi gibi testler ile değerlendirilmektedir. Fakat tüm bu testler pulpanın sağlığını tam olarak belirlemede yetersiz kalmaktadır. Pulpal patolojinin değerlendirilmesinde altın standardın histolojik inceleme olduğu bildirilmektedir (Hilton, 2009).

Kuafajın başarısını etkileyen faktörlerden biri de pulpanın üzerinde kalan dentin dokusunun varlığı veya kalınlığı olarak bildirilmektedir (Ricketts, 2001). Çürük

dentin uzaklaştırıldıktan sonra kalan dentinin kalınlığı arttıkça dentin tübüllerinin çapları ve sayısı azalmakta, dentinde daha az geçirgenliğe neden olmaktadır (Zorba & Yıldız). Pulpada eğer perforasyon varsa oluşan hemorajinin kolayca durdurulabiliyor olması gerekmektedir. Pulpa ekspozundan sonra oluşan hemorajiyi durdurmak için serum fizyolojik, sodyum hipoklorit, klorheksidin ve hidrojen peroksit gibi medikamanlar uygulanabilmektedir (Costa ve ark., 2001; Lu ve ark., 2008). Bu medikamanların sitotoksitesinin değerlendirildiği bir çalışmada KH'nin en iyi biyoyumluluk gösterdiği bildirilmektedir. Sodyum hipokloritin pulpa hücrelerinde inflamatuvar cevabı tetiklediği gösterilse de antibakteriyel ve antikoagulan özelliği gibi önemli avantajları bulunmaktadır (Hilton, 2009).

1.4.2. İdeal Bir Kuafaj Materyalinde Bulunması Gereken Özellikler

- Kullanılacak restorasyon materyali diş dokularının canlılığını korumalı ve dokularla biyoyumlu olmalıdır (Endodontology, 2006; Poggio ve ark., 2015).
- Pulpaya bakterileri ve toksinlerinin geçişini azaltmak amacıyla mikro sızıntıyı önlemelidir (Parthasarathy ve ark., 2016).
- Pulpa dokusunu sıcak ve soğuk etkenlere karşı korumalıdır (Foreman & Barnes, 1990; Stanley & Pameijer, 1997).
- Antibakteriyel etki sağlamalıdır (Koruyucu ve ark., 2015).
- Alkali bir pH'ya sahip olarak odontoblast hücrelerinin mineralizasyonunu arttırmalıdır (Kimura ve ark., 2016).
- Tamir dentini yapımını aktive etmelidir (J. Kim ve ark., 2016).

1.4.3. Pulpa kuafajında kullanılan restoratif materyaller

Diş hekimliğinde kuafaj tedavisinde bugüne kadar KH, adeziv materyaller, büyüme faktörleri, CİS, biodentin, MTA, TheraCal Lc gibi farklı restoratif materyaller kullanılmıştır.

1.4.3.1. Kalsiyum Hidroksit (KH)

1920 yılında, Hermann tarafından diş hekimliğinin kullanımına sunulan KH uzun yıllar kuafaj tedavisinde altın standart olarak kabul edilmiştir. Ayrıcı antibakteriyel özelliği bulunması ve alkalen pH'sı ile mineralizasyonu uyarması sebebiyle yıllardır sıklıkla tercih edilmektedir (Baume & Holz, 1981; Modena ve ark., 2009).

Klinikte birçok tedavide kullanım endikasyonuna sahip olan KH pulpa kuafajı, apeksogenezis-apeksifikasyon tedavileri, kök rezorpsiyonlarının ve kök kırıklarının onarılması gibi tedavilerde kullanılmaktadır (Farhad & Mohammadi, 2005).

Pulpa kapaklama prosedüründe kullanılmak üzere birçok biyouyumlu materyal geliştirilmesine rağmen Ca(OH)_2 halen bu yeni üretilen ürünlerin karşılaştırılması ve başarılarının değerlendirilmesi için altın standart olarak kabul edilmektedir (Goldberg ve ark., 2008). KH'nin pulpa tedavilerinde dentinin tamir mekanizmasını etkinleştirmesinden dolayı başarılı bir materyal olduğu bilinmektedir (Fernandes ve ark., 2013). KH'nin dentin tamir mekanizmasını başlattığı öne sürülen birkaç mekanizma vardır. KH çözündüğünde Ca^{+2} ve hidroksil (OH) iyonlarına ayrışabilen yaklaşık 12,5 pH'ya sahip bazik ve alkalen bir materyaldir (Siqueira Jr & Lopes, 1999). KH'nin pulpada tamiri ve sert doku oluşumunu sağladığı belirtilmektedir. Fizyolojik olarak pH'nın yükselmesinin pulpa hücrelerinin mineralizasyon yeteneğini artırdığı kanıtlanmıştır (Okabe ve ark., 2006). Nitekim KH bu yüksek pH seviyesi ile bakterilerin lipopolisakaritlerini (LPS) nötralize ederek inflamasyonun şiddetini de azaltmaktadır (Sangwan ve ark., 2013).

Pulpa zararlı uyarılara karşı tübüller yapının kalsiyum olması ve tersiyer dentin kalsifikasyonu şeklinde cevap vermektedir. Bu reaksiyonlar ile geçirgenlik azalmakta ve pulpanın daha az zarar görmesi sağlanmaktadır (Pashley, 1985). KH pulpada benzeri reaksiyonların oluşmasına sebep olmaktadır. Özellikle açığa çıkmış pulpanın üzerine KH uygulandığında koagülasyon nekrozu oluşmaktadır (Sangwan ve ark., 2013). Temasa geçen hücreler ölmekte ve değişik kalınlıklarda nekrotik tabakalar

oluşmaktadır. Bu nekroze alan bir nevi matriks görevi görmekte ve bu alana Ca^{+2} iyonlarını çekmektedir. Böylece bu alanda kollajen matrikste mineralizasyon başlamaktadır. Koagülasyon nekrozu tabakası dentinin yapımının uyarılması açısından önemlidir. Bu mekanizma sonucunda oluşan tersiyer dentinin yapısındaki kalsiyum iyonlarının kaynağının uygulanan KH'den kaynaklanmadığı, kan dolaşımı aracılığıyla pulpaya geldiği kanıtlanmıştır. Dentin dokusunun üstüne KH uygulanmasının ardından aktive olan remineralizasyon mekanizması, dentinden biyoaktif moleküllerin oluşmasını uyarması ile açıklanmaktadır (Pisanti & Sciaky, 1964; Sciaky & Pisanti, 1960).

KH'nin zayıf adeziv özelliğe sahip olduğu ve mikro sızıntıyı yeteri kadar engelleyemediği belirtilmiştir. Dentine bağlantısının Van der Waals bağlarıyla gerçekleştiği ve bu yüzden mikro sızıntıya yol açıkları, kısa bir süre sonra da restoratif materyalin altında çözündüğü farklı birçok çalışmada gösterilmiştir (Casagrande ve ark., 2008).

1.4.3.2. Mineral trioksit agregat (MTA)

MTA; 1993 yılında Torabinejad tarafından diş hekimlerinin kullanımına sunulmuştur. Deneysel ve klinik olarak birçok kullanım endikasyonuna sahip olduğu belirtilmektedir (Schwartz ve ark., 1999). MTA'nın bazı önemli özellikleri; uygulandığı yerde yüksek bir pH değerine ulaşması, çözünürlüğünün az olması, mikro sızıntının olmaması, dentin oluşumunu stimüle etmesi, yüksek örtücülük olarak sıralanabilmektedir. MTA ilk piyasaya sürüldüğünde retrograd dolgu malzemesi olarak üretilmiş ve klinisyenlere tavsiye edilmiştir. Daha sonra pulpa kuafajı, apeksogenezis – apeksifikasyon tedavisi, kök perforasyonlarının onarılması ve kanal tedavisinde kanal patı olarak kullanılmaya başlanmıştır. MTA tüm bu tedavilerde sert doku oluşumunu uyarması ve biyoyumlu bir restoratif ajan olması sebebiyle başarı ile uygulanmaktadır (Torabinejad ve ark., 1993).

MTA'nın kimyasal ve fiziksel özellikleri

MTA nem varlığında sertleşebilen hidrofilik, biyoaktif trikalsiyum silikat bazlı bir restoratif materyaldir. MTA'nın kimyasal yapısı incelendiğinde ağırlıkça esas olarak %75 portland çimentosu, %20 bizmut oksit (Bi_2O_3) içerirken eser miktarda da kalsiyum oksit (CaO), magnezyum oksit (MgO), sodyum sülfat (Na_2SO_4) ve potasyum sülfat (K_2SO_4) içermektedir. MTA'nın ana yapısını portland çimentosu oluşturmaktadır. Portland çimentosu trikalsiyum silikat, dikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat, alçıtaşı, tetrakalsiyum alüminoferriten meydana gelmektedir. Materyalin yapısına röntgenlerde sert dokulardan ayırt edilebilmesi için bizmut oksit eklenmiş ve radyopak bir görünüm kazanması sağlanmıştır (Masoud Parirokh & Mahmoud Torabinejad, 2010; Torabinejad ve ark., 1993).

Materyalin yapısında bulunan oransal olarak az miktarda bulunan alçıtaşı, sertleşme zamanı açısından önem arz etmektedir. Portland simanına oranla MTA'da daha az alçı taşı bulunmakta ve daha küçük alimüna partikülleri içermektedir. Bu durumdan dolayı materyalin sertleşme zamanı daha uzun olmaktadır (Dammaschke ve ark., 2005).

İlk piyasaya sürülen MTA gri renkte üretilmiştir. Zamanla materyalin renklenmeye ve özellik ön dişlerde estetik kaygılara sebep olduğu fark edilmiştir. Bu sebepten ötürü yapısında bulunan tetrakalsiyum alüminoferrit gibi demir içerikli bileşenleri çıkarılan beyaz renkli MTA üretilmiştir. Gri ve beyaz MTA arasında alüminyum, demir ve magnezyum konsantrasyonları açısından da farklılık olduğu belirtilmiştir (Masoud Parirokh & Mahmoud Torabinejad, 2010).

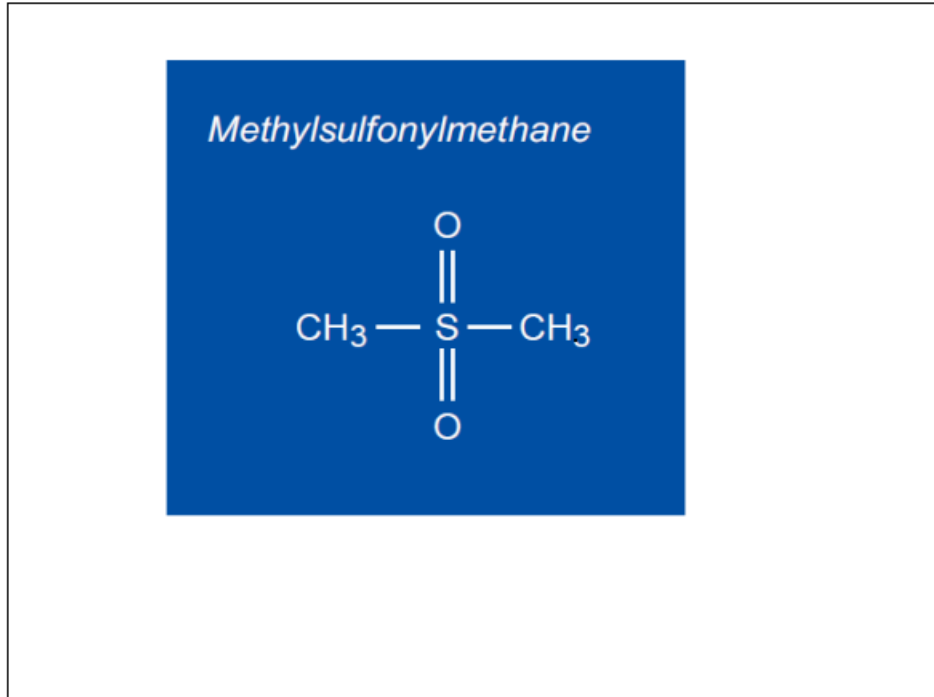
MTA'nın Sertleşmesi

MTA tozu likit olarak steril su ile 3:1 oranında karıştırıldığı anda pH değeri 10,2 iken, sertleşmesinden sonra pH değeri 12,5'e yükselmektedir (Masoud Parirokh & Mahmoud Torabinejad, 2010; Schwartz ve ark., 1999; Torabinejad ve ark., 1995). MTA oluşturduğu alkali pH ile ortamda antibakteriyel bir etki oluşturmaktadır. Bu

özellikler dışında MTA bakteri penetrasyonunu engelleyen çözünürlüğü düşük bir restoratif materyal özelliğini de taşımaktadır (Petrou ve ark., 2014; Torabinejad & Parirokh, 2010). Kaviteye uygulanan MTA'nın üzerine direkt olarak nemli bir pamuk yerleştirilmesi sertleşmesinin tamamlanması açısından tavsiye edilmektedir. MTA'nın sertleşmesinin nem varlığında süregeldiği ve yaklaşık 3-4 saat sonra koloidal bir hal alarak sert bir yapı oluşturduğu belirtilmektedir (Schwartz ve ark., 1999; Torabinejad ve ark., 1995). MTA'nın en önemli dezavantajlarından biri uzun sertleşme süresi olarak bildirilmektedir. Klinik kullanımda sıklıkla uygulanamaması da yine yüksek maliyetinden dolayı olarak dezavantajları arasında yer almaktadır.

1.4.3.3. Metilsülfonilmetan (MSM)

Dimetilsülfon (DMSO₂) ve metil sülfon olarak da bilinen MSM, çeşitli gıdalarda, hayvanlarda ve hayvansal ürünlerde doğal olarak bulunan organik kükürt içerikli bir bileşiktir. Beyaz renkte, herhangi bir kokusu olmayan, acımtırak, kristalize yapıdaki bu bileşiğin % 34'ünü kükürt elementi oluşturmaktadır (Thomas W Pearson ve ark, 1981).



Şekil 3. Metilsülfonilmetanın kimyasal yapısı

MSM'nin insan vücudunda emilimi, dağılımı ve atılımı ile ilişkili çalışma sayısı sınırlıdır. Magnusson ve ark. 2007 yılında bu konuda dikkat çekici bir çalışmaya imza atmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlara dayanarak MSM'nin hızlı emildiği, iyi bir şekilde dağıldı ve vücuttan tamamen atıldığı gösterilmiştir (Magnuson ve ark., 2007).

MSM'nin etki mekanizması

MSM'nin antioksidan, anti-inflamatuar ve kanser önleyici etki mekanizmasının açıklanması 1980 yıllarında başlayan çalışmalarca aydınlatılmaya çalışılmıştır. MSM'nin oksidatif ürünler üretmek üzere yapay olarak aktive edildiği in vitro bir çalışmada, anti-inflamatuar ve antioksidan mekanizmaları açığa çıkarılmış ve serbest radikallerin MSM aracılığı ile azaldığı belirtilmiştir (Butawan ve ark., 2017).

MSM'nin periodontal bağ doku kök hücreleri ve ekfoliyeye süt dişi kök hücrelerinde sert doku oluşumu üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda MSM'nin transglutaminaz-2 (TG-2) aktivitesini ve bunun kollajen tip 1 ve osteopontin gibi hücre dışı matris proteinleri ile etkileşimini önemli ölçüde artırdığı gösterilmektedir (Joung ve ark., 2012; Kim ve ark., 2009). PDL kök hücrelerinde ve SHED'de MSM tarafından osteojenik belirteçlerin ekspresyonunda ve mineralizasyonda gerçekleşen artış, MSM'nin sadece inflamasyon ile ilgili olayların ve hastalıkların inhibisyonu için değil, aynı zamanda sert doku oluşumunu arttırmak için de uygun olduğunu göstermektedir (Joung ve ark., 2012; Karthik ve ark., 2014). Histolojik ve immünohistokimyasal olarak yapılan analizler, MSM'nin, yaşlanma ve menopoza sonrası osteoporoz koşulları dahil olmak üzere, inflamasyonun mevcut olduğu kemik kaybının tedavisinde uygulanabilir bir osteojenik unsur olabileceğini göstermektedir (Jilka, 2013; Liang ve ark., 2010).

1.4.3.4 Cam iyonomer siman

Diş hekimliğinde ilk olarak 1972 yılında Wilson ve Kent tarafından geliştirilen cam iyonomer simanlar, silikat siman ve polikarboksilat simanın karışımı olarak tanıtılmıştır (KURTOĞLU, 2012; Wilson & Kent, 1971). Geleneksel ve konvansiyonel CİS'lerin sahip olduğu kısa süreli neme karşı hassasiyetin materyalin yüzeyinin yumuşamasına ve düşük aşınma direncine sebep olmasından dolayı CİS'lerin potansiyeli sınırlanmaktadır. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak için CİS'lerin siman tozunun kimyasal içeriği geliştirilerek gelişmiş cam iyonomer simanlar elde edilmiştir. Alüminasilikat cam tozlarına poliakrilik asit eklenmesi ve partikül tanecik boyutunun küçültülmesi ile hızla sertleşeni nem hassasiyeti azaltılmış ve çözünürlüğü düşük olan yüksek viskoziteli cam iyonomer simanlar elde edilmiştir. Piyasada Ketac Molar (3M ESPE, Seefeld, Almanya) ve Fuji IX (GC, Tokyo, Japonya) adlarıyla yer almaktadırlar (Nagaraja Upadhya & Kishore, 2005).

1.5. Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar

1.5.1. MTA ile Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar

MTA'nın nano gümüş partikül içeren ve içermeyen partikülleri 2016 senesinde yapılan bir araştırmada ratların subkutan dokusuna yerleştirilmiş ve oluşan inflamatuvar yanıt yedi, 15, 30, 60 ve 90. günlerde değerlendirilmiştir. Bu araştırmaya göre MTA'nın iki grubunda şiddetli inflamatuvar yanıt gösterdiği belirtilmiştir (Zand ve ark., 2016).

Bir başka çalışmada ratlara beyaz Portland çimentosu ve beyaz MTA implante edilmiştir. Yedi, 14, 21 ve 30. günlerde alınan kesitlerde inflamasyon durumu kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Tamir süreci ile inflamasyon sürecinin birbirleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Tüm gruplarda 7. günde şiddetli bir inflamasyon görülmüş, 30.günde örneklerin tümünde inflamasyon yoktur (Karanth ve ark., 2013).

Yapılan bir çalışmada Gine domuzlarının tibia ve mandibulalarına kavite açılmış, teflon tüp yardımı ile MTA, amalgam, Super- EBA ve İnterim Rezin Materyal (IRM) implante edilmiştir. Gine domuzları 80 gün sonrasında uyutulmuş ve kesitleri alınıp histolojik olarak incelenmiştir. İncelenen tüm materyaller karşılaştırıldığında en başarılı sonuçlar MTA'da elde edilmiştir. MTA grubunda mandibula tibiada herhangi bir inflamasyon bulgusuna rastlanmamış ve bu materyaller arasında MTA'nın biyouyumluluğu en yüksek olan materyal olduğu ifade edilmiştir (Torabinejad ve ark., 1998).

MTA ve KH'nin pulpa kuafajı tedavilerinde uygulanması sonrası bu restoratif materyallere gelişen histolojik cevabın değerlendirildiği bir çalışmada MTA gruplarında inflamasyon gözlemlenmediği, sert doku oluşumu ve iyileşmenin görüldüğü, fakat KH gruplarının yaklaşık olarak tamamında inflamasyon gözlemlendiği belirtilmiştir (Faraco Jr & Holland, 2001).

MTA ve Bone Morfogenetik Protein-7 (BMP-7)'nin kullanıldığı bir çalışmada erkek ratların üst çene büyük azı dişlerine pulpa kuafajı tedavisi uygulanmış ve sonrasında sert doku oluşumları incelenmiştir. Her iki grupta da sert doku oluşumu olduğu ifade edilmiştir. Fakat yapılan histolojik boyamalar sonrasında MTA grubundaki sert doku köprülerinin yapısının çevre dentin ile benzer olduğu, BMP-7 grubundaki sert doku köprülerinin ise kemiğe benzer bir yapıda olduğu bildirilmiştir (Andelin ve ark, 2003).

1.5.2. MSM ile Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar

MSM'nin klinik açıdan kullanılabilir olduğuna ilişkin kanıtlar, yayınlanmış insan ve hayvan çalışmalarına dayanmaktadır. Yapılan bu çalışmalar ile MSM'nin osteoartrit tedavisi, rozacea, interstisyel sistit, alerjik rinit gibi pek çok hastalıkta yararlı olabileceği ileri sürülmektedir.

1981'de Dr. Herschler; cilt pürüzsüzleştirmek ve yumuşatmak, tırnakları güçlendirmek veya kan sulandırıcı materyal olarak kullanımı için Amerika Birleşik

Devletleri'nden MSM'nin patentini almıştır. Herschler bunlara ek olarak, MSM'nin stresi azalttığını, ağrıyı azalttığını, parazit enfeksiyonlarını tedavi ettiğini, enerjiyi artırdığını, metabolizmayı hızlandırdığını, dolaşımı iyileştirdiğini ve yara iyileşmesini iyileştirdiğini iddia etmiştir ancak bunu destekleyici çok az bilimsel kanıt öne sürülmüştür (Herschler, 1979).

MSM, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda bazı yararlı etkiler göstermiştir. MSM'nin deney hayvanlarında ve *in-vitro* yapılan çalışmalarda kanser hücreleri için kemopreventif etkileri olduğu öne sürülmektedir. Buna ek olarak, MSM anti-inflamatuar aktiviteleri, prostasiklin sentezinin inhibisyonu, anti-aterosklerotik etki ve *in vitro* olarak serbest radikallerin oluşumunu azaltan bir etki gösterdiği belirtilmektedir (Alam & Layman, 1983; Ebisuzaki, 2003; McCabe ve ark., 1986). Yapılan bir başka çalışmada elde edilen ön klinik bulgular oral olarak verilen MSM'nin mevsimsel alerjik rinitin bazı semptomlarını hafifletebileceği ileri sürülmektedir (Barrager ve ark, 2002).

MSM'nin ratlar üzerinde RANKL ile indüklenen osteoklast farklılaşması üzerindeki etkilerinin ve STAT3'ün osteoklastik gen belirteçlerinin ekspresyonuna katılımını araştırıldığı bir çalışmada osteoklastogenezisi düzenleyip düzenleyemeyeceği açığa kavuşturulmaya çalışılmıştır. Bu çalışma, kemik iliği kaynaklı makrofajlar ile birlikte hem protein hem de mRNA seviyelerini belirten analizler, ayrıca sinyal yolu aktivitesi incelenerek gerçekleştirilmiştir. MSM'nin RANKL ile indüklenen TRAP (CD40 ligand) aktivitesini, çok çekirdekli osteoklast oluşumunu ve kemik rezorpsiyon aktivitesini belirgin şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Ek olarak, katepsin K ve OSCAR (Osteoklast ile ilişkili reseptör) dahil olmak üzere birkaç osteoklastogenez ile markırların MSM tarafından baskılandığı ifade edilmiştir (Joung ve ark, 2016).

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Etik Onayı

Çalışmamız için gerekli etik onay Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 26/04/2022 tarihinde 2022/08 karar numarası ile alındı.

2.2 Çalışma için gerekli Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) desteğinin alınması

Çalışma için gerekli etik onay alındıktan sonra çalışmada kullanılacak materyallerin maddi desteği için BAP'a başvuruldu. BAP birimi 1383 ID'li TDH-2022-1383 proje kodu ile proje desteğini onayladı.

2.3. Deney Hayvanlarının Seçilmesi ve Barınması

Çalışma için 72 adet ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 4-6 aylık erkek Sprague Dawley cinsi ratlar kullanıldı. Ratlar, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Biyolojik ve fizyolojik olarak aynı özelliklere sahip bu hayvanlar; çalışmanın prosedürü boyunca kontrol edilen bir sıcaklık ortamında (21-22 °C) ters çevrilmiş aydınlık-karanlık döngüsüne (12 saat / 12 saat) sahip sessiz bir odadaki kafeslerde bekletildi. Ratlar içeriği Tablo 1'de gösterilen standart pellet rat yemi (270 kcal / 100 gr, Bayramoğlu Yem, Erzurum, Türkiye) ile beslendi. Buldukları odanın havalandırması filtre edilerek kontaminasyon riski önlenildi. Ratlar temiz kafeslerde ve altlarında talaş olacak şekilde barındırıldı. Temin edilen ratların laboratuvar koşullarına adaptasyonu için 1 hafta beklendi. Takiben ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı.

Tablo 1. Deney hayvanlarına verilen standart pelet rat yeminin içeriği

Standart Rat Yeminin İçeriği	%
Yağ	3.5
Karbonhidrat	7.5
Protein	23
Vitamin ve Mineral	1-2
Diğer Eser Elementler (demir, selenyum, manganez, çinko, kobalt, iyodür)	3

2.4. Deney Grupları

Deney hayvanları Sağlıklı Kontrol, Kontrol, MTA ve MSM grubu olarak 4 ana gruba ayrıldı. Uygulama yapıldıktan sonra Kontrol, MTA ve MSM grubu 2., 4. ve 8. haftanın sonunda sakrifiye edilecek şekilde kategorize edildi. Uygulama gruplarından her bir deney hayvanının maksiller sol ve sağ 1. molar dişlerine uygulama yapıldı.

1-) Sağlıklı Kontrol grubu (SK): Bu gruba 9 rat dahil edildi. Herhangi bir işlem yapılmayıp sakrifiye edildi.

2-) Kontrol grubu (K): Bu gruba 21 rat dahil edildi. Ardından ratlar her grupta 7 rat olacak şekilde 14, 28, ve 56. günlerde sakrifiye edilmek üzere 3 alt gruba ayrıldı.

3-) MTA grubu (MTA): Bu gruba 21 rat dahil edildi. Ardından ratlar her grupta 7 rat olacak şekilde 14, 28, ve 56. günlerde sakrifiye edilmek üzere 3 alt gruba ayrıldı.

4-) MSM grubu (MSM): Bu gruba 21 rat dahil edildi. Ratlar her grupta 7 deney hayvanı olacak şekilde 14, 28, ve 56. günlerde sakrifiye edilmek üzere 3 alt gruba ayrıldı.

2.5. Materyal Seçimi

Bu çalışmada pulpal perforasyonun üzerine iki farklı materyal uygulandı. Materyal seçiminde MTA olarak çalışmalarda altın standart olarak gösterilen ProRoot MTA (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) ve MSM (Bereket Kimya, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Uygulanan pulpa kapaklama materyalinin ardından kavitenin doldurulması için Geleneksel Cam İyonomer siman (Ketac, 3M ESPE, Seefeld, Almanya) kullanıldı.

2.6. Deney Hayvanlarına Yapılan Dental Uygulamalar



Resim 1. Anestezi uygulanmış rat.

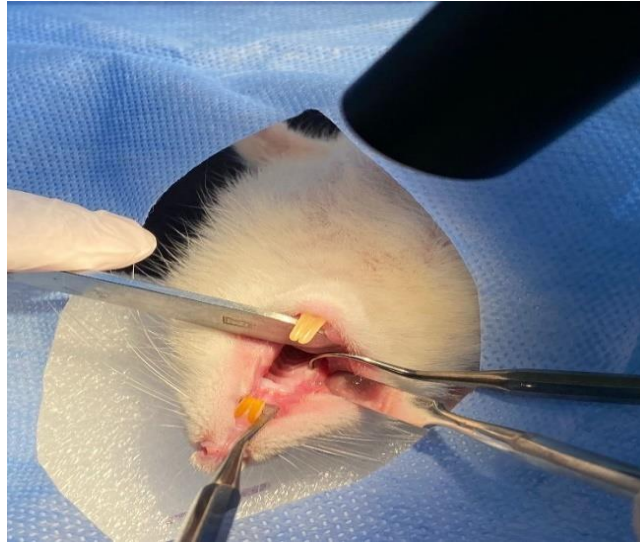
Ratlar üzerinde pulpa kuafajı yapmak amacıyla intraperitoneal olarak ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, İstanbul, Türkiye) 10 mg/kg ve ketamin hidroklorid (Ketalar, Pfizer, İstanbul, Türkiye) 40 mg/kg enjeksiyonları yapılarak anestezi sağlandı. İhtiyaç duyulması durumunda başlangıç dozunun 1/5'i oranında belirli aralıklarla tekrar edildi.



Resim 2. Çalışma alanının hazırlanması.

Anestezi uygulanmış ratlar tepkisiz hale geldiğinde, tedavi prosedürüne deney hayvanının üstüne mavi cerrahi örtü örtülüp, Artikain (Ultraver D-S) 80 mg içerikli anestezi madde ile çift taraflı maksiller infiltratif anestezi yapılarak başladı.

Sağlıklı kontrol grubunda ratlar anestezi uygulanmasının ardından sakrifiye edildi.



Resim 3. Pulpa perforasyonunun değerlendirilmesi

Diğer üç grupta da anestezinin yapılmasını takiben, su soğutması altında anguldurva kullanılarak, steril elmas rond (#1011, Denstply İndustria e Comercio Lide, Petropolis, RJ, Brezilya) ile pulpada perforasyon oluşturuldu. MTA ve MSM gruplarındaki deney hayvanlarında oluşturulan perforasyon alanındaki kanama steril bir pamuk peletle (Hira Pamuk, Kahramanmaraş, Türkiye) durduruldu.



Resim 4. Perforasyon alanına pulpa kapaklama materyalinin yerleştirilmesi

Uygulanacak materyal steril bir el aleti yardımıyla yerleştirildi ve materyallerin üzeri Cam İyonomer Siman (Ketac, 3M ESPE, Seefeld, Almanya) ile örtülüp deney tamamlandı.



Resim 5. Dişin restorasyonunun tamamlanması

Kontrol gruplarında ise oluşturulan perforasyon alanındaki kanama steril bir pamuk pelet ile durdurulduktan sonra kaviteye sadece Ketac Cam İyonomer Siman (3M ESPE, Seefeld, Almanya) yerleştirilip uygulama tamamlandı.

Deney işlemleri sonrasında histopatolojik ve immünohistokimyasal analiz için hayvanlar kendileri için ayrılmış kafeslere yerleştirilerek beklemeye alındı.

2.7. Histopatolojik Doku Takibi

Sıçanlardan çıkarılan çene doku örnekleri %10'luk fosfat tamponlu nötral formalinde (Sigma-Aldrich, Almanya, Ph:7.4) 24 saat boyunca bekletilerek fiksasyon işlemi uygulandı. Fiksasyon işleminin ardından çene dokusuna ait örnekler Morsen's solüsyonunda 24 saat boyunca bekletilerek dekalsifikasyon işlemi uygulandı. Bundan sonraki aşamalar da maksilla dokusuna ait örnekler rutin histolojik doku takibine uyumlu olarak ototeknikon cihazı kullanılarak (Citadel 2000, ThermoScientefic, Germany) sırası ile artan ethanol serilerin oluşan dehidratasyon (%50, %70, %80, %90, %96 ve %100 Merck GmbH, Almanya) aşaması şeffaflaştırma ve parafinde

emdirme (Merck GmbH, Almanya) işlemleri uygulandı. Parafin inklüzyonu yapılan maksilla dokusuna ait örnekler sert parafine (Merck GmbH, Almanya) gömülerek rotary mikrotom (RM2525, Leica Biosystems, Germany) kullanılarak 4-5 µm kalınlığındaki kesitler alındı. Maksilla dokusuna ait kesitler etüvde bekletilerek ve iki seri ksilol (Merck GmbH, Almanya) solüsyonlarında geçirildi. Deparafinizasyon aşamasından sonra boyama cihazı kullanılarak (Leica ST1050, Leica Biosystems, Germany) Harris Hematoksilen (Merck, Germany) ve Eozin G (Merck, Germany) boyaları ile boyandı. Boyanan kesitler entellan (Merck GmbH, Germany) ile kapatılarak dijital kamera ataçmanlı (DP71, Olympus DP71, Olympus Corp., Japan) ışık mikroskobu altında (BX51, Olympus Corp., Japan) fotoğrafları çekildi.

Tablo 2. Histolojik doku takip aşamaları

İşlem	Madde	Süre
Tespit	%10'luk Formalin	24-36 saat
Dekalsifikasyon	Morse Solusyonu	24-36 saat
Dehidratasyon	%50'lik Etanol 1	180dakika
Dehidratasyon	%50'lik Etanol 2	75dakika
Dehidratasyon	%60'luk Etanol	90dakika
Dehidratasyon	%70'lik Etanol	90dakika
Dehidratasyon	%80'lik Etanol	60dakika
Dehidratasyon	%96'luk Etanol	60dakika
Dehidratasyon	%100'luk Etanol 1	75dakika
Dehidratasyon	%100'luk Etanol 2	75dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 1	90 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 2	90 dakika
Parafinizasyon	Parafin 1	60 dakika
Parafinizasyon	Parafin 2	210dakika
Bloklama		

2.8. İmmünohistokimyasal Doku Takibi

Maksillada girişimsel uygulama ile indüklenen inflamasyonu incelemek için RANKL (ab239607, Abcam, UK) ve RUNX2 (ab236639, Abcam, UK)) primer antikor ve buna uygun sekonder antikor (Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP), sırası ile; ab205718, Abcam, UK) kitleri kullanıldı.

Maksilla dokusuna ait kesitlerden rotary mikrotom (Leica Biosystem, RM2525, Almanya) cihazı kullanılarak 1-2 µm kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen maksilla dokusuna ait kesitler IHC stainer cihazı ile (Bond Max III, Leica Systems, Germany) üretici katalog bilgilerine uygun olarak primer ve sekonder antikorlar ile bir saat boyunca inkübe edilerek immunperoksidaz yöntem ile boyandı. Son olarak Harris hematoksilin (Merck, Germany) zıt olarak boyandı.

Tablo 3. İmmunohsitokimyasal Doku Takibi

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	Bond-dewax Solüsyon	1 dk
Deparafinizasyon	Bond-dewax Solüsyon	30 sn
Deparafinizasyon	Bond-dewax Solüsyon	30 sn
Rehidratasyon	Absolü etil alkol	30 sn
Rehidratasyon	% 80 Etil alkol	30 sn
Rehidratasyon	% 70 Etil alkol	20 sn
Yıkama	Bond-wash Solüsyon	30 sn (3 tekrar)
Antijen açığa çıkarma)	Bond ER Solüsyon 2	30 sn (4 tekrar)
Yıkama	Bond-wash Solüsyon	30 sn (3 tekrar)
Endojen enzim blokajı	%3'lük Hidrojen peroksit	1,5 dk
Yıkama	Bond-wash Solüsyon	45 sn (4 tekrar)
Primer antikor	Anti-FOXO1A veya Anti-SREBP1	20 dk
Yıkama	Bond-wash Solüsyon	40 sn (7 tekrar)
Sekonder antikor	Biotinylated Goat anti-polyvalent	20 dk
Yıkama	Bond-wash Solüsyon	40 sn (7 tekrar)
HRP	Steptavidin Peroxidase	10 dk
Yıkama	Bond-wash Solüsyon	1 dk (4 tekrar)
HRP	Steptavidin Peroxidase	8 dk
Yıkama	Bond-wash Solüsyon	1 dk (2 tekrar)
Yıkama	Deiyonize Su	30 sn (2 tekrar)
Kromojen ile boyama	Diaminobenzidine (DAB)	10 dk
Yıkama	Deiyonize su	30 sn (6 tekrar)
Kontrast (zıt) boyama	Harris hematoksilen	10 dk
Yıkama	Deiyonize su	1 dk
Yıkama	Bond-wash Solüsyon	1,5 dk (2 tekrar)
Yıkama	Deiyonize su	30 sn (2 tekrar)
Yıkama	Bond-wash Solüsyon	10 sn

2.9. Semi-Kantitatif Analizler

Harris hematoksilin (Merck GmbH, Almanya) ve Eozin G(Merck GmbH,Almanya) ile boyanan maksilla dokusuna ait kesitler maksilla girişimsel uygulamalara bağlı olarak gelişen endikasyonları ele alan çalışmalara uygun olarak odontoblastlarda nekrozis, ödem, inflamasyon, ve fibröz kallus oluşumlarını ele alan çalışmalara uygun olarak Tablo 4’de gösterildiği gibi Histopatolojik Hasar Skorlaması (HHS) hesaplandı. Her bir preparata rastgele seçilmiş 20 farklı olarak x21 ve x20 büyüklükteki objektifler kullanılarak ışık mikroskobu altında histopatolog tarafından skorlandı.

RANKL ve RUNX2 primer antikorları ile inkübe edilen maksilla dokusuna ait örnekler olarak Tablo 5’te gösterildiği gibi skorlandı. Her bir preparata rastgele seçilmiş 20 farklı olarak x40 büyüklükteki objektifler kullanılarak ışık mikroskobu altında histopatolog tarafından skorlandı. Histopatologlar deney gruplarını bilemeyecek şekilde körleştirildi.

Tablo 4. Histolojik Hasar Skorlaması

Bulgu	Skor
Nekrotik Odontoblastlar	
0	%5'ten az
1	%6-%25 arası
2	%26-%50 arası
3	%50'den fazla
Ödematöz Alanlar	
0	%5'ten az
1	%6-%25 arası
2	%26-%50 arası
3	%50'den fazla
İnflamasyon	
0	%5'ten az
1	%6-%25 arası
2	%26-%50 arası
3	%50'den fazla
Vasküler Konjesyon	
0	%5'den az
1	%6-%25 arası
2	%26-%50 arası
3	%50'den fazla

Tablo 5. Semi-Kantitatif Analiz.

Bulgu	Skor
0	%5'ten az
1	%6-%25 arası
2	%26-%50 arası
3	%50'den fazla

2.10. İstatistiksel Analiz

Semi-kantitatif analizler sonucu elde edilen veriler SPSS 20 (IBM, USA) istatistik programı kullanılarak Shapiro-Wilk test, Q-Q plot, Skewness-Kurtoisis değerleri ve Levene testleri yapılarak verilerin normal dağılıma uygunluğu değerlendirildi. Parametrik olmayan veriler ortanca -25% ve %75'lik çeyrekler açıklığı şeklinde hesaplanarak Kruskal Wallis ve bunu takiben Tamhane T2 test ile değerlendirilecektir. p değeri <0.05 anlamlı olarak seçildi.

3.BULGULAR

3.1. Histopatolojik Bulgular

Rutin histolojik doku boyası H+E boyası ile boyanan maksilla dokusuna ait kesitler pulpa ekspozu sonrasında gelişen doku hasarını odontoblastlar üzerine odaklanmış bilimsel çalışmalara uygun olarak nekrotik odontoblastlar, ödem, inflamasyon, vasküler konjesyon bulguları göz önüne alınarak incelendiğinde; sağlıklı kontrol grubuna ait çene dokusunda normal histolojik yapıya sahip olan çene kemiğinde odontoblastların tipik yapıda olduğunu gözlemlendi (Resim 6a-b, HHS: 0(0-1), Tablo 6). Bunun aksine Kontrol 2. hafta grubunda odontoblastlarda yaygın olarak nekrozis gözlemlendi. Bunun yanında, yaygın ödematöz alanlar, nötrofil infiltrasyonu ve vasküler konjesyonlar gözlemlendi (Resim 7a-b, Tablo 6). Kontrol 4. hafta grubunda ve kontrol 2.hafta grubunda benzer olarak odontoblastlarda nekrozis, pulpada ödem, polimorf nükleuslu lökositler (PMNL) ve vasküler konjesyonlar mevcut olduğu izlendi (Resim 8a-b, Tablo 6). Bunun aksine, kontrol 8. hafta grubunda nekrotik odontoblastlarda azalma, diş pulpasında ödematöz alanlarda, PMNL ve vasküler konjesyonlarda azalma olduğu saptandı (Resim 9a-b, $p<0.05$, Tablo 6).

Kontrol 2. hafta ve Kontrol 4. hafta uygulama gruplarına kıyasla MTA tedavi 2. hafta, 4. hafta ve 8. hafta gruplarında nekrotik odontoblastların sayısında azalma, diş pulpasında ödem, PMNL ve vasküler konjesyon bulgularında azalma olduğu saptandı (Resim 7a-b, Resim 8a-b, 9a-b, 10a-b,11a-b,12a-b, $p<0.05$, Tablo 6). MTA uygulama grupları kendi arasında incelediğimizde, MTA uygulama 2. hafta ve 4. hafta grupları arasında herhangi bir fark gözlemlenmedi (Resim 10a-b,11a-b,12a-b,13a-b, $p<0.05$, Tablo 6). Bunun yanında, MTA 8. hafta grubunda MTA 2. Hafta ve 4. Hafta gruplarına kıyasla odontoblastlarda nekrotik hücre sayısında azalma, diş pulpasında inflamasyon, vasküler konjesyon ve PMNL bulgularında azalma olduğu gözlemlendi (Resim 10a-b,11a-b,12a-b, $p<0.05$, Tablo 6).

MSM tedavi grupları ile pulpotomi 2. hafta ve 4. hafta uygulama grupları arasında histopatolojik hasar skorları kıyaslandığında; odontoblastlarda nekrozis, diş

pulpasında ödem, inflamasyon ve vasküler konjesyon bulgularında MSM tedavi grupları 2., 4. ve 8. hafta grupları arasında azalma olduğu gözlemlendi (Resim 7a-b,8a-b,9 a-b, 13a-b,14a-b,15a-b, $p<0.05$, Tablo 6). Kontrol 8. hafta grubu ile MSM tedavi grupları histopatolojik hasar skorları bakımında arasında bir fark gözlemlenmezken, sadece MSM 8. hafta grupları arasında anlamlı bir düşüş olduğu saptandı (Resim9 a-b, Resim 15a-b, $p<0.05$, Tablo 6).

MTA tedavi grupları ve MSM tedavi grupları arasında odontoblastlarda gözlemlenen nekrozis, diş pulpasında gözlemlenen ödem, inflamasyon ve vasküler konjesyon bulguları göz önüne alınıp HHS hesaplandığında, MTA 2. ve 4. hafta gruplarının benzer olduğu HHS skorları bakımından sadece MSM 8. Hafta grubunda azalma olduğu izlendi (Resim 9a-b, Resim 11a-b, Resim 12a-b, Resim 15a-b Resim 13a-b, Resim 14a-b, Resim 15a-b, $p<0.05$ Tablo 6).

MSM tedavi grupları histopatolojik hasar skorları bakımından kendi için değerlendirildiğinde sadece MSM uygulaması 2. Hafta ile MSM uygulaması 8. Hafta arasında odontoblastlarda nekrozis, diş pulpasında ödem, inflamasyon ve vasküler konjesyon bulgularında azalma olduğu gözlemlendi (Resim 13a-b, Resim 15a-b, $p<0.05$, Tablo 6).

3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.2.1. RANKL pozitifitesi

Günümüzdeki literatür bilgilerine uygun olarak odontoblastik aktiviteyi değerlendirmek RANKL primer antikor ile inkübe maksilla dokusuna ait kesitler pulpa ekspozu sonrasında; sağlıklı kontrol grubuna ait odontoblastlar normal histolojik yapıya sahipti (Resim 15a, Tablo 4). Bunun aksine Kontrol 2. Hafta grubunda çok sayıda odontoblastlarda yoğun RANKL pozitifitesi gözlemlendi (Resim 16a, Tablo 7). Kontrol 4. ve 2 Haftalardaki kontrol grubunda ise RANKL aktivitesi gözlemlenmedi (Resim 17a, Tablo 7).

MTA tedavi gruplarında 2. haftada Kontrol 2. hafta grubuna göre nispeten daha düşük RANKL pozitifitesi gözlemlendi. MTA 4. ve 8. hafta gruplarına RANKL aktivitesi gözlemlenmedi.

MSM tedavi gruplarında 2. ve 4. haftalarda RANKL aktivitesi gözlemlenirken 8. haftada RANKL aktivitesi gözlemlenmedi.

3.2.2 RUNX2 pozitifitesi

Günümüzdeki literatür bilgilerine uygun olarak odontoblastik aktiviteyi değerlendirmek RUNX2 primer antikor ile inkübe maksilla dokusuna ait kesitler pulpa ekspozu sonrasında; sağlıklı kontrol grubuna ait odontoblastlar normal histolojik yapıya sahipti (Resim 20a, Tablo 4). Bunun aksine Kontrol 2. hafta grubunda çok sayıda odontoblastlarda yoğun RUNX2 pozitifitesi gözlemlendi (Resim 21a, $p<0.005$, Tablo 7). Kontrol 2. hafta grubunun kontrol 4. ve 8. haftalardaki kontrol grupları ile kıyasladığımızda ise RUNX2 pozitifitesinin azalmış olduğu gözlemlendi (Resim 22a, $p<0.005$, Tablo 7).

Kontrol 2. hafta grubunu MTA 2. hafta grubu ile kıyasladığımızda RUNX2 pozitifitesi MTA 2. hafta grubunda anlamlı olarak artmış olduğu saptandı (Resim 23-19a, $p<0.005$, Tablo 7). MTA 2. Hafta grubunu 4.hafta ve 8. hafta grubu ile kıyasladığımızda; MTA 4. hafta ve MTA 8. Hafta gruplarında RUNX2 pozitifitesi gösteren odontoblastların sayısında azalma olduğu gözlemlendi (Resim 24-26a, $p<0.005$, Tablo 7).

Kontrol 2. hafta gurubu ile MSM 2. hafta gruplarının RUNX2 pozivitesi bakımından kıyasladığımızda; MSM 2. hafta grubunda RUNX2 pozitifitesi gösteren odontoblastların sayısı kontrol 2. Hafta grubuna kıyasla anlamlı olarak artmış olduğu izlendi (Resim 23a, 27a, $p<0.005$, Tablo 7). MSM tedavi 2. hafta grubu ile MTA tedavi 2. hafta grupları arasında RUNX2 pozitifitesi gösteren odontoblastlar açısından herhangi bir fark saptanmadı (Resim 23a, 27a, $p>0.005$, Tablo 7). Benzer olarak MSM tedavi 2. Hafta grubunu MSM tedavi 4. hafta ve 8. hafta grubuyla kıyasladığımızda

RUNX2 aktivitesi gösteren odontoblastların sayısında azalma olduğu saptandı (Resim 24-27a, $p<0.005$, Tablo 7).



Tablo 6. Histopatolojik Hasar Skorlaması Sonuçları (medyan-%25-%75'lik çeyrekler arası değer).

Grup	Nekrotik Odontoblastlar	Ödematöz Alanlar	İnflamasyon	Vasküler Konjesyon	HHS
Sağlıklı Kontrol	0(0-1)	0(0-0.5)	0(0-0)	0(0-0.5)	1(0-1)
Kontrol 2. hafta	2.5(2-3) ^{a,d}	2(2-2) ^{a,d}	2(2-3) ^{a,d}	1(1-2) ^{a,d}	8(6.5-9) ^{a,d}
Kontrol 4. hafta	2(2-2) ^{a,d}	2(1-2) ^{a,d}	2(1-2) ^{a,d}	1(0.5-1) ^{a,d}	6.5(5.5-7.5) ^{a,d}
Kontrol 8. hafta	1(0-1) ^b	0(0-1) ^b	0.5(0-1) ^b	1(0-1) ^b	2(1-4) ^b
MTA 2. Hafta	1.5(1-1) ^{a,b,c}	1 (0.5-1) ^{a,b,c}	0.5 (0-1) ^{a,b,c}	1 (0-1) ^{a,b,c}	3.5(2-4) ^{a,b,c}
MTA 4. Hafta	1(0-1) ^{a,b,c}	0.5(0-1) ^{a,b,c}	0(0-1) ^{a,b,c}	0(0-1) ^{a,b,c}	1(1-3) ^{a,b,c}
MTA 8. Hafta	0.5(0-0.5) ^{b,c,e,f}	0(0-1) ^{b,c,e,f}	0(0-1) ^{b,c,e,f}	0(0-0.5) ^{b,c,e,f}	1(0-2) ^{b,c,e,f}
MSM 2. Hafta	1(1-1.5) ^{a,b,c}	1(1-1) ^{a,b,c}	0(0-1) ^{a,b,c}	0(0-1) ^{a,b,c}	3(2-4) ^{a,b,c}
MSM 4. Hafta	0.5(0-1) ^{b,c}	0.5(0-1) ^{b,c}	0(0-1) ^{b,c}	0.5(0-1) ^{b,c}	2(1.5-3) ^{b,c}
MSM 8. Hafta	0(0-1) ^{b,c,e,f,g,h}	0(0-1) ^{b,c,e,f,g,h}	0(0-0) ^{b,c,e,f,g,h}	0(0-0.5) ^{b,c,e,f,g,h}	1(0-2) ^{b,c,e,f,g,h}

^a $p < 0.05$; sağlıklı kontrol grubuna kıyasla,

^b $p < 0.05$; Kontrol 2. Hafta grubun kıyasla,

^c $p < 0.05$; Kontrol 4. Hafta grubun kıyasla,

^d $p < 0.05$; Kontrol 8. Hafta grubun kıyasla,

^e $p < 0.05$; MTA 2. Hafta grubun kıyasla,

^f $p < 0.05$; MTA 4. Hafta grubun kıyasla,

^g $p < 0.05$; MTA 8. Hafta grubun kıyasla,

^h $p < 0.05$; MSM 2. Hafta grubun kıyasla,

Kruskal Wallis/Tamhane T2 Test

Tablo 7. Semi-kantitatif Analiz Skorlaması (mediyan-%25-%75'lik çeyrekler arası değer).

Grup	RANKL Pozitivite Skorlaması	Runx2 Pozitivite Skorlaması
Sağlıklı Kontrol	0(0-0)	0(0-0)
Kontrol 2. hafta	3(2-3) ^{a,d}	3(2-3) ^{a,d}
Kontrol 4. hafta	0(0-1) ^{a,d}	0(0-1) ^{a,d}
Kontrol 8. hafta	0(0-0.5) ^{a,d}	0(0-0.5) ^{a,d}
MTA 2. Hafta	2(2-3) ^b	2(2-3) ^b
MTA 4. Hafta	0(0-1) ^{a,b,c}	0(0-1) ^{a,b,c}
MTA 8. Hafta	0(0-0) ^{a,b,c}	0(0-0) ^{a,b,c}
MSM 2. Hafta	3(2-3) ^{b,c,e,f}	2(2-3) ^{b,c,e,f}
MSM 4. Hafta	1(0-1) ^{a,b,c}	0.5(0-1) ^{a,b,c}
MSM 8. Hafta	0(0-1) ^{b,c}	0(0-0) ^{b,c}

^a $p < 0.05$; sağlıklı kontrol grubuna kıyasla,

^b $p < 0.05$; Kontrol 2. Hafta grubuna kıyasla,

^c $p < 0.05$; Kontrol 4. Hafta grubuna kıyasla,

^d $p < 0.05$; Kontrol 8. Hafta grubuna kıyasla,

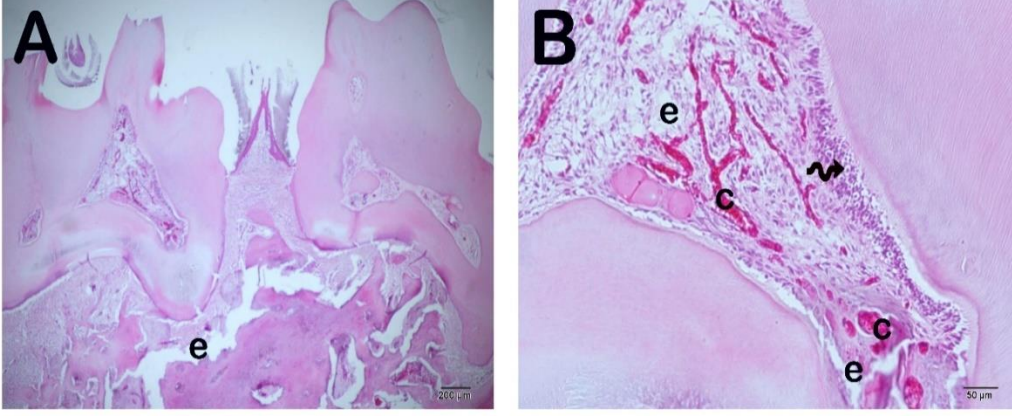
^e $p < 0.05$; MTA 2. Hafta grubuna kıyasla,

^f $p < 0.05$; MTA 4. Hafta grubuna kıyasla,

^g $p < 0.05$; MTA 8. Hafta grubuna kıyasla,

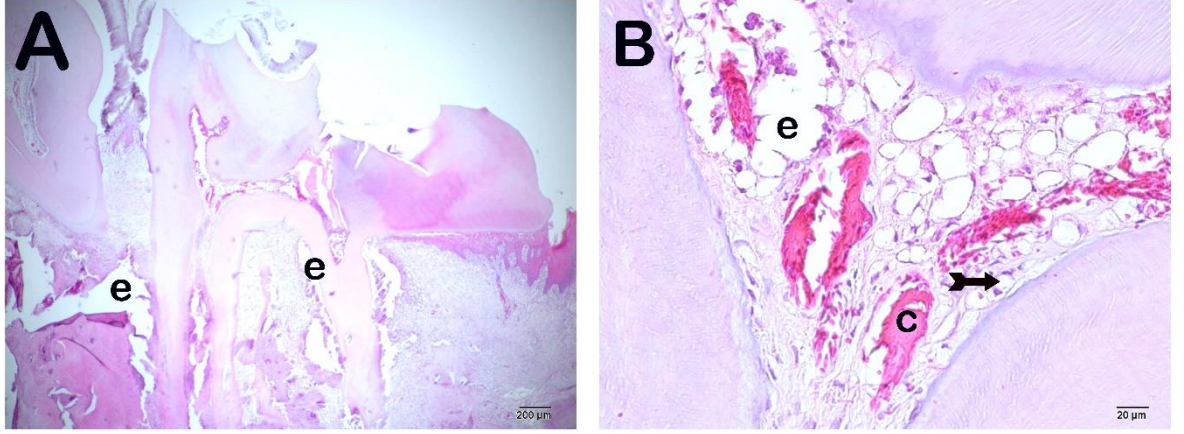
^h $p < 0.05$; MSM 2. Hafta grubuna kıyasla,

Kruskal Wallis/Tamhane T2 Test



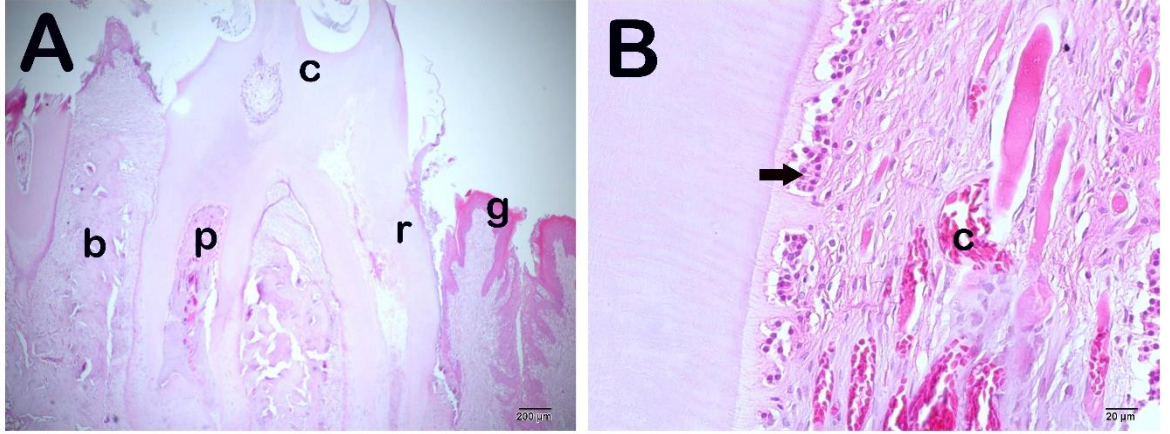
Resim 6. H+E ile boyanmış kontrol 2. Hafta grubuna ait kesitlerin maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.

A(x10)-B(x40) Kontrol 2. Hafta: Maksilla kesitlerinde yaygın ödematöz alanlar (e), vasküler konjesyonlar (c) ve odontoblastlarda yaygın nekrozis (n) izlenmektedir (HHS:1(0-1)).



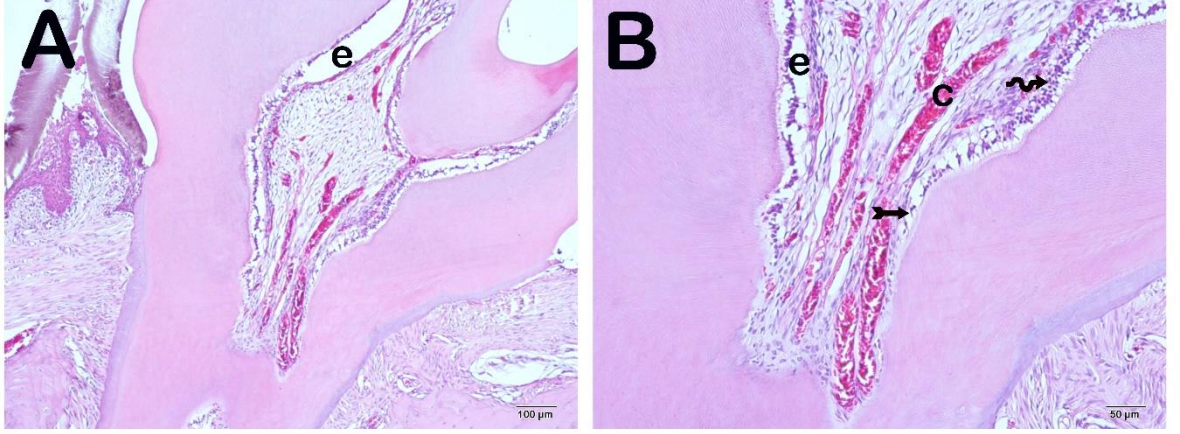
Resim 7. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.

A(x10)-B(x40) Kontrol 4. Hafta: Maksilla kesitlerinde yaygın ödematöz alanlar, vasküler konjesyonlar ve odontoblastlarda yaygın nekrozis izlenmektedir (HHS:8(6.5-9)).



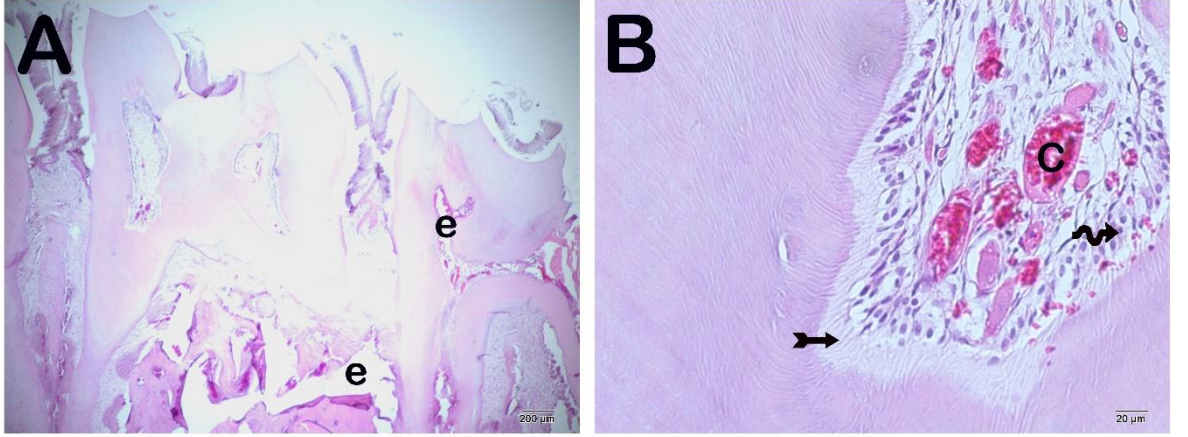
Resim 8. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.

A(x10)-B(x40) Kontrol 8. Hafta: Maksilla kesitlerinde ödematöz alanlarda tipik yapıdaki kemik krest (b), dil pulpası (p) ve diş pulpasında odontoblastlar (ok) izlenmektedir (HHS: 2 (1-4)).



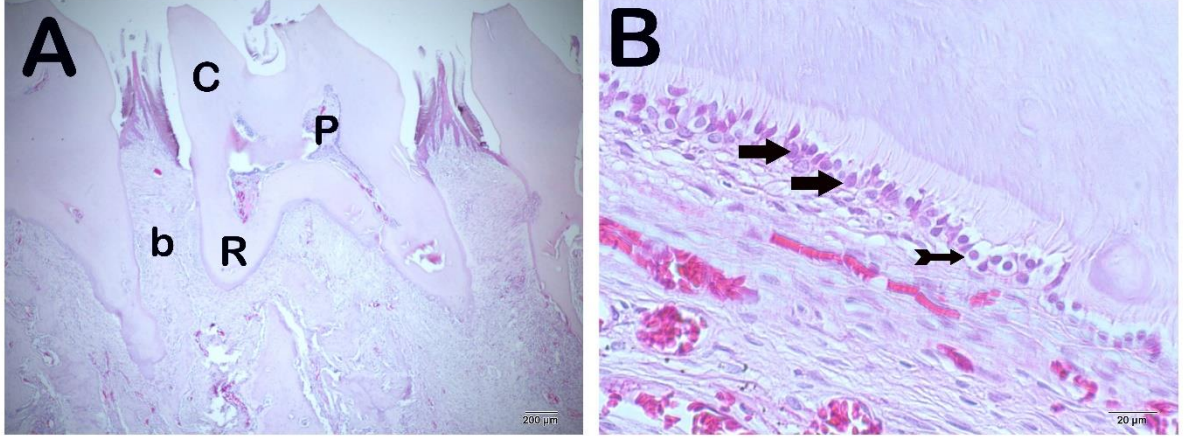
Resim 9. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskobik ekran görüntüsü.

A(x10)-B(x40) MTA 2. Hafta: Maksilla kesitlerinde yaygın ödematöz alanlar ve infiltratif alanlara gözlenmektedir. Bunun yanında, pulpadaki odontoblastlarda yaygın nekrotik hücreler gözlenmektedir (HHS:3.5(2-4)).



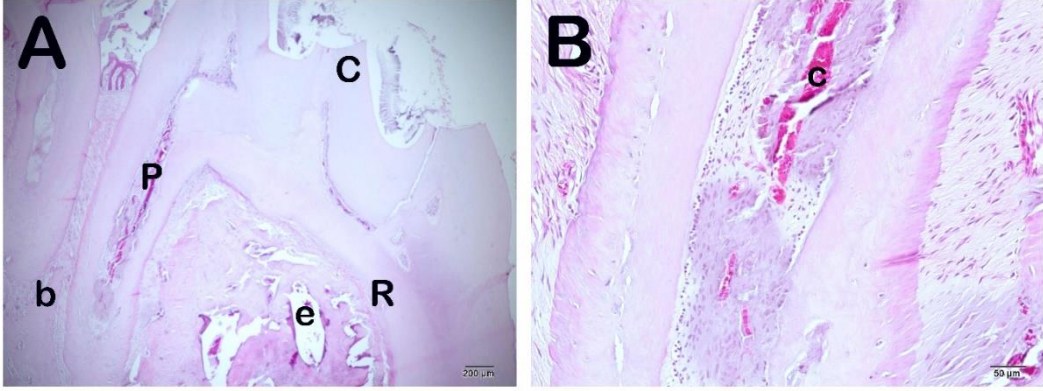
Resim 10. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.

A(x10)-B(x40) MTA 4. Hafta: Maksilla kesitlerinde orta derecede ödematöz alanlar ve orta derecede infiltratif alanlara izlenmektedir. Bunun yanında, yer yer pulpadaki odontoblastlarda yaygın nekrotik hücreler gözlenmektedir (HHS:1(1-3)).



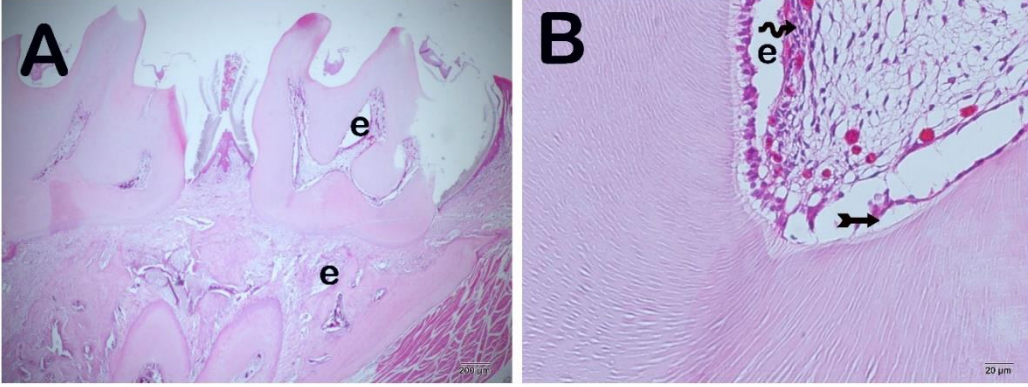
Resim 11. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskobik ekran görüntüsü.

A(x10)-B(x40) MTA 8. Hafta: Maksilla kesitlerinde yaygın tipi odontoblastlar (ok) izlenmektedir. Bunun yanında yer yer apoptotik odontoblastlar gözlemlenmektedir (kuyruklu ok). Özellikle infiltratif hücrelerin ve ödematöz alanların azalmış olması dikkat çekmekle beraber diş dokusunda tipik yapıda diş taç kısmı (c), diş kökü (r), diş dil pulpası (p) izlenmektedir. (HHS:1(0-2)).



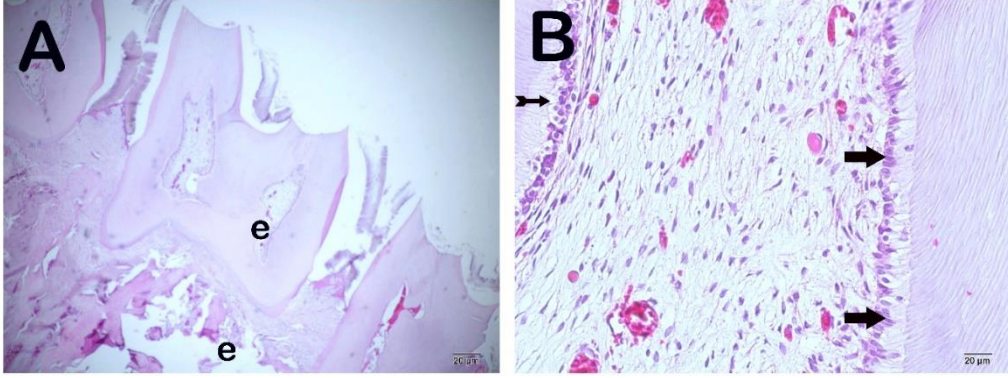
Resim 12. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.

A(x10)-B(x40) MSM 2. Hafta: Maksilla kesitlerinde yaygın sitoplazmalarında yaygın vakuoller içeren nekrotik odontoblastlar (ok) ile beraber vasküler konjesyonlar (c) izlenmektedir. Bunun yanında yer yer apoptotik odontoblastlar gözlemlenmektedir (kuyruklu ok). Özellikle infiltratif hücrelerin ve ödematöz alanların azalmış olması dikkat çekmekle beraber diş dokusunda tipik yapıda diş taç kısmı (c), diş kökü (r), diş dil pulpası (p) izlenmektedir (HHS:3(2-3)).



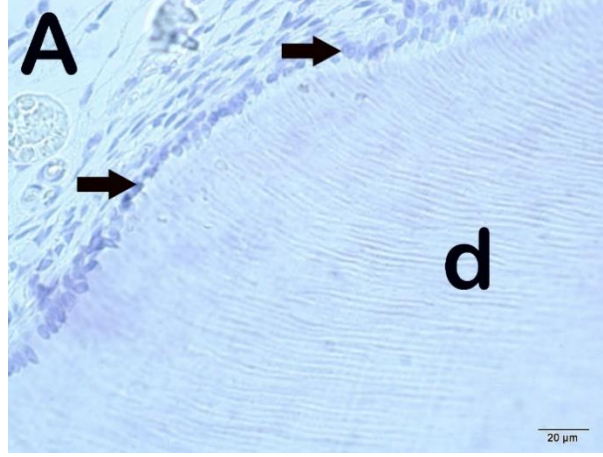
Resim 13. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.

A(x10)-B(x40) MSM 4. Hafta: Maksilla kesitlerinde orta derecede nekrotik odontoblastlar izlenmektedir (kuyruklu ok). Bunun yanında vasküler konjesyon, infiltratif alanlar ve ödematöz alanlarda azalma gözlemlenmektedir (HHS:2(1.5-3)).



Resim 14. H+E ile boyanmış maksilla kesitlerine ait temsili ışık mikroskobik ekran görüntüsü.

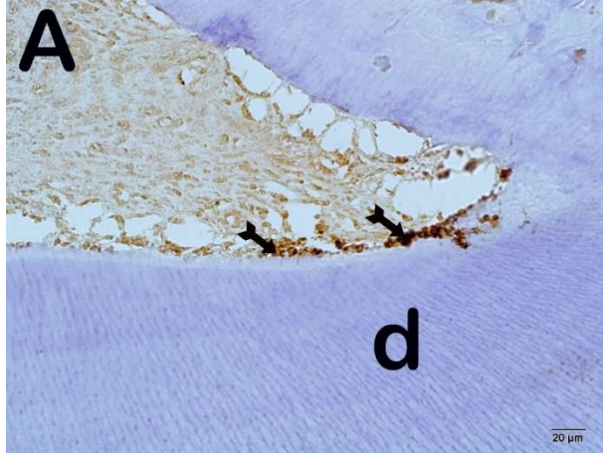
A(x10)-B(x40) MSM 8. Hafta: Maksilla kesitlerinde tipik odontoblastlar (ok) yanında az da olsa nekrotik odontoblastlar izlenmektedir. (Kuyruklu ok). Orta derecede ödematöz alanların gözlenmektedir (HHS:1(0-2)).



Resim 15. RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

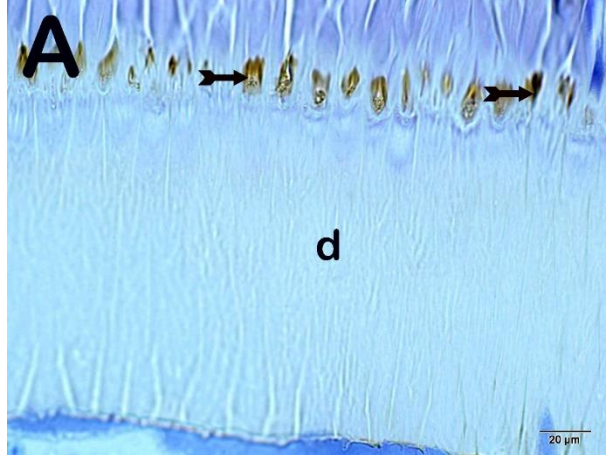
A(x10) Sağlıklı Kontrol Grup: RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerde yaygın olarak immün negatif hücreler izlenmektedir (RANKL pozitivite skoru: 0(0-0)).



Resim 16. RANKL primer antikorü ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait ışık mikroskobik resmi.

Dentin (d)

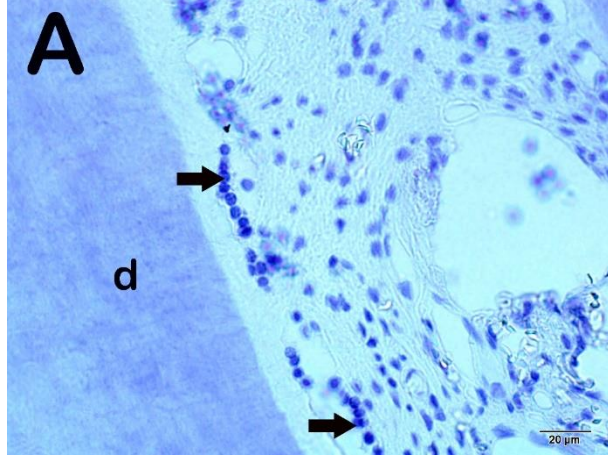
A(x10) Kontrol 2. Hafta Grup: RANKL primer antikorü ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerin RANKL pozitivitesi gösteren odontoblastlar gözlenmektedir (RANKL pozitive skoru: 3(2-3)).



Resim 17. RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

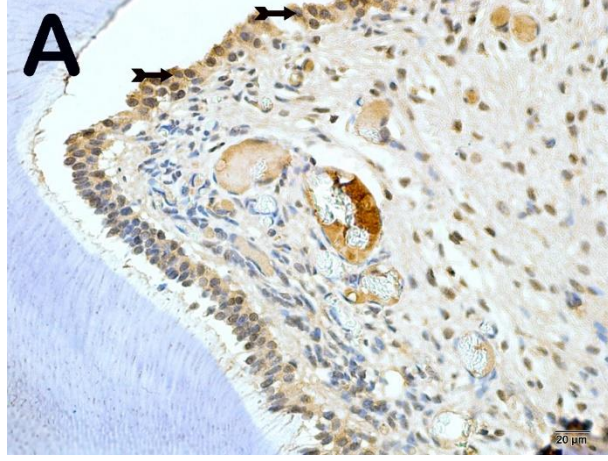
A(x10) Kontrol 4. Hafta Grup: RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda orta derecede RANKL pozitifitesi izlenmektedir (RANKL pozitifite skoru: 0(0-1)).



Resim 18. RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait ışık mikroskopik resmi

Dentin (d)

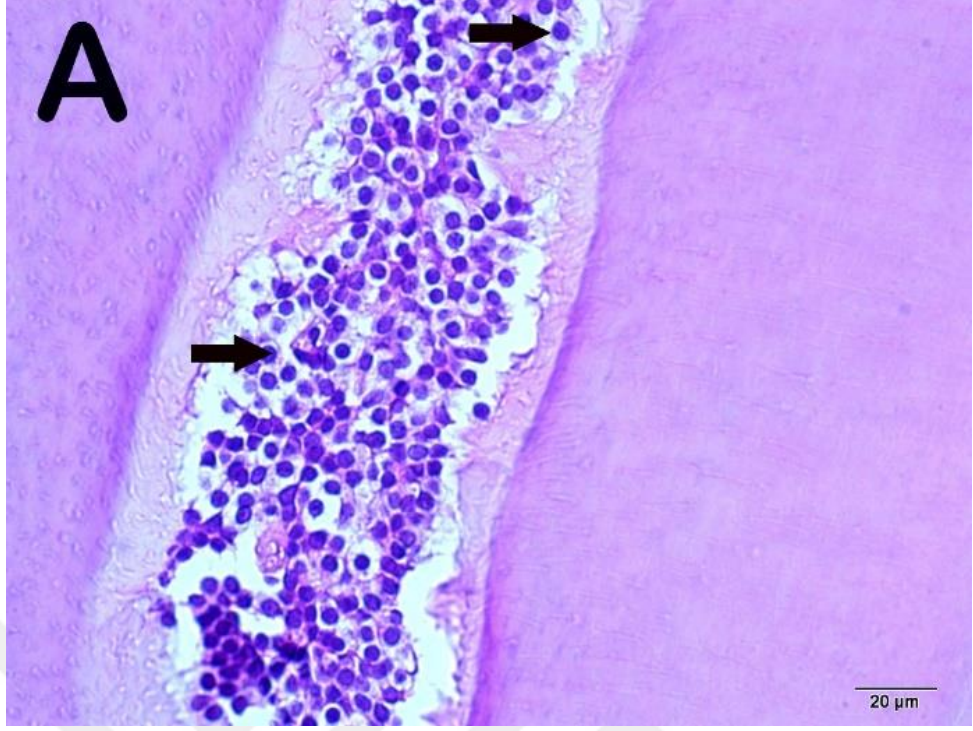
A(x10) Kontrol 8. Hafta Grup: RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda RANKL pozitifitesinin azaldığı gözlenmektedir (RANKL pozitifite skoru: 0(0-0.5)).



Resim 19. RANKL primer antikorü ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskobik resmi

Dentin (d)

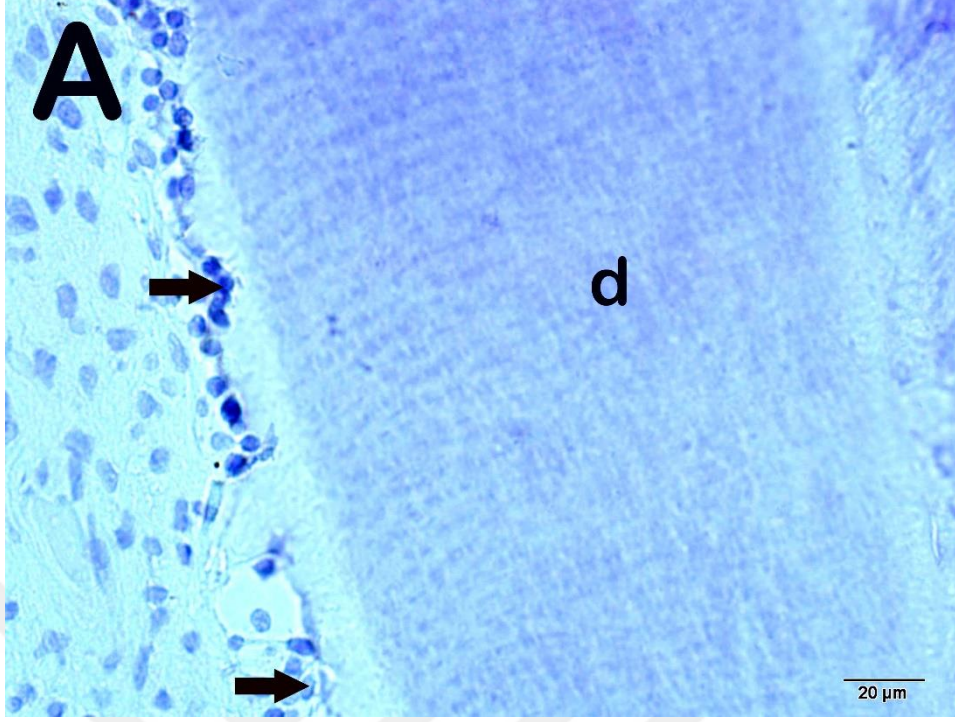
A(x10) MTA 2. Hafta Grup: RANKL primer antikorü ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda RANKL pozitifitesinin azaldığı gözlenmektedir (RANKL pozitifite skoru: 2(2-3)).



Resim 20. RANKL primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskobik resmi.

Dentin (d)

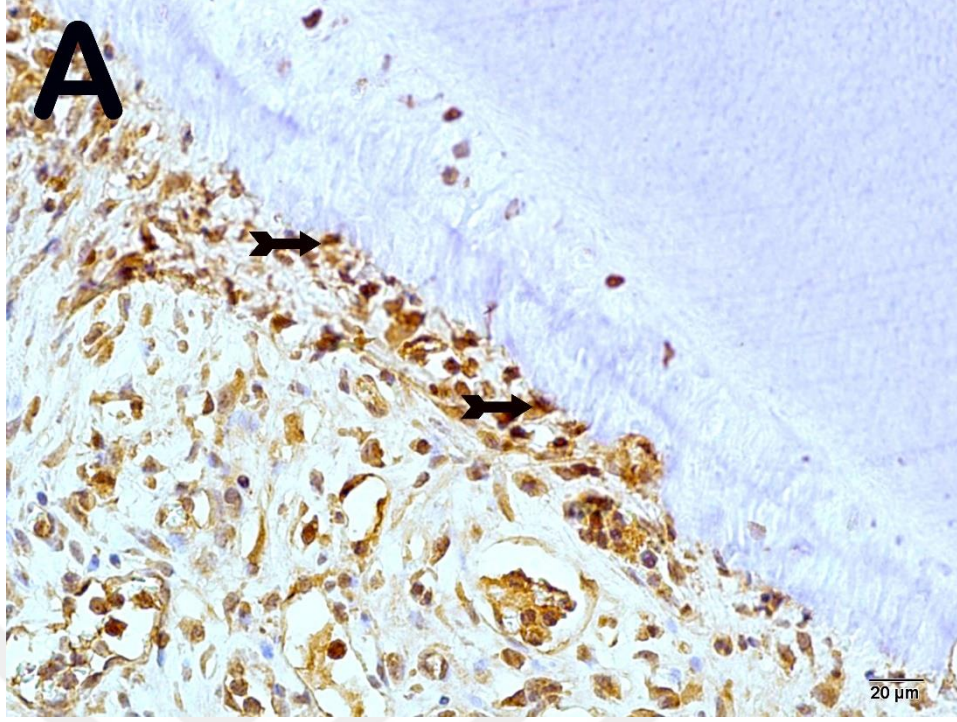
A(x10) MTA 4. Hafta Grup: RANKL primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda RANKL pozitifitesinin azaldığı gözlenmektedir (RANKL pozitifite skoru: 0(0-1)).



Resim 21. RANKL primer antikoruna ile inkube edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

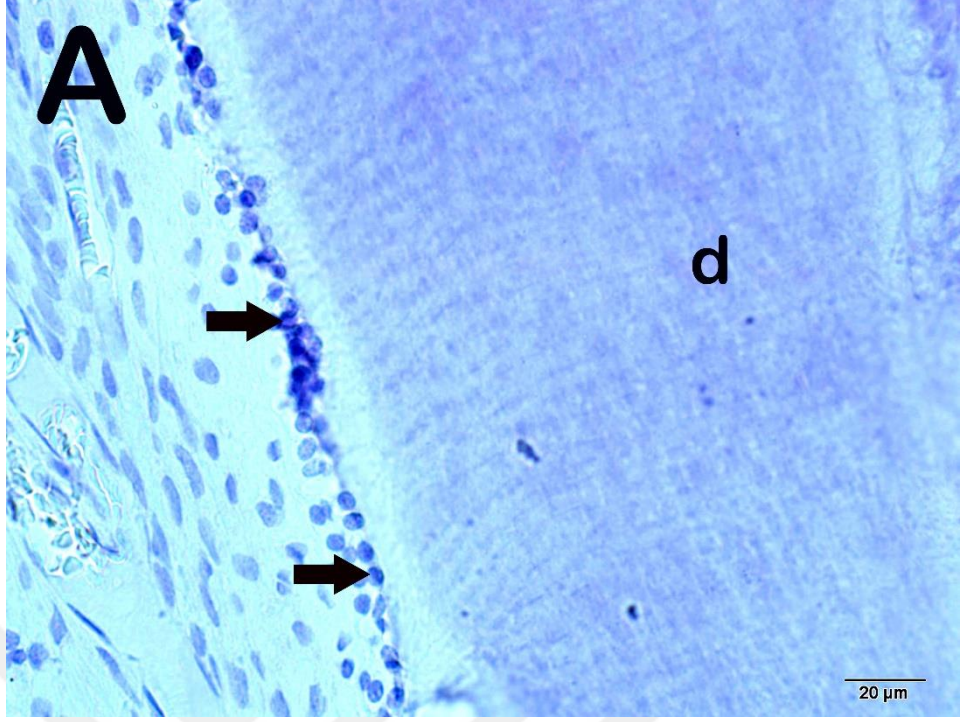
A(x10) MTA 8. Hafta Grup: RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda immün-negatif olduğu gözlenmektedir (RANKL pozitivite skoru: 0(0-0)).



Resim 22. RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

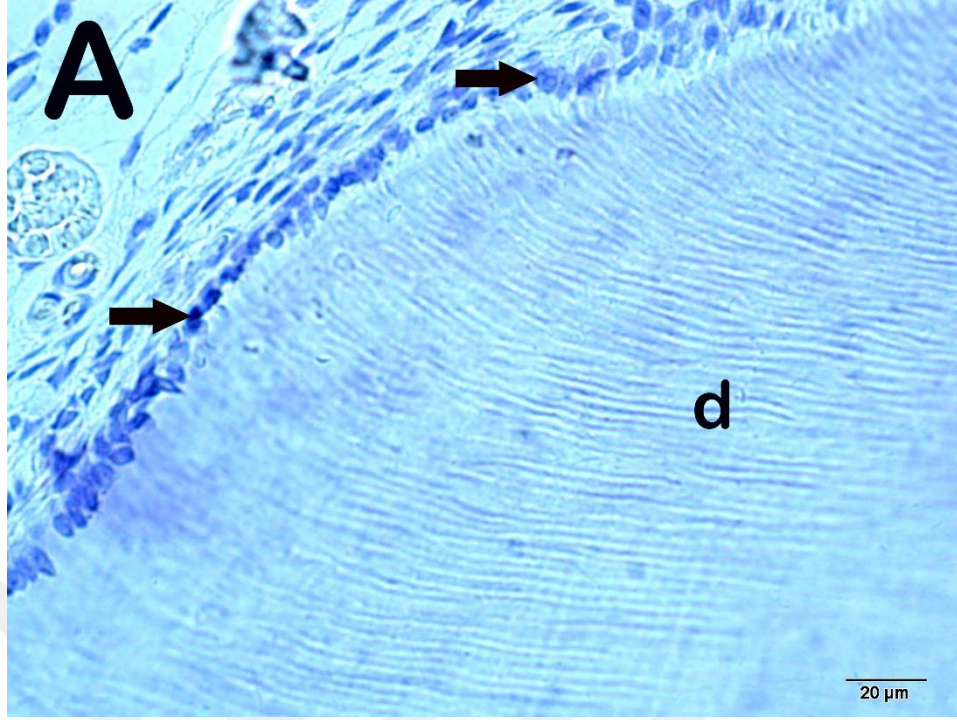
A(x10) MSM 2. Hafta Grup: RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda yoğun RANKL pozitivitesi izlenmektedir (RANKL pozitivite skoru: 3(2-3)).



Resim 23. RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

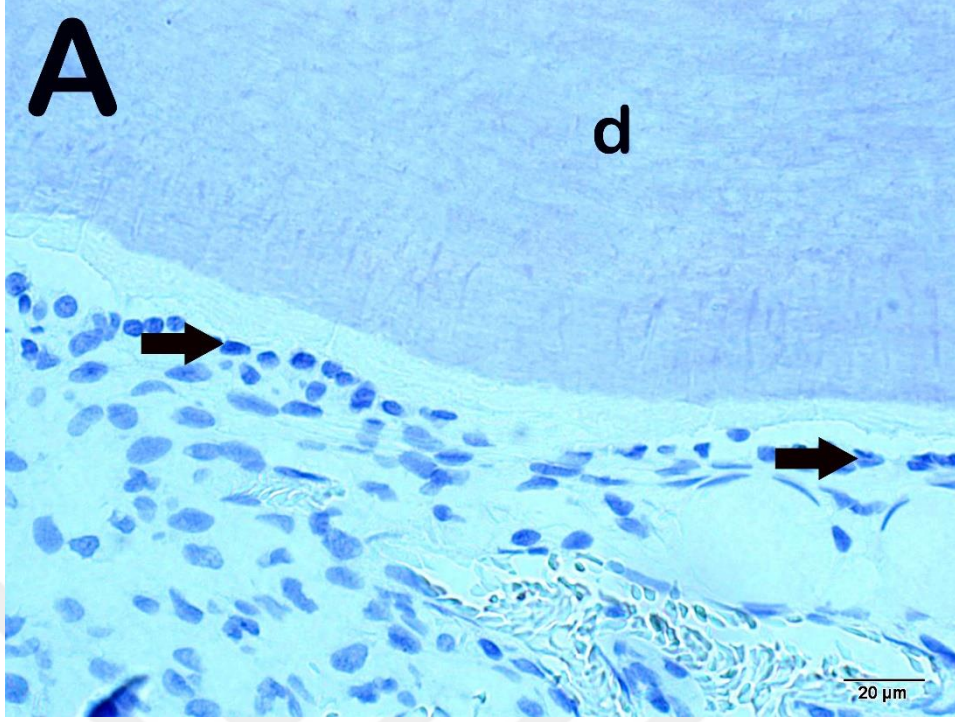
A(x10) MSM 4. Hafta Grup: RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda RANKL pozitifitesinin azaldığı gözlenmektedir (RANKL pozitifite skoru: 1(0-1)).



Resim 24. RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

A(x10) MSM 8. Hafta Grup: RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastların immün-negatif olduğu izlenmektedir (RANKL pozitivite skoru: 0(0-1)).



Resim 25. RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

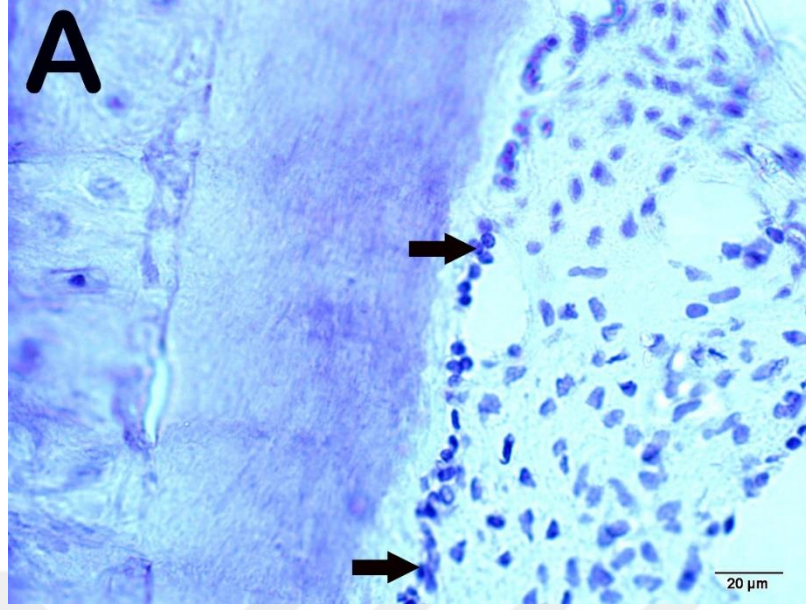
A(x10) Sağlıklı Kontrol Grup: RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerde yaygın olarak immün negatif hücreler izlenmektedir (RUNX2 pozitivite skoru: 0(0-0)).



Resim 26. RUNX2 primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

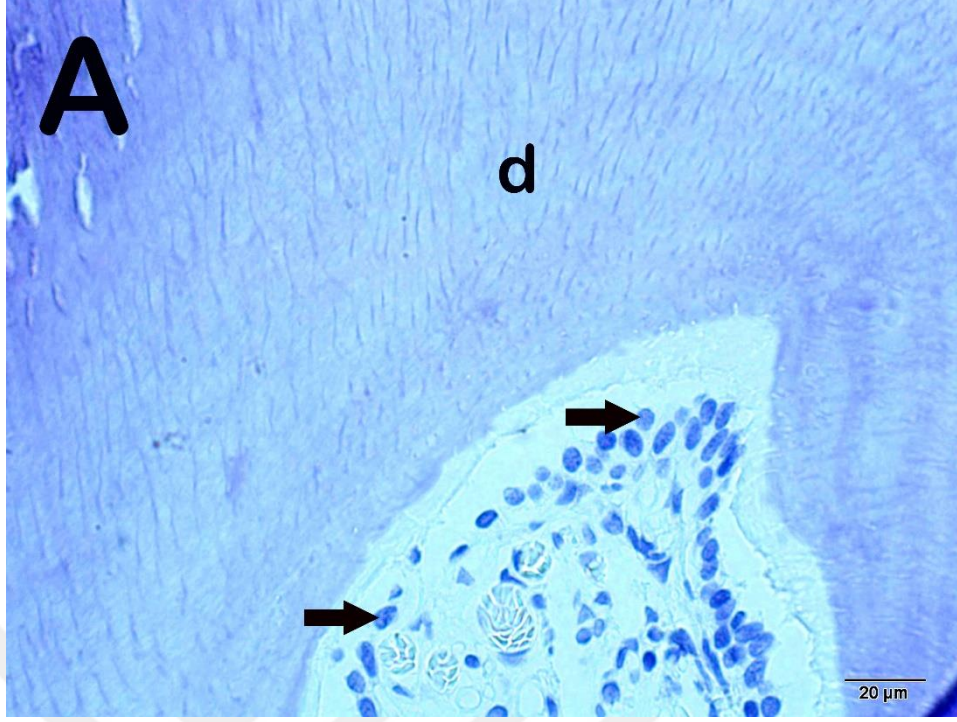
A(x10) Kontrol 2. Hafta Grup: RUNX2 primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde yoğun RUNX2 pozitivitesi gösteren odontoblastlar gözlenmektedir (RUNX2 pozitivite skoru: 3(2-3)).



Resim 27. Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

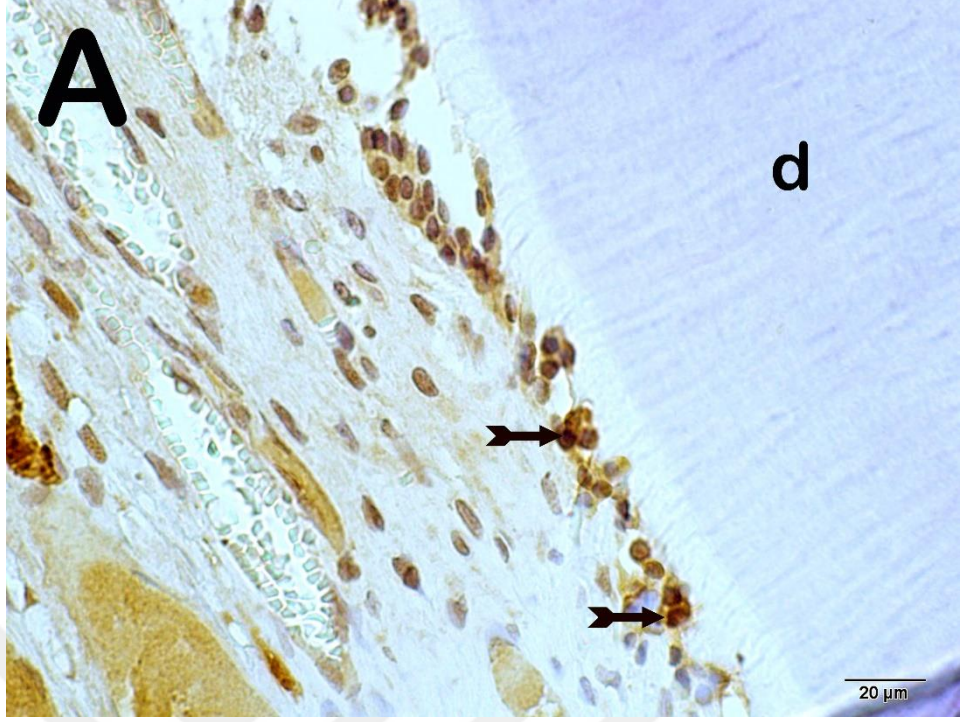
A(x10) Kontrol 4. Hafta Grup: RANKL primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde yoğun RUNX2 pozitivitesi gösteren odontoblastların azaldığı izlenmektedir (RUNX2 pozitivite skoru: 0(0-1)).



Resim 28. RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

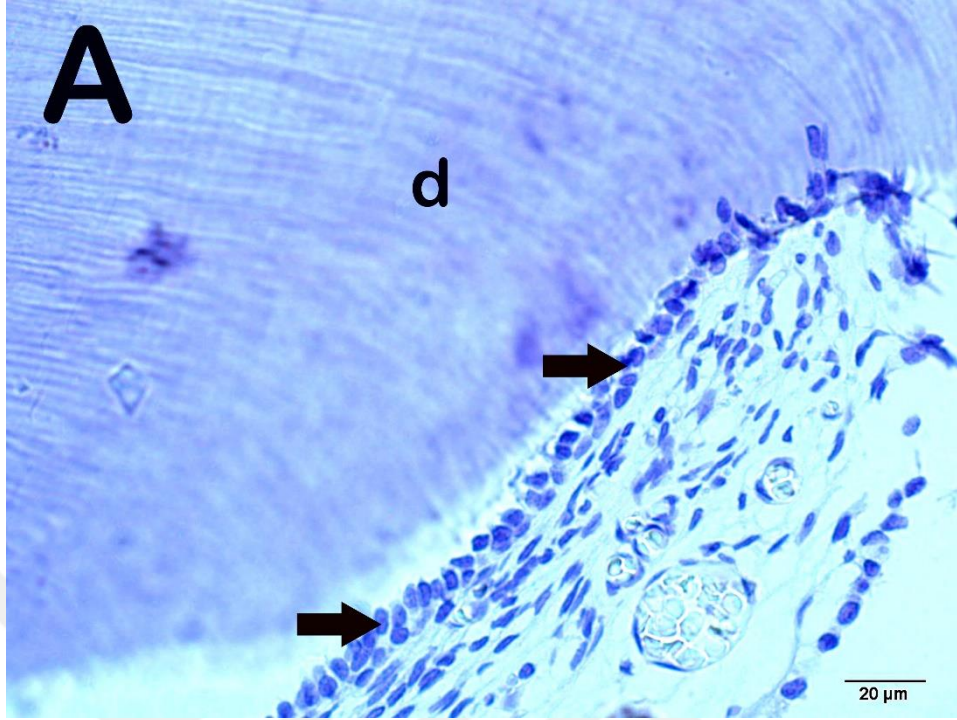
A(x10) Kontrol 8. Hafta Grup: RANKL primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde yoğun RUNX2 pozitivitesi bakımında odontoblastların immün-negatif olduğu izlenmektedir (RUNX2 pozitivite skoru: 0(0-0.5)).



Resim 29. RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

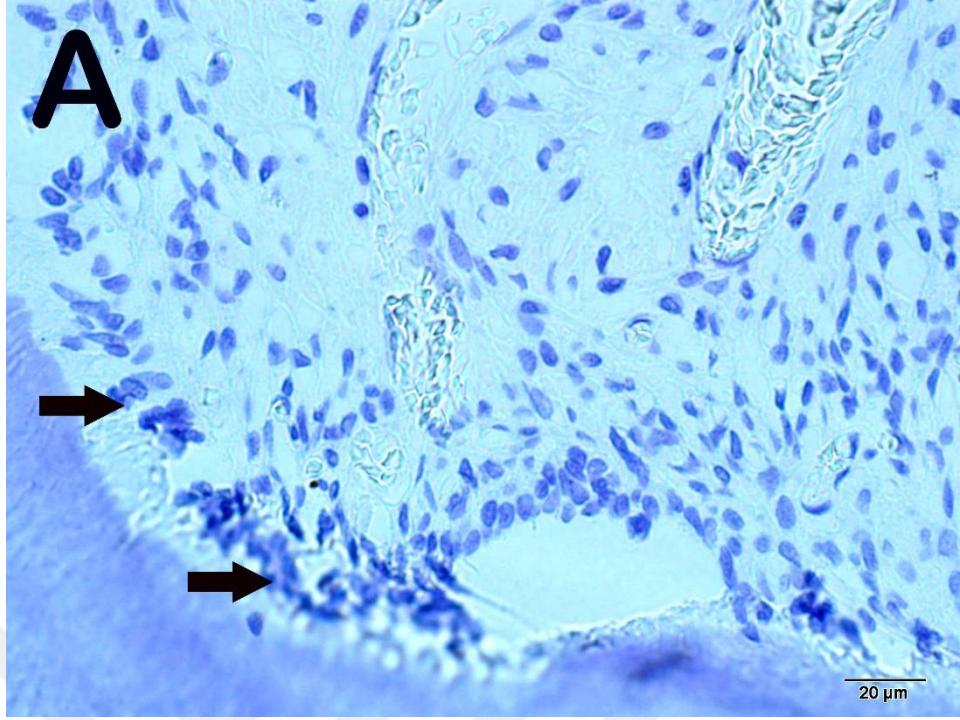
A(x10) MTA 2. Hafta Grup: RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde yoğun RUNX2 pozitifitesi gösteren odontoblastlar gözlenmektedir (RUNX2 pozitifite skoru: 2(2-3)).



Resim 30. RUNX2 primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskobik resmi.

Dentin (d)

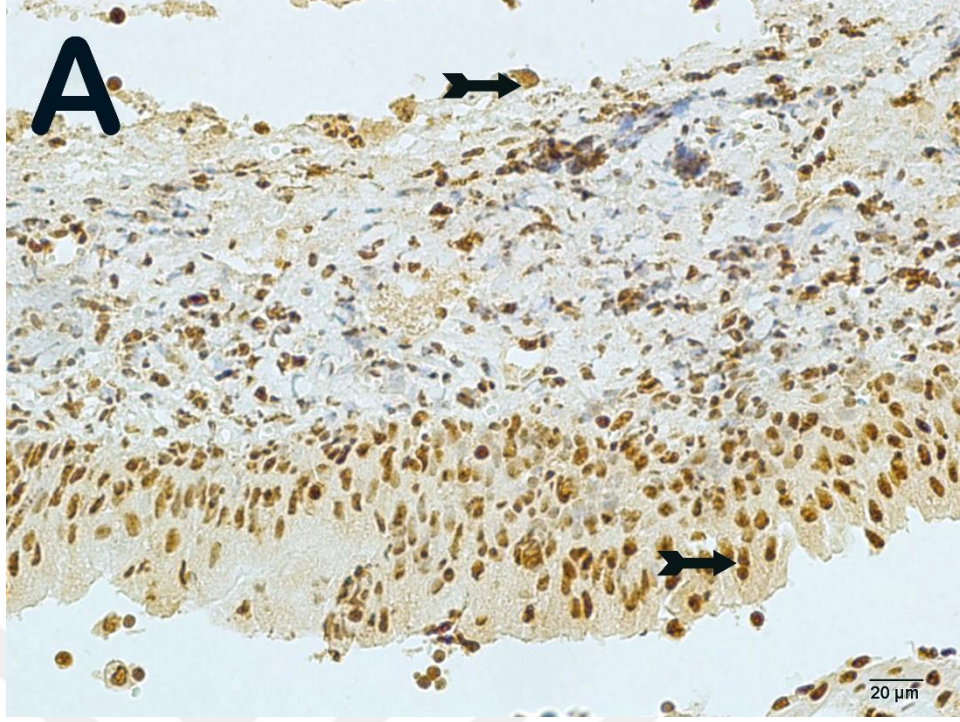
A(x10) MTA 4. Hafta Grup: RUNX2 primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde RUNX2 pozitivitesi gösteren odontoblastların azaldığı izlenmektedir (RUNX2 pozitivite skoru: 0(0-1)).



Resim 31. RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

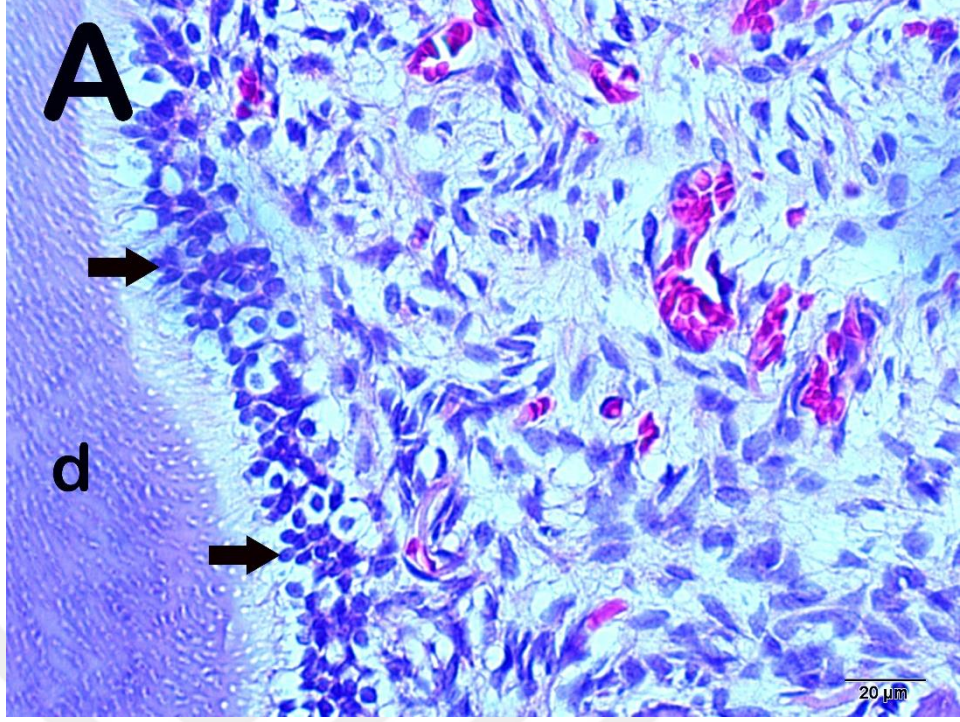
A(x10) MTA 8. Hafta Grup: RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde RUNX2 pozitivitesi bakımından odontoblastların immün-negatif olduğu izlenmektedir (RUNX2 pozitivite skoru: 0(0-0)).



Resim 32. RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

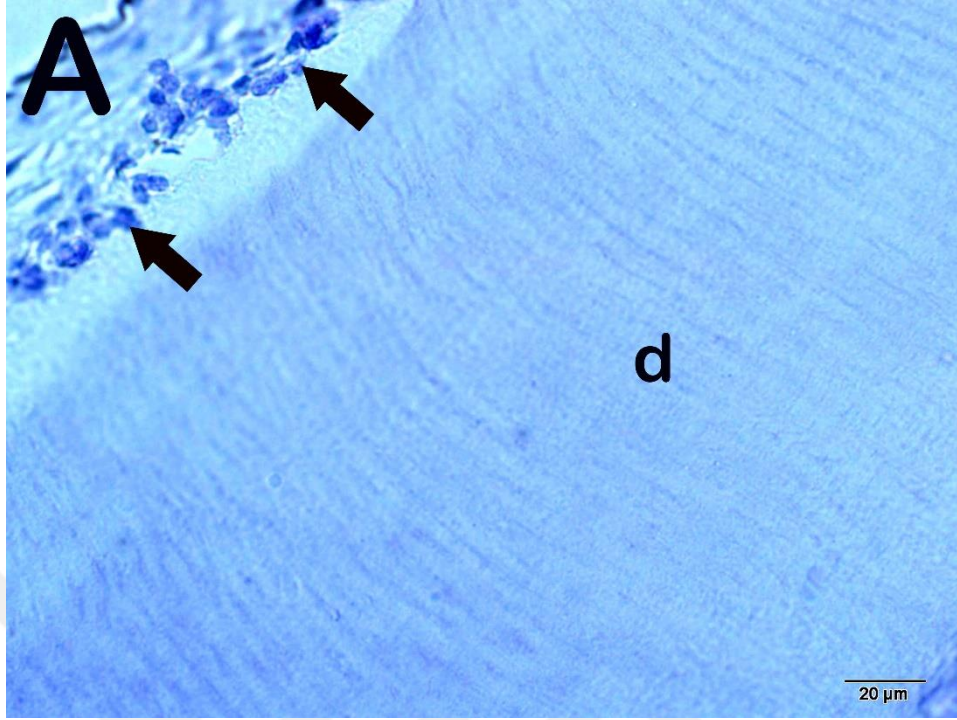
A(x10) MSM 2. Hafta Grup: RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda yoğun RUNX2 pozitivitesi izlenmektedir (RUNX2 pozitivite skoru: 2(2-3)).



Resim 33. RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskopik resmi.

Dentin (d)

A(x10) MSM 4. Hafta Grup: RUNX2 primer antikoruna ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda RUNX2 pozitifitesinin azaldığı gözlenmektedir (RUNX2 pozitifite skoru: 0.5(0-1)).



Resim 34. RUNX2 primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait temsili ışık mikroskobik resmi.

Dentin (d)

A(x10) MSM 8. Hafta Grup: RUNX2 primer antikoru ile inkübe edilmiş maksilla dokusuna ait kesitlerinde odontoblastlarda RUNX2 pozitivitesinin azaldığı gözlenmektedir (RUNX2 pozitivite skoru: 0(0-0)).

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada MTA ve MSM'nin pulpa ekspozunda kullanımı sonrası farklı zaman aralıklarındaki RUNX2, OPG/ RANKL yolakları ile olan ilişkisi immünohistokimyasal olarak incelendi.

Direkt pulpa kaplaması ve vital pulpotominin, irreversibl pulpitis olmayan dişler için en sık kullanılan iki vital pulpa koruyucu tedavisi olduğu bildirilmiştir. Bu tür diş prosedürleri, diş pulpa dokusunu korumayı, dentin-pulpa kompleksinin fizyolojik işlevini sürdürmeyi ve olgunlaşmamış dişlerde kök gelişiminin devam etmesini amaçlamaktadır. Vital pulpa tedavisi sırasında, uygun bir pulpa kaplama maddesi kullanılmakta ve doğrudan pulpa dokusuna yerleştirilmektedir. Bu nedenle biyouyumluluk, anti-inflamatuar özellik ve sitotoksosite, yeni bir materyalin pulpa kaplama maddesi olarak kullanılmasından önce tam olarak değerlendirilmelidir (Dou ve ark, 2020).

Pulpa kuafajı ajanları olarak çeşitli malzemeler kullanılmıştır (Banava ve ark., 2015; Moazzami ve ark., 2014). Geleneksel olarak, KH içeren çeşitli bileşimler kullanılmıştır ve son yıllarda direkt pulpa kaplaması söz konusu olduğunda MTA önerilmiştir (Hørsted ve ark., 1985; Torabinejad ve ark., 1993). Direkt pulpa kaplaması materyallerine pulpal yanıt olarak, farklılaşmamış hücrelerin sekonder odontoblastlar oluşturmak üzere birikmesi ve proliferasyonundan sorumlu tutulan kapaklama ajanının altında sert doku bariyeri oluşumu gözlenmektedir (Goldberg & Smith, 2004). MTA'nın sert doku bariyeri oluşumunu indüklemeye başarılı olduğu belirtilmesine rağmen (FORD ve ark., 1996), kullanımındaki zorluklar, gecikmiş sertleşme süresi, diş renginin değişmesi ve yüksek maliyet gibi bazı dezavantajlara sahip olduğu bildirilmiştir (Asgary ve ark., 2009).

Çok sayıda araştırmacı insan ve rat dişleri arasında morfometrik benzerlikler olduğunu belirtmiştir (Pinzon ve ark., 1967; Schour & Van Dyke, 1934). Rat dişlerinin histolojik ve fizyolojik olarak olduğu kadar, biçim ve işlev olarak da insan dişlerine olan benzerliği bildirilmektedir (Kozlov & Massler, 1960; Schour, 1949). Bu nedenle

rat dişleri yaralanmalara karşı pulpa tepkisi de dahil olmak üzere birtakım ilaçları ve deneysel koşulları değerlendirmek için kullanılmıştır (CC ve ark., 1997). Rat dişlerinin biyoaktif moleküllere karşı potansiyel insan diş pulpası reaksiyonlarını değerlendirmek için faydalı bir model oldukları kanıtlanmıştır (CC ve ark., 1997; Sloan & Smith, 1999).

Pulpa kuafajını da içeren vital pulpa tedavileri, kimyasal, bakteriyel, mekanik veya termal hasarın toksik etkilerinden pulpal dokuyu koruyarak pulpa hasarını en aza indirmektedir (Rutherford & Fitzgerald, 1995). Bu nedenle vital pulpa tedavisi, pulpayı kaplayarak tersiyer dentin oluşumunu uyardığı ve reversibl pulpa yaralanmalarını tedavi ettiği belirtilmektedir (Tziafas ve ark., 2000).

Odontoblast hücrelerinin daha hafif uyaranlara yanıt olarak gelişmesiyle oluşan reaksiyoner dentin, daha güçlü uyaranlara yanıt olarak yeni nesil odontoblast benzeri hücreler tarafından oluşturulan onarıcı dentinden daha düzenli yapıda olduğu bildirilmiştir. Daha tübüler ve kalsifiye üçüncül dentini indüklemek için pulpa kaplama malzemeleri için daha hafif uyaranlar önerilmektedir (Tziafas ve ark., 2000).

Birçok araştırmacı MTA'nın biyoyumlu olduğunu ve enflamasyon belirtisi olmaksızın tam dentin köprüsü oluşumunu indüklediğini bildirmiştir (Faraco Junior & Holland, 2004; Tziafas ve ark., 2002). MTA'nın ana bileşenleri trikalsiyum silikat, bizmut oksit, dikalsiyum silikat, kalsiyum sülfat dehidrat ve trikalsiyumdur. Camilleri & Pitt Ford, MTA'nın bileşenlerini ve biyoyumluluğunu gözden geçirmiştir. Ayrıca bu materyal çeşitli yöntemlerle araştırılmış ve deri altı, kemik, bağ, vasküler periradiküler ve pulpa dokularında faydalı reaksiyonlar gözlemlenmiştir. Pulpal dokularda MTA kullanılan çalışmalarda, fibroblastlarda, osteoblast benzeri hücrelerde ve pulpa hücrelerinde hücre büyümesi gözlemlenmiştir (Camilleri & Pitt Ford, 2006). Yapılan bu çalışmada MTA grubunda odontoblastlarda diş pulpasında inflamasyon, vasküler konjesyon ve PMNL bulgularında nekrotik hücre sayısında azalma olduğu saptandı.

Osteoklastlar kısa ömürlü terminal olarak farklılaşmış hücreler olup, M-CSF, IL-1, RANKL veya TNF α gibi sitokinlerin yokluğunda hızlı apoptoza uğramaktadır. Suda ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada MTA'nın osteoklast hücrelerinde apoptozu hızlandırdığı gösterilmiştir (Suda ve ark., 1999).

Mevcut deneyler, odontoblast benzeri hücreler açısından MTA'nın önceki açıklamaları ile uyumlu bulunmaktadır (de Souza Costa ve ark., 2008). Orhan ve ark. yaptığı bir çalışmada MTA uygulaması ile en yüksek sayıda odontoblast benzeri hücreler hem 7 hem de 28 günlük ölçümlerde gözlenmiştir. MTA grubundaki odontoblast benzeri hücre sayıları da kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Ford ve ark. (1996) ve Bates ve ark. (1996), MTA'nın dentin köprüsü oluşumunu hızlandırma yeteneğini vurgulamıştır (Bates ve ark., 1996; FORD ve ark., 1996). Ayrıca, Aeinehchi ve ark. , kalsiyum hidroksite kıyasla dentin köprüsü oluşumunda MTA kullanımının avantajını vurgulamıştır (Aeinehchi ve ark., 2003). MTA'nın bu olumlu özelliği, iyi sızdırmazlık yeteneği, biyouyumluluğu ve düşük toksisitesinden kaynaklanabilmektedir (Cox ve ark., 1987; Faraco Junior & Holland, 2004). Yapılan çalışmanın sonucunda MTA ve MSM'nin odontoblastik rejenerasyonu hızlandırdığı, MSM nin ise MTA'ya göre bunu daha hızlı yaptığı saptandı.

Periradiküler iyileşme, Runx2'ye bağlı olan osteoblastları içermektedir. Perinpanayagam ve ark. MTA materyalinin osteoblastlarda Runx2 ekspresyonunu destekleyip desteklemediğini belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında, MTA materyalinin, osteoblastlarda hücre bağlanmasını ve Runx2 ekspresyonunu desteklediğini göstermişlerdir. Bu çalışma ProRoot MTA'nın olumlu bir hücresel yanıtı destekleyebildiğini göstermiş ve önceki çalışmaları doğrulamıştır. MTA yüzeyleri, osteogenezis için gerekli olan osteoblast hücre bağlanmasını, matris sentezini ve Runx2 ekspresyonunu desteklemiştir. Ayrıca, MTA'nın alternatif formülasyonlarının da benzer bir yanıtı destekleyebileceği gösterilmiştir (Perinpanayagam & Al-Rabeah, 2009).

RANKL reseptör aktivatörü, bir sitokindir ve osteoklastın yaşam süresinin tüm evrelerinde önemli bir moleküldür. Kemik metabolizmasının fizyolojik ve patolojik kontrolünün anahtar düzenleyicisi olduğunu belirten araştırmalar bulunmaktadır (Takahashi ve ark., 1999). RANKL, romatoid artrit, osteoporoz, Paget hastalığı, kemik tümörleri, osteolitik yüz lezyonları ve periodontitis gibi kemik yıkımı ile karakterize çeşitli patolojilerle ilişkilendirilmiştir (Taubman & Kawai, 2001). Osteoklast farklılaşması ve aktivasyonunda görevli olduğu ve düzenleyici sitokinlerin ortak son yolu olduğu belirtilmiştir. RANK ve RANKL eksikliği olan farelerde radyografik olarak uzun kemiklerde, gövdelerinde ve kaburgalarında opaklık ve önemli ölçüde artmış toplam ve trabeküler kemik yoğunluğu ile karakterize edilen şiddetli osteopetroz sergilemişlerdir (Stashenko ve ark., 1998).

Kemik rezorpsiyonu, CSF-1 ve RANKL etkisi osteoklastlarda hücre farklılaşması ile başlamaktadır. Osteoklast aktivitesi, osteoklastın bazal yüzeyi ile kemik yüzeyi arasında oluşan vakuolüne RANKL ile enzim sekresyonuna sebep olmaktadır. Kemik minerali ve kollajen matrislerinin bozulmasından sorumlu iki enzim olan TRAP ve katepsin K'nin aktivasyonuna yol açarak kemik rezorpsiyonuna da yol açmaktadır (Boyle ve ark., 2003). MTA, osteoklastın yaşamı süresince farklılaşmasını ve işlevini etkilemektedir.

MTA'nın osteoklast öncüllerinin kaynaşmasını önleyerek osteoklast farklılaşmasını engellediği ve osteoklast öncülerinde RANKL ile indüklenen asidik veziküler organel oluşumunu ve otofajik vakuol görünümünü kesintiye uğrattığı gösterilmiştir (Boyle ve ark., 2003). MTA ile kapatılmış perforasyondan 60 gün sonra, MTA gruplarında osteoblast sayısının daha yüksek olduğu da gözlenmiştir (da Fonseca ve ark., 2019). Bu çalışmada MTA ve MSM gruplarında 4.haftalarda odontoblastlarda RANKL pozitifitesi azaldı ve 8. Haftalarda RANKL aktivitesi gözlemlenmedi.

Osteoklast gelişimi ve aktivasyonu için çok önemli olan üç proteinin RANKL, RANK ve onun tuzak reseptörü olan OPG olduğu belirtilmektedir. Osteoklastlar, M-CSF, IL-1, RANKL veya TNF-a gibi sitokinlerin yokluğunda kısa ömürlü terminal

olarak farklılaşmış hücreler olduğu ve hızlı apoptoza uğradığı belirtilmiştir (Boyle ve ark., 2003). Hashiguchi ve ark. ProRoot MTA'nın etkisini analiz ettiği çalışmada osteoklast inhibisyonu üzerine ve MTA solüsyonunun apoptozu artırarak, osteotropik faktör ile indüklenen OPG mRNA'yı bloke ederek ve osteoblastlarda protein azalması yoluyla osteoklastogenezi inhibe ettiği sonucuna varmıştır. Yine aynı çalışmada kalsiyumun MTA'dan çözünmesinin osteoklastik kemik rezorpsiyonu üzerindeki inhibitör etkisi gösterdiği kanaatine varmışlardır (Hashiguchi ve ark., 2011). Bu çalışmada MTA ve MSM gruplarının Kontrol gruplarına kıyasla hasarlı dokudaki rejenerasyonu hızlandırdığı ve özellikle infiltratif hücrelerin sayısının alanların azalmış olduğu saptandı.

Aljohani ve ark yaptıkları çalışmalarda, MSM'nin insan ekfoliyeye süt dişlerinde osteoblast benzeri hücrelere farklılaşmasını etkilediğini göstermiştir. Aljohi ve ark. 2021 yılında fareler üzerinde yaptıkları çalışmalarda, deri altından 13 hafta boyunca MSM enjekte edilen farelerde hiçbir işlemin yapılmadığı kontrol grubuna göre mandibulada daha az kemik kaybı gözlenmiştir (Aljohani ve ark., 2021). Bu çalışmada MSM grubudaki ratlarda nekrotik odontoblast sayılarının azaldığı gözlemlendi.

Mezenkimal kök hücrelerin (MSC'ler) osteojenik farklılaşması, Runx2 ve alkalen fosfataz (ALP) dahil olmak üzere genlerin ekspresyonu ve ardından hücre dışı matris sentezi ve mineralizasyonu ile karakterize edilmektedir (Dieudonne ve ark., 2013). Runx2, kemik gelişimi ve kemiğin yeniden şekillenmesi sırasında osteoblast farklılaşmasında, korunmuş bir promotör sekansına bağlanmada ve kollajen $\alpha 1$, osteopontin, kemik sialoproteini ve osteokalsin dahil olmak üzere osteojenik proteinleri kodlayan genleri transaktive etmede önem taşımaktadır. BMP-2 ve BMP-7 dahil olmak üzere çoklu BMP izotipleri, MSC'lerin osteojenik farklılaşmasına neden olmaktadır (Katagiri ve ark., 1990). Metilsülfonilmetan, insanlar için toksik olmayan ve dimetilsülfon olarak da bilinen bir bileşik içeren basit, uçucu bir organik kükürttür. MSM alımı meyve, sebze, tahıl ve hayvan tüketimi yoluyla mümkün olmaktadır (Morton & Siegel, 1986). Bu bileşik, Janus kinaz 2/sinyal transdüserini ve transkripsiyon (STAT)5b sinyali yolunun aktivatörünü etkileyerek MSC'lerin

osteoblastlara farklılaşmasını etkilemektedir. Bununla birlikte, MSM ve BMP-2 kemik oluşum yolunu etkilese de, ikisinin kombinasyonunun osteoblastik farklılaşma üzerindeki etkileri üzerinde çok az araştırma mevcuttur (Joung ve arkadaşları, 2012). Bu çalışmada MSM hücrelerde rejenerasyonu hızlandırdı ve inflamasyon bulgularını azalttı.

Kim ve ark. yaptığı bir çalışmada MSM ve BMP-2 kombinasyonunun BMP-2 sinyalini uyarmak için kullanılabileceğini ve böylece osteoblast farklılaşmasını desteklediğini göstermiştir. MSM BMP-2 ile indüklenen osteoblastik farklılaşmayı pozitif olarak düzenler, bu da MSM'nin kemik oluşumunda önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, MSM'nin osteoblast farklılaşması ve kemik mineralizasyonunun bozulduğu osteoporoz gibi kemik dokuyu yıkan durumlar için umut verici bir terapötik ajan olarak potansiyel olarak yararlı olabileceği bildirilmiştir (Kim ve ark., 2009). Yapılan çalışmada MSM'nin osteoblastik rejenerasyonu hızlandırdığı ve MSM gruplarında ödematöz alanların azaldığı saptandı.

MSM'nin osteojenik farklılaşma üzerindeki etkilerini değerlendirmeye odaklanan birkaç çalışma mevcuttur (D. N. Kim ve ark., 2016). Bu çalışmalar, MSM'nin osteojenik farklılaşmayı artırma yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir (Deiana ve ark., 2019). Bununla birlikte, MSM'nin progenitör hücreler üzerindeki genel etkilerini değerlendirmek ve MSM'nin hem osteojenik hem de kondrojenik farklılaşmayı nasıl teşvik edebileceğini anlamak için çok az çalışma yapılmıştır. Carbonare ve arkadaşları MSM tedavisinin hem in vitro hem de in vivo osteojenik farklılaşmayı etkilediği gösterilmiştir. RUNX2 ile indüklenen genlerin ekspresyonunun arttığını gözlemlemişlerdir. MSM ile tedavi edilen hücrelerde RUNX2'nin ise kendi ekspresyonu azaldığını göstermişlerdir. Bu bağlamdan yola çıkarak MSM'nin osteoblast öncesi oluşumunu teşvik etmedeki rolünü açıklamışlardır. MSM ile tedavi edilen hücrelerde AR boyaması ile değerlendirilen kalsiyum birikimi artışının yanı sıra osteokalsin pozitif hücrelerin artan yüzdesi osteoblast olgunlaşmasını teşvik etmede MSM'nin rolünün olduğunu göstermişlerdir. Osteojenik olgunlaşmanın indüklenmesi, 7 ve 14 günlük tedaviden sonra artan kalsin

boyamasının gözlendiği zebra balığı modelinde de gözlenmiştir (Dalle Carbonare ve ark., 2021).

Bu alışma pulpa ekspozu sonucunda odontoblastik aktiviteyi RANKL ve Runx2 yolakları üzerinde ele alan ilk çalışma olmakla beraber çalışmanın birtakım sınırlamaları mevcuttu. Öncelikle çalışmamız haftalar düzeyinde odontoblastik aktivite değerlendirilmesi odaklı olduğundan her gelişim haftası kendi moleküler yolaklarını ele alan diğer çalışmalar ile desteklenmelidir. Yine odontoblastik aktivitelerin tespitinde günümüzde literatür bilgisine uygun olarak RANKL ve Runx2 primer antikörlerini belirledik. Bunun yanında bu çalışma makrofaj koloni stimulan faktör I(CSF-I), Kemik morfojenik faktör-2 (BMP-2), Glut-I gibi moleküler analizler ile desteklenmelidir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada pulpa ekspozu sonucunda odontoblastlarda nekrozis, diş pulpasında ödem, vasküler konjesyonlar ve inflamasyon kaynaklı doku hasarı gözlemlendi. Bunun yanında gelişen bu hasarın rejenerasyon RANKL ve RUNX2 pozitivitesini etkileyerek pulpa dokusunun rejenere olduğu gözlemlendi. MTA ve MSM tedavilerinin ise pulpotomi sonrası gelişen dokusu hasarını RANKL ve RUNX2 pozitivitesini artırarak sekizinci haftadan dördüncü haftaya kadar hızlandırdığı saptandı. Bunun yanında MSM tedavisinin sekizinci haftada MTA tedavisine kıyasla doku hasarını daha iyi rejenere ettiği saptandı.

Yapılan çalışmanın limitasyonları dahilinde elde edilen bulgulardan yola çıkarak pulpa ekspozu sonrası pulpanın örtülmesinde kullanılan MSM materyalinin pulpa üzerindeki anti-inflamatuar özellik ve doku hasarındaki rejenerasyon yeteneği açısından MTA materyaline göre daha başarılı sonuçlar gösterdiği elde edilmiştir. Konu ile ilgili daha farklı histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler ve deney ortamları ile daha ileri çalışmalar yapılmasının daha kapsamlı sonuçlar doğuracağı öngörülmektedir.

KAYNAKÇA

- Aeinehchi, M., Eslami, B., Ghanbariha, M., & Saffar, A. (2003). Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. *International Endodontic Journal*, 36(3), 225-235.
- Aksoy, B. (2013). Süt Dişlerinde Ferrik Sülfat Amputasyonunda Kullanılan Farklı Kaide Materyallerinin Başarıya Etkilerinin Klinik ve Radyografik Olarak İncelenmesi.
- Al-Zayer, M. A., Straffon, L. H., Feigal, R. J., & Welch, K. B. (2003). Indirect pulp treatment of primary posterior teeth: a retrospective study. *Pediatric dentistry*, 25(1), 29-36.
- Alam, S. S., & Layman, D. L. (1983). *Dimethyl sulfoxide inhibition of prostacyclin production in cultured aortic endothelial cells.*
- Aljohani, H., Senbanjo, L. T., Al Qranei, M., Stains, J. P., & Chellaiah, M. A. (2021). Methylsulfonylmethane Increases the Alveolar Bone Density of Mandibles in Aging Female Mice. *Frontiers in physiology*, 12.
- Andelin, W. E., Shabahang, S., Wright, K., & Torabinejad, M. (2003). Identification of hard tissue after experimental pulp capping using dentin sialoprotein (DSP) as a marker. *Journal of endodontics*, 29(10), 646-650.
- Asgary, S., Eghbal, M. J., Parirokh, M., Ghoddusi, J., Kheirieh, S., & Brink, F. (2009). Comparison of mineral trioxide aggregate's composition with Portland cements and a new endodontic cement. *Journal of endodontics*, 35(2), 243-250.
- Aydin, S., & Şahin, F. (2019). Stem cells derived from dental tissues. *Cell Biology and Translational Medicine*, Volume 5, 123-132.
- Banava, S., Fazlyab, M., Heshmat, H., Mojtahedzadeh, F., & Motahhary, P. (2015). Histological evaluation of single and double-visit direct pulp capping with different materials on sound human premolars: a randomized controlled clinical trial. *Iranian Endodontic Journal*, 10(2), 82.
- Bansal, M., Gupta, N., Gupta, P., Arora, V., & Thakar, S. (2017). Reasons for extraction in primary teeth among 5-12 years school children in Haryana,

- India-A cross-sectional study. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 9(4), e545.
- Barrager, E., Veltmann Jr, J. R., Schauss, A. G., & Schiller, R. N. (2002). A multicentered, open-label trial on the safety and efficacy of methylsulfonylmethane in the treatment of seasonal allergic rhinitis. *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 8(2), 167-173.
- Basdra, E. K., & Komposch, G. (1997). Osteoblast-like properties of human periodontal ligament cells: an in vitro analysis. *European journal of orthodontics*, 19(6), 615-621.
- Bates, C. F., Carnes, D. L., & Carlos, E. (1996). Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *Journal of endodontics*, 22(11), 575-578.
- Baume, L. J., & Holz, J. (1981). Long term clinical assessment of direct pulp capping. *International dental journal*, 31(4), 251-260.
- Begue-Kirn, C., Smith, A. J., Ruch, J. V., Wozney, J. M., Purchio, A., Hartmann, D., & Lesot, H. (2004). Effects of dentin proteins, transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) and bone morphogenetic protein 2 (BMP2) on the differentiation of odontoblast in vitro. *International Journal of Developmental Biology*, 36(4), 491-503.
- Belibasakis, G. N., & Bostanci, N. (2012). The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 39(3), 239-248.
- Bishop, M., & Yoshida, S. (1992). A permeability barrier to lanthanum and the presence of collagen between odontoblasts in pig molars. *Journal of anatomy*, 181(Pt 1), 29.
- Bjørndal, L., & Thylstrup, A. (1998). A practice-based study on stepwise excavation of deep carious lesions in permanent teeth: a 1-year follow-up study. *Community dentistry and oral epidemiology*, 26(2), 122-128.
- Boushell, L. W., & Sturdevant, J. R. (2014). Clinical significance of dental anatomy, histology, physiology, and occlusion. *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry*, 1-40.
- Boyle, W. J., Simonet, W. S., & Lacey, D. L. (2003). Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423(6937), 337-342.

- Bronckers, A., Engelse, M., Cavender, A., Gaikwad, J., & D'Souza, R. (2001). Cell-specific patterns of Cbfa1 mRNA and protein expression in postnatal murine dental tissues. *Mechanisms of development*, 101(1-2), 255-258.
- Butawan, M., Benjamin, R. L., & Bloomer, R. J. (2017). Methylsulfonylmethane: applications and safety of a novel dietary supplement. *Nutrients*, 9(3), 290.
- Camilleri, J., & Pitt Ford, T. (2006). Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. *International Endodontic Journal*, 39(10), 747-754.
- Carnes, D. L., Maeder, C. L., & Graves, D. T. (1997). Cells with osteoblastic phenotypes can be explanted from human gingiva and periodontal ligament. *Journal of periodontology*, 68(7), 701-707.
- Casagrande, L., Bento, L. W., Rerin, S. O., Resende Lucas, È. d., Dalpian, D. M., & de Araujo, F. B. (2008). In vivo outcomes of indirect pulp treatment using a self-etching primer versus calcium hydroxide over the demineralized dentin in primary molars. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 33(2), 131-136.
- CC, H. J., ZHANG, C., Sang-Suk, Y., & QIAN, Q. (1997). Platelet-derived growth factor-BB and epidermal growth factor as pulp capping medicaments in rat incisors. *Journal of hard tissue biology*, 6(3), 121-129.
- Cobourne, M. T., & Sharpe, P. T. (2003). Tooth and jaw: molecular mechanisms of patterning in the first branchial arch. *Archives of oral biology*, 48(1), 1-14.
- Cohen, B., & Combe, E. (1994). Development of new adhesive pulp capping materials. *Dental update*, 21(2), 57-62.
- Costa, C., Edwards, C. A., & Hanks, C. T. (2001). Cytotoxic effects of cleansing solutions recommended for chemical lavage of pulp exposures. *American Journal of Dentistry*, 14(1), 25-30.
- Cox, C. E., White, K. C., Ramus, D. L., Farmer, J. B., & Snuggs, H. M. (1992). Reparative dentin: factors affecting its deposition. *Quintessence International*, 23(4).
- Cox, C. F., Keall, C. L., Keall, H. J., Ostro, E., & Bergenholtz, G. (1987). Biocompatibility of surface-sealed dental materials against exposed pulps. *The Journal of prosthetic dentistry*, 57(1), 1-8.

- Cox, W. I., Specter, S., & Friedman, H. (1982). Susceptibility of Friend erythroleukemia cells to natural cytotoxicity after in vitro treatment with dimethyl sulfoxide. *Proc Soc Exp Biol Med*, 169(3), 337-342. <https://doi.org/10.3181/00379727-169-41354>
- d'Souza, R., Bachman, T., Baumgardner, K., Butler, W., & Litz, M. (1995). Characterization of cellular responses involved in reparative dentinogenesis in rat molars. *Journal of dental research*, 74(2), 702-709.
- da Fonseca, T. S., Silva, G. F., Guerreiro-Tanomaru, J. M., Delfino, M. M., Sasso-Cerri, E., Tanomaru-Filho, M., & Cerri, P. S. (2019). Biodentine and MTA modulate immunoinflammatory response favoring bone formation in sealing of furcation perforations in rat molars. *Clinical oral investigations*, 23(3), 1237-1252.
- Dalle Carbonare, L., Bertacco, J., Marchetto, G., Cheri, S., Deiana, M., Minoia, A., Tiso, N., Mottes, M., & Valenti, M. T. (2021). Methylsulfonylmethane enhances MSC chondrogenic commitment and promotes pre-osteoblasts formation. *Stem Cell Research & Therapy*, 12(1), 1-12.
- Dammaschke, T., Gerth, H. U., Züchner, H., & Schäfer, E. (2005). Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. *Dental Materials*, 21(8), 731-738.
- de Almeida Heilborn, J. C., Küchler, E. C., da Silva Fidalgo, T. K., Antunes, L. A. A., & Costa, M. C. (2011). Early primary tooth loss: prevalence, consequence and treatment. *IJD. International Journal of Dentistry*, 10(3), 126-130.
- de Souza Costa, C. A., Duarte, P. T., De Souza, P., Giro, E., & Hebling, J. (2008). Cytotoxic effects and pulpal response caused by a mineral trioxide aggregate formulation and calcium hydroxide. *American Journal of Dentistry*, 21(4), 255-261.
- Deiana, M., Malerba, G., Dalle Carbonare, L., Cheri, S., Patuzzo, C., Tsenov, G., Moron Dalla Tor, L., Mori, A., Saviola, G., & Zipeto, D. (2019). Physical activity prevents cartilage degradation: a metabolomics study pinpoints the involvement of vitamin B6. *Cells*, 8(11), 1374.
- Delikan, E. (2018). Süt dişi pulpotomi tedavilerinde kullanılan hemostatik ajanlar. *7tepe Klinik*, 14(2), 109-116.

- Demarco, F. F., Conde, M. C. M., Cavalcanti, B. N., Casagrande, L., Sakai, V. T., & Nör, J. E. (2011). Dental pulp tissue engineering. *Brazilian dental journal*, 22, 3-13.
- Demirci, T., Gürbüz, T., & Şengül, F. (2014). Dental rezin kompozitlerin sitotoksitesisi: Bir in vitro. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 24(1), 10-15.
- Dieudonne, F.-X., Sévère, N., Biosse-Duplan, M., Weng, J.-J., Su, Y., & Marie, P. J. (2013). Promotion of osteoblast differentiation in mesenchymal cells through Cbl-mediated control of STAT5 activity. *Stem Cells*, 31(7), 1340-1349.
- Dou, L., Yan, Q., & Yang, D. (2020). Effect of five dental pulp capping agents on cell proliferation, viability, apoptosis and mineralization of human dental pulp cells. *Experimental and therapeutic medicine*, 19(3), 2377-2383.
- Ebisuzaki, K. (2003). Aspirin and methylsulfonylmethane (MSM): a search for common mechanisms, with implications for cancer prevention. *Anticancer research*, 23(1A), 453-458.
- Eidelman, E. (1965). Remineralization of carious dentin treated with calciumhydroxide. *J Dent Child*, 32, 218.
- Elango, J., Bao, B., & Wu, W. (2021). The hidden secrets of soluble RANKL in bone biology. *Cytokine*, 144, 155559.
- Embery, G., Hall, R., Waddington, R., Septier, D., & Goldberg, M. (2001). Proteoglycans in dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 12(4), 331-349.
- Endodontology, E. S. o. (2006). Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *International Endodontic Journal*, 39(12), 921-930.
- Faraco Jr, I. M., & Holland, R. (2001). Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dental Traumatology*, 17(4), 163-166.
- Faraco Junior, I. M., & Holland, R. (2004). Histomorphological response of dogs' dental pulp capped with white mineral trioxide aggregate. *Brazilian dental journal*, 15, 104-108.

- Farhad, A., & Mohammadi, Z. (2005). Calcium hydroxide: a review. *International dental journal*, 55(5), 293-301.
- Fernandes, J. M., Massoni, A. C., Ferreira, J. M., & Menezes, V. A. (2013). Use of calcium hydroxide in deep cavities of primary teeth. *Quintessence international (Berlin, Germany: 1985)*, 44(6), 417-423.
- FORD, T. R. P., Torabinejad, M., Abedi, H. R., Bakland, L. K., & KARIYAWASAM, S. P. (1996). Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. *The Journal of the American Dental Association*, 127(10), 1491-1494.
- Foreman, P., & Barnes, I. (1990). A review of calcium hydroxide. *International Endodontic Journal*, 23(6), 283-297.
- Fox, A., & Heeley, J. (1980). Histological study of pulps of human primary teeth. *Archives of oral biology*, 25(2), 103-110.
- Garberoglio, R., & Brännström, M. (1976). Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Archives of oral biology*, 21(6), 355-362.
- Garg, N., & Garg, A. (2010a). *Textbook of endodontics*. Boydell & Brewer Ltd.
- Garg, N., & Garg, A. (2010b). *Textbook of operative dentistry*. Boydell & Brewer Ltd.
- Goldberg, M., Farges, J.-C., Lacerda-Pinheiro, S., Six, N., Jegat, N., Decup, F., Septier, D., Carrouel, F., Durand, S., & Chaussain-Miller, C. (2008). Inflammatory and immunological aspects of dental pulp repair. *Pharmacological research*, 58(2), 137-147.
- Goldberg, M., & Lasfargues, J.-J. (1995). Pulpo-dentinal complex revisited. *Journal of dentistry*, 23(1), 15-20.
- Goldberg, M., & Smith, A. J. (2004). Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biological basis for repair and tissue engineering. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 15(1), 13-27.
- Greeley, M. C. B. (1981). Pulp therapy for the primary and young permanent dentition. *Pediatric dental medicine. Philadelphia: Lea & Febiger*, 456-460.
- Gronthos, S., Brahim, J., Li, W., Fisher, L., Cherman, N., Boyde, A., DenBesten, P., Robey, P. G., & Shi, S. (2002). Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *Journal of dental research*, 81(8), 531-535.

- Gruythuysen, R., van Strijp, G., & Wu, M.-K. (2010). Long-term survival of indirect pulp treatment performed in primary and permanent teeth with clinically diagnosed deep carious lesions. *Journal of endodontics*, 36(9), 1490-1493.
- Haghgoo, R., & Ahmadvand, M. (2016). Evaluation of pulpal response of deciduous teeth after direct pulp capping with bioactive glass and mineral trioxide aggregate. *Contemporary Clinical Dentistry*, 7(3), 332.
- Hasegawa, T., Yoshimura, Y., Kikuri, T., Yawaka, Y., Takeyama, S., Matsumoto, A., Oguchi, H., & Shirakawa, T. (2002). Expression of receptor activator of NF-kappa B ligand and osteoprotegerin in culture of human periodontal ligament cells. *Journal of periodontal research*, 37(6), 405-411.
- Hashiguchi, D., Fukushima, H., Yasuda, H., Masuda, W., Tomikawa, M., Morikawa, K., Maki, K., & Jimi, E. (2011). Mineral trioxide aggregate inhibits osteoclastic bone resorption. *Journal of dental research*, 90(7), 912-917.
- Herschler, R. (1979). Methylsulfonylmethane and Methods of Use. 4,296,130. *US Patent*.
- Herzog, E. L., Chai, L., & Krause, D. S. (2003). Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*, 102(10), 3483-3493.
- Hilton, T. J. (2009). Keys to clinical success with pulp capping: a review of the literature. *Operative dentistry*, 34(5), 615-625.
- Holland, G. R., & Torabinejad, M. (2008). The dental pulp and periradicular tissues. *Endodontics-E-Book: Principles and Practice*, 1.
- Horsted-Bindslev, P., & Mjor, I. (1988). Cavity treatment and the use of liners and bases. *Modern Concepts in Operative Dentistry*.
- Hørsted, P., Søndergaard, B., Thylstrup, A., El Attar, K., & Fejerskov, O. (1985). A retrospective study of direct pulp capping with calcium hydroxide compounds. *Dental Traumatology*, 1(1), 29-34.
- Jilka, R. L. (2013). The relevance of mouse models for investigating age-related bone loss in humans. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 68(10), 1209-1217.
- Joe, B. H., Borke, J. L., Keskinetepe, M., Hanes, P. J., Mailhot, J. M., & Singh, B. B. (2001). Interleukin-1 β Regulation of Adhesion Molecules on Human Gingival

- and Periodontal Ligament Fibroblasts. *Journal of periodontology*, 72(7), 865-870.
- Jontell, M., Okiji, T., Dahlgren, U., & Bergenholtz, G. (1998). Immune defense mechanisms of the dental pulp. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 9(2), 179-200.
- Joung, Y. H., Darvin, P., Kang, D. Y., Sp, N., Byun, H. J., Lee, C.-H., Lee, H. K., & Yang, Y. M. (2016). Methylsulfonylmethane inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis in BMMs by suppressing NF- κ B and STAT3 activities. *PloS one*, 11(7), e0159891.
- Joung, Y. H., Lim, E. J., Darvin, P., Chung, S. C., Jang, J. W., Do Park, K., Lee, H. K., Kim, H. S., Park, T., & Yang, Y. M. (2012). MSM enhances GH signaling via the Jak2/STAT5b pathway in osteoblast-like cells and osteoblast differentiation through the activation of STAT5b in MSCs.
- Kagayama, M., Sasano, Y., Sato, H., Kamakura, S., Motegi, K., & Mizoguchi, I. (1999). Confocal microscopy of dentinal tubules in human tooth stained with alizarin red. *Anatomy and embryology*, 199(3), 233-238.
- Kaptan, A., & Çukurcu, Ç. (2020). Süt Dişi Amputasyon Tedavilerinde Güncel Yaklaşımlar. *Türkiye Klinikleri. Dishekimligi Bilimleri Dergisi*, 26(1), 122-132.
- Karabay, a. Z. Metilsülfonilmetan glukozamin ve kondroitin sülfatin İps/ifn- γ ile uyarılmış raw 264.7 makrofaj hücrelerinde apoptoz üzerine etkileri.
- Karant, P., Manjunath, M., & Kuriakose, E. (2013). Reaction of rat subcutaneous tissue to mineral trioxide aggregate and Portland cement: a secondary level biocompatibility test. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 31(2), 74.
- Karthik, L., Kumar, G., Keswani, T., Bhattacharyya, A., Chandar, S. S., & Bhaskara Rao, K. (2014). Protease inhibitors from marine actinobacteria as a potential source for antimalarial compound. *PloS one*, 9(3), e90972.
- Katagiri, T., Yamaguchi, A., Ikeda, T., Yoshiki, S., Wozney, J. M., Rosen, V., Wang, E. A., Tanaka, H., Omura, S., & Suda, T. (1990). The non-osteogenic mouse pluripotent cell line, C3H10T1/2, is induced to differentiate into osteoblastic

- cells by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 172(1), 295-299.
- Kim, D. N., Joung, Y. H., Darvin, P., Kang, D. Y., Sp, N., Byun, H. J., Cho, K. H., Park, K. D., Lee, H. K., & Yang, Y. M. (2016). Methylsulfonylmethane enhances BMP-2-induced osteoblast differentiation in mesenchymal stem cells. *Molecular Medicine Reports*, 14(1), 460-466.
- Kim, J., Song, Y.-S., Min, K.-S., Kim, S.-H., Koh, J.-T., Lee, B.-N., Chang, H.-S., Hwang, I.-N., Oh, W.-M., & Hwang, Y.-C. (2016). Evaluation of reparative dentin formation of ProRoot MTA, Biodentine and BioAggregate using micro-CT and immunohistochemistry. *Restorative dentistry & endodontics*, 41(1), 29-36.
- Kim, Y. H., Kim, D. H., Lim, H., Baek, D.-Y., Shin, H.-K., & Kim, J.-K. (2009). The anti-inflammatory effects of methylsulfonylmethane on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(4), 651-656.
- Kimura, M., Sase, T., Higashikawa, A., Sato, M., Sato, T., Tazaki, M., & Shibukawa, Y. (2016). High pH-sensitive TRPA1 activation in odontoblasts regulates mineralization. *Journal of dental research*, 95(9), 1057-1064.
- Kinney, J., Balooch, M., Marshall, S., Marshall Jr, G., & Weihs, T. (1996). Hardness and Young's modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Archives of oral biology*, 41(1), 9-13.
- Komori, T. (2006). Regulation of osteoblast differentiation by transcription factors. *Journal of cellular biochemistry*, 99(5), 1233-1239.
- Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., Yamaguchi, A., Sasaki, K., Deguchi, K., Shimizu, Y., Bronson, R., Gao, Y.-H., & Inada, M. (1997). Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *cell*, 89(5), 755-764.
- Koruyucu, M., Topcuoglu, N., Tuna, E. B., Ozel, S., Gencay, K., Kulekci, G., & Seymen, F. (2015). 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*, 9(02), 240-245.

- Kotsanos, N., & Arizos, S. (2011). Evaluation of a resin modified glass ionomer serving both as indirect pulp therapy and as restorative material for primary molars. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 12(3), 170-175.
- Kozlov, M., & Massler, M. (1960). Histologic effects of various drugs on amputated pulps of rat molars. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology*, 13(4), 455-469.
- KURTOĞLU, C. (2012). Geleneksel ve adeziv dental simanlar hakkında bir derleme çalışması. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2012(2), 205-216.
- Law, D. B., & Lewis, T. M. (1961). The effect of calcium hydroxide on deep carious lesions. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology*, 14(9), 1130-1137.
- Leksell, E., Ridell, K., Cvek, M., & Mejare, I. (1996). Pulp exposure after stepwise versus direct complete excavation of deep carious lesions in young posterior permanent teeth. *Dental Traumatology*, 12(4), 192-196.
- Li, C., & Risnes, S. (2004). SEM observations of Retzius lines and prism cross-striations in human dental enamel after different acid etching regimes. *Archives of oral biology*, 49(1), 45-52.
- Liang, S., Hosur, K. B., Domon, H., & Hajishengallis, G. (2010). Periodontal inflammation and bone loss in aged mice. *Journal of periodontal research*, 45(4), 574-578.
- Lianjia, Y., Yuhao, G., & White, F. H. (1993). Bovine bone morphogenetic protein-induced dentinogenesis. *Clinical orthopaedics and related research*(295), 305-312.
- Linde, A., & Goldberg, M. (1993). Dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 4(5), 679-728.
- Lu, Y., Liu, T., Li, H., & Pi, G. (2008). Histological evaluation of direct pulp capping with a self-etching adhesive and calcium hydroxide on human pulp tissue. *International Endodontic Journal*, 41(8), 643-650.
- Magnuson, B. A., Appleton, J., & Ames, G. B. (2007). Pharmacokinetics and distribution of [35S] methylsulfonylmethane following oral administration to rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 1033-1038.

- Magnusson, B. (1977). Stepwise excavation of deep carious lesions in primary molars. *J Int Assoc Dent Child*, 8, 36-40.
- Marion, D., Jean, A., Hamel, H., Kerebel, L.-M., & Kerebel, B. (1991). Scanning electron microscopic study of odontoblasts and circumpulpal dentin in a human tooth. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology*, 72(4), 473-478.
- Marshall Jr, G. W., Marshall, S. J., Kinney, J. H., & Balooch, M. (1997). The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *Journal of dentistry*, 25(6), 441-458.
- Maxim, D., Danilă, I., & Balcoş, C. (2011). Clinical and therapeutic aspects of early childhood caries and severe early childhood caries--clinical cases. *Revista Medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi*, 115(1), 223-226.
- McCabe, D., O'Dwyer, P., Sickle-Santanello, B., Woltering, E., Abou-Issa, H., & James, A. (1986). Polar solvents in the chemoprevention of dimethylbenzanthracene-induced rat mammary cancer. *Archives of Surgery*, 121(12), 1455-1459.
- Melin, M., Joffre-Romeas, A., Farges, J.-C., Couble, M.-L., Magloire, H., & Bleicher, F. (2000). Effects of TGF β 1 on dental pulp cells in cultured human tooth slices. *Journal of dental research*, 79(9), 1689-1696.
- Mjör, I. A., & Ferrari, M. (2002). Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 6: Reactions to restorative materials, tooth-restoration interfaces, and adhesive techniques. *Quintessence International*, 33(1).
- Mjör, I. A., Sveen, O. B., & Heyeraas, K. J. (2001). Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 1: normal structure and physiology. *Quintessence International*, 32(6).
- MK, Ç. (2006). Endodontide tanı ve tedaviler. *Nobel Tıp Kitabevleri*, 463-506.
- Moazzami, F., Ghahramani, Y., Tamaddon, A. M., Nazhavani, A. D., & Adl, A. (2014). A histological comparison of a new pulp capping material and mineral trioxide aggregate in rat molars. *Iranian Endodontic Journal*, 9(1), 50.
- Modena, K. C. d. S., Casas-Apayco, L. C., Atta, M. T., Costa, C. A. d. S., Hebling, J., Sipert, C. R., Navarro, M. F. d. L., & Santos, C. F. (2009). Cytotoxicity and

- biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials. *Journal of Applied Oral Science*, 17, 544-554.
- Morse, D. R. (1991). Age-related changes of the dental pulp complex and their relationship to systemic aging. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology*, 72(6), 721-745.
- Morton, J. I., & Siegel, B. V. (1986). Effects of oral dimethyl sulfoxide and dimethyl sulfone on murine autoimmune lymphoproliferative disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 183(2), 227-230.
- Murray, P. E., Lumley, P., Franquin, J., Remusat, M., & Smith, A. (2002). Cavity remaining dentin thickness and pulpal activity. *American Journal of Dentistry*, 15(1), 41-46.
- Nagaraja Upadhyaya, P., & Kishore, G. (2005). Glass ionomer cement: The different generations. *Trends Biomater Artif Organs*, 18(2), 158-165.
- Nakashima, M. (1990). The induction of reparative dentine in the amputated dental pulp of the dog by bone morphogenetic protein. *Archives of oral biology*, 35(7), 493-497.
- Nakashima, M., & Akamine, A. (2005). The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of endodontics*, 31(10), 711-718.
- Nirschl, R., & Avery, D. (1983). Evaluation of a new pulp capping agent in indirect pulp therapy. *ASDC journal of dentistry for children*, 50(1), 25-30.
- Okabe, T., Sakamoto, M., Takeuchi, H., & Matsushima, K. (2006). Effects of pH on mineralization ability of human dental pulp cells. *Journal of endodontics*, 32(3), 198-201.
- Okiji, T., Kawashima, N., Kosaka, T., Matsumoto, A., Kobayashi, C., & Suda, H. (1992). An immunohistochemical study of the distribution of immunocompetent cells, especially macrophages and Ia antigen-expressing cells of heterogeneous populations, in normal rat molar pulp. *Journal of dental research*, 71(5), 1196-1202.
- Özçobanoğlu, G., & Durutürk, L. (2013). Süt dişlerinde pulpa ve dentinin histolojik yapısal özellikleri. *Acta Odontologica Turcica*, 30(2), 99-109.

- Parirokh, M., & Torabinejad, M. (2010). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod*, 36(1), 16-27. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.006>
- Parirokh, M., & Torabinejad, M. (2010). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *Journal of endodontics*, 36(1), 16-27.
- Parthasarathy, A., Kamat, S. B., Kamat, M., & Kidiyoor, K. H. (2016). Histological response of human pulps capped with calcium hydroxide and a self-etch adhesive containing an antibacterial component. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*, 19(3), 274.
- Pashley, D., & Liewehr, F. (2006). Structure and functions of the dentin-pulp complex. *Pathways of the Pulp*, 9, 460-513.
- Pashley, D. H. (1985). Dentin-Predentin Complex and Its Permeability: Physiologic Overviwe. *Journal of dental research*, 64(4), 613-620.
- Pashley, D. H. (1989). Dentin: a dynamic substrate-a review. *Scanning microscopy*, 3(1), 19.
- Pashley, D. H. (1996). Dynamics of the pulpo-dentin complex. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 7(2), 104-133.
- Pearson, T. W., Dawson, H. J., & Lackey, H. B. (1981). Natural occurring levels of dimethyl sulfoxide in selected fruits, vegetables, grains, and beverages. *J Agric Food Chem*, 29(5), 1089-1091. <https://doi.org/10.1021/jf00107a049>
- Pearson, T. W., Dawson, H. J., & Lackey, H. B. (1981). Naturally occurring levels of dimethyl sulfoxide in selected fruits, vegetables, grains, and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29(5), 1089-1091.
- Peng, L., Ye, L., & Zhou, X. d. (2009). Mesenchymal stem cells and tooth engineering. *International journal of oral science*, 1(1), 6-12.
- Perinpanayagam, H., & Al-Rabeah, E. (2009). Osteoblasts interact with MTA surfaces and express Runx2. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 107(4), 590-596.
- Petrou, M. A., Alhamoui, F. A., Welk, A., Altarabulsi, M. B., Alkilzy, M., & H Splieth, C. (2014). A randomized clinical trial on the use of medical Portland cement,

- MTA and calcium hydroxide in indirect pulp treatment. *Clinical oral investigations*, 18(5), 1383-1389.
- Pilbauerová, N., & Suchánek, J. (2018). Cryopreservation of dental stem cells. *Acta Medica*, 61(1), 1-7.
- Pinkham, J. R., Casamassimo, P., Fields, H., McTigue, D., & Nowak, A. (2005). Pediatric dentistry. *Infancy through adolescence*, 4.
- Pinkham, J. R., Casamassimo, P. S., & McTigue, D. J. (1999). *Pediatric dentistry: infancy through adolescence*. Saunders.
- Pinzon, R. D., Kozlov, M., & Burch, W. P. (1967). Histology of rat molar pulp at different ages. *Journal of dental research*, 46(1), 202-208.
- Pisanti, S., & Sciaky, I. (1964). Origin of calcium in the repair wall after pulp exposure in the dog. *Journal of dental research*, 43(5), 641-644.
- Poggio, C., Ceci, M., Dagna, A., Beltrami, R., Colombo, M., & Chiesa, M. (2015). In vitro cytotoxicity evaluation of different pulp capping materials: a comparative study. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 66(3), 181-187.
- Potdar, P. D., & Jethmalani, Y. D. (2015). Human dental pulp stem cells: Applications in future regenerative medicine. *World journal of stem cells*, 7(5), 839.
- Rani, C. S., & MacDougall, M. (2000). Dental cells express factors that regulate bone resorption. *Molecular Cell Biology Research Communications*, 3(3), 145-152.
- Rapp, R., El-Labban, N., Kramer, I., & Wood, D. (1977). Ultrastructure of fenestrated capillaries in human dental pulps. *Archives of oral biology*, 22(5), 317-319.
- Ricketts, D. (2001). Management of the deep carious lesion and the vital pulp dentine complex. *British dental journal*, 191(11), 606-610.
- Roberts-Clark, D., & Smith, A. (2000). Angiogenic growth factors in human dentine matrix. *Archives of oral biology*, 45(11), 1013-1016.
- Rodd, H., Waterhouse, P., Fuks, A., Fayle, S., & Moffat, M. (2006). Pulp therapy for primary molars. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 16, 15-23.
- Rutherford, B., & Fitzgerald, M. (1995). A new biological approach to vital pulp therapy. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 6(3), 218-229.
- Rutherford, R. B., Wahle, J., Tucker, M., Rueger, D., & Charette, M. (1993). Induction of reparative dentine formation in monkeys by recombinant human osteogenic protein-1. *Archives of oral biology*, 38(7), 571-576.

- Sakata, M., Shiba, H., Komatsuzawa, H., Fujita, T., Ohta, K., Sugai, M., Suginaka, H., & Kurihara, H. (1999). Expression of osteoprotegerin (osteoclastogenesis inhibitory factor) in cultures of human dental mesenchymal cells and epithelial cells. *Journal of Bone and Mineral Research*, *14*(9), 1486-1492.
- Sakurai, K., Okiji, T., & Suda, H. (1999). Co-increase of Nerve Fibers and HLA-DR and/or Factor-XIIIa-expressing Dendritic Cells in Dentinal Caries-affected Regions of the Human Dental Pulp: An Immunohistochemical Study. *Journal of dental research*, *78*(10), 1596-1608.
- Sangwan, P., Sangwan, A., Duhan, J., & Rohilla, A. (2013). Tertiary dentinogenesis with calcium hydroxide: a review of proposed mechanisms. *International Endodontic Journal*, *46*(1), 3-19.
- Schour, I. (1949). The rat in laboratory investigation. *The Teeth*, 104-165.
- Schour, I., & Van Dyke, H. (1934). Changes in Teeth Following Hypophysectomy: II. Changes in the Molar of the White Rat. *Journal of dental research*, *14*(2), 69-91.
- Schröder, U. (1985). Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *Journal of dental research*, *64*(4), 541-548.
- Schwartz, R. S., Mauger, M., Clement, D. J., & WALKER III, W. A. (1999). Mineral trioxide aggregate: a new material for endodontics. *The Journal of the American Dental Association*, *130*(7), 967-975.
- Sciaky, I., & Pisanti, S. (1960). Localization of calcium placed over amputated pulps in dogs' teeth. *Journal of dental research*, *39*(6), 1128-1132.
- Siqueira Jr, J., & Lopes, H. (1999). Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal*, *32*(5), 361-369.
- Sloan, A., Rutherford, R., & Smith, A. (2000). Stimulation of the rat dentine-pulp complex by bone morphogenetic protein-7 in vitro. *Archives of oral biology*, *45*(2), 173-177.
- Sloan, A., & Smith, A. (1999). Stimulation of the dentine-pulp complex of rat incisor teeth by transforming growth factor- β isoforms 1-3 in vitro. *Archives of oral biology*, *44*(2), 149-156.

- Smith, A. (2002). Pulpal responses to caries and dental repair. *Caries research*, 36(4), 223-232.
- Smith, A., Lumley, P., Tomson, P., & Cooper, P. (2008). Dental regeneration and materials—a partnership. *Clinical oral investigations*, 12(2), 103-108.
- Smith, A. J. (2003). Vitality of the dentin-pulp complex in health and disease: growth factors as key mediators. *Journal of dental education*, 67(6), 678-689.
- Stanley, H., & Pameijer, C. (1997). Dentistry's friend: calcium hydroxide. *Operative dentistry*, 22, 1-3.
- Stashenko, P., Teles, R., & d'Souza, R. (1998). Periapical inflammatory responses and their modulation. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 9(4), 498-521.
- Suda, T., Takahashi, N., Udagawa, N., Jimi, E., Gillespie, M. T., & Martin, T. J. (1999). Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocrine reviews*, 20(3), 345-357.
- Sumikawa, D. A., Marshall, G., Gee, L., & Marshall, S. (1999). Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatric dentistry*, 21(7), 439-444.
- Takahashi, N., Udagawa, N., & Suda, T. (1999). A new member of tumor necrosis factor ligand family, ODF/OPGL/TRANCE/RANKL, regulates osteoclast differentiation and function. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 256(3), 449-455.
- Taubman, M., & Kawai, T. (2001). Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 12(2), 125-135.
- Torabinejad, M., Ford, T. R. P., Abedi, H. R., Kariyawasam, S. P., & Tang, H.-M. (1998). Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. *Journal of endodontics*, 24(7), 468-471.
- Torabinejad, M., Hong, C., McDonald, F., & Ford, T. P. (1995). Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *Journal of endodontics*, 21(7), 349-353.
- Torabinejad, M., & Parirokh, M. (2010). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part II: leakage and biocompatibility investigations. *Journal of endodontics*, 36(2), 190-202.

- Torabinejad, M., Watson, T., & Ford, T. P. (1993). Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *Journal of endodontics*, *19*(12), 591-595.
- Tziafas, D., Pantelidou, O., Alvanou, A., Belibasakis, G., & Papadimitriou, S. (2002). The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. *International Endodontic Journal*, *35*(3), 245-254.
- Tziafas, D., Smith, A., & Lesot, H. (2000). Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *Journal of dentistry*, *28*(2), 77-92.
- Ünlüer, Ş., Gökalp, S., & Doğan, B. G. (2007). Oral health status of the elderly in a residential home in Turkey. *Gerodontology*, *24*(1), 22-29.
- Verfaillie, C. M., Pera, M. F., & Lansdorp, P. M. (2002). Stem cells: hype and reality. *ASH Education Program Book*, *2002*(1), 369-391.
- Vij, R., Coll, J. A., Shelton, P., & Farooq, N. S. (2004). Caries control and other variables associated with success of primary molar vital pulp therapy. *Pediatric dentistry*, *26*(3), 214-220.
- Volponi, A. A., Pang, Y., & Sharpe, P. T. (2010). Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends in cell biology*, *20*(12), 715-722.
- Wilson, A. D., & Kent, B. (1971). The glass-ionomer cement, a new translucent dental filling material. *Journal of Applied Chemistry and Biotechnology*, *21*(11), 313-313.
- YILDIRIM, S., & ALAÇAM, A. (2007). Vital pulpa tedavilerinde protein ve gen terapileri. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Derg.(. Clinical Dentistry and Research)*, *31*(2), 54-63.
- Zand, V., Lotfi, M., Aghbali, A., Mesgariabbasi, M., Janani, M., Mokhtari, H., Tehranchi, P., & Pakdel, S. M. V. (2016). Tissue reaction and biocompatibility of implanted mineral trioxide aggregate with silver nanoparticles in a rat model. *Iranian Endodontic Journal*, *11*(1), 13.
- Zavan, B., & Bressan, E. (2016). *Dental stem cells: regenerative potential*. Springer.
- Zeichner-David, M., Diekwisch, T., Fincham, A., Lau, E., MacDougall, M., Moradian-Oldak, J., Simmer, J., Snead, M., & Slavkin, H. (1995). Control of ameloblast differentiation. *Ifldr Import 2019-10-08 Batch 10*.

- Zhai, Q., Dong, Z., Wang, W., Li, B., & Jin, Y. (2019). Dental stem cell and dental tissue regeneration. *Frontiers of medicine*, 13(2), 152-159.
- Zhang, Q., Shi, S., Liu, Y., Uyanne, J., Shi, Y., Shi, S., & Le, A. D. (2009). Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *The Journal of Immunology*, 183(12), 7787-7798.
- Zhou, Z., & Zheng, J. (2008). Tribology of dental materials: a review. *Journal of physics D: applied physics*, 41(11), 113001.
- Zorba, y. O., & yildiz, m. Adeziv restoratif diş hekimliğinde biyouyumluluk. *Atatürk üniversitesi diş hekimliği fakültesi dergisi*, 2007(2).

EKLER
EK-1. BAP SÖZLEŞMESİ

 RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi TEZ PROJESİ SÖZLEŞMESİ	
14.09/2022 Prof.Dr. Mete AVCI Komisyon Başkanı	14.09/2022 Prof.Dr. Mete AVCI Genel Müdürlük Fakülte Dekanı (*)
08.09.2022 Dr.Öğr.Üyesi Ayça Kurt Proje Yürütücüsü (Tez Danışmanı)	08.09.2022 Arş.Gör. Altar Ateş Araştırmacı

(*) İlgili Enstitü Müdürü veya Uzmanlık Tezini Yürüttüğü Fakülte Dekanı

Proje Bilgileri			
Proje Başlığı	Mneral Trioksit Agregat ve Mittil Sülfonil Mitanın RUNDQ ve OPGRANKL Yblakları ile Pulpa Ekspozuna Bağlı Pulpa Hasan Üzerindeki Terapotik Etkileri		
Proje Yürütücüsü	Dr.Öğr.Üyesi Ayça Kurt		
Araştırmacı	Arş. Gör. Altar Ateş		
Proje Türü	Tez Projesi, Diş Hekimliğinde Uzmanlık		
Proje ID	1383	Projenin Süresi (ay)	12
Projenin Bütçesi	26.869,180 ₺		
Toplam Kaleml Sayısı	13		
Södeşmeyi Teslim Alan BAP Birimi Personeli Tarafından Dokundulacak Alanlar			
BAP Personeli	ORHAN KAZDAL		
Başlangıç Tarihi	20.09.2022		

SÖZLEŞME METNİ

- Çalışmanın, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi Uygulama Yönergesi ve destekleme esaslarına bağlı olarak BAP Komisyonunun kabul ettiği süre, amaç, kapsam, bütçe ve diğer şartlara uygun olarak yürütülmesi, geliştirilmesi ve sonuçlandırılmasından proje yürütücüsü ve tez öğrencisi sorumludur.
- İnsanlar üzerinde gerçekleştirilecek çalışmalar için, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Etik Kurul Yönergesi uyarınca Etik Kurul izni alınması zorunludur.
- Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilecek çalışmalar için Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul izni alınması zorunludur.
- İnsanlar ve Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilecek çalışmalar için zorunlu olan Etik Kurul onayının alınması proje yürütücüsünün ve araştırmacıların ortak sorumluluğundadır.
- Desteklenmesine karar verilen projenin, amaç, kapsam, süre, isim, program ve bütçesinde Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun yazılı izni alınmadan hiçbir değişiklik yapılamaz.
- Çalışması normal seyirinde giden ve tez çalışması dönemleri danışman, tez izleme komitesi veya ilgili akademik kurullar tarafından başarılı bulunan lisansüstü tez projeleri için ara rapor istenmez. Ancak, proje çalışmasında başarısızlık veya diğer nedenlerle sonuçlar ortaya çıkmaması durumunda, proje yürütücüsü durumun ortaya çıktığı tarihten itibaren 1 ay içerisinde gelişme raporunu BAP Birimine sunmakla yükümlüdür.
- Komisyon gerekli gördüğü hallerde proje çalışmasını doğrudan yerinde inceleyebilir veya konunun uzmanlarına inceleyebilir. Bu durumlarda proje yürütücüsü ve tez öğrencisi, çalışma ile ilgili her türlü teknik, idari ve mali bilgileri ve belgeleri incelemeye hazır bulundurmak ve incelemeyi kolaylaştıracak yardımları yapmakla yükümlüdür.
- Araştırmacılar, proje yürütücüsünün veya tamamlanmasından sonra veri ve kayıtları saklamakla yükümlü oldukları süre içerisinde olağanüstü durumlarda ve/veya BAP Komisyonunun talep etmesi durumunda, araştırma sürecinde/sonucunda elde edilen/geliştirilen tüm veri, bilgi, belge, yazılım, materyal, örnek, numune, sonuç vb. tüm unsurları Komisyonla teslim etmek zorundadır.
- BAP Koordinasyon Birimi, tamamlanan projelere ait her türlü bilgiyi, sonuçları, verileri, raporları ve proje ekibine yönelik bilgileri BAP Komisyonunun belirleyeceği kanallara uygun olarak, kısmen veya tümüyle, basılı olarak veya elektronik ortamda yayımlayabilir/yayımlatabilir ve diğer kurum ve kuruluşlarla paylaşabilir.
- Ara raporun veya sonuç raporunun sunulmaması veya reddedilmesi, projenin başyurda öngörülen gelişmeyi göstermemesi, yapılan harcamaların projenin amaç ve içeriğine veya sözleşme şartlarına uygun olarak kullanılmaması, etik kurulların ihlal edildiğinin saptanması gibi durumlarda BAP Komisyonu projenin içeriğinde düzeltme yapılmasına, proje yürütücüsünün/araştırmacılarında değişiklik yapılmasına veya projenin iptal edilmesine karar verebilir. Bu kapsamda iptal edilen projelerin yürütücülerine ve araştırmacılarına uygulanacak yaptırımlar Uygulama Yönergesinde belirtilen esaslara göre belirlenir.
- Proje ekibi, çalışmanın yürütülmesinde elde edilen veri ve sağlık şartları bakımından İş Kanunu, Sosyal Sigortalar Kanunu ve ilgili diğer kanun, tüzük ve yönetmeliklere göre gerekli her türlü yasal gereksinim ve güvenlik tedbirlerinin sağlanmasından sorumludur.

12. Projeler kapsamında herhangi bir harcama yapılabilmesi için proje yürütücülerinin öncelikle BAP Koordinasyon Biriminden harcama talebinde bulunmaları zorunludur. BAP Koordinasyon Birimi tarafından harcama süreleri bağlatılmamış/onaylanmamış harcamalar için herhangi bir ödeme yapılmaz.
13. Projeler kapsamında BAP Komisyonu tarafından onaylanan bütçe içeriğine uygun olarak gerçekleştirilecek seyahatler için araştırmacıların mevzuata uygun olarak yetkili mercilerden gerekli izinleri/onayları almaları ve gerekli belgelerle birlikte BAP Koordinasyon Biriminden seyahata yönelik harcama talebinde bulunmaları zorunludur. Bu koşulla ve BAP Birimi Uygulama Esaslarına uygun olarak gerçekleştirilmeyen seyahatler için ödeme yapılmaz.
14. Projeler kapsamında yapılacak harcamalar ve ödemeler yalnızca proje süresi içerisinde gerçekleştirilebilir. Süresi tamamlanan projeler için herhangi bir harcama veya ödeme yapılmaz.
15. Tez projeleri için verilen süreler, yetkili birimler tarafından tezler için verilen yasal ek süreleri kapsayacak şekilde uzatılabilir. Ancak tez projeleri için sağlanacak mali destekler, ilgili lisansüstü eğitim ve öğretim mevzuatında belirlenen normal öğrenim süresi ile sınırlıdır. Yapılan herhangi bir harcamanın normal öğrenim süresi dışında gerçekleştirildiğinin tespit edilmesi durumunda gerçekleştirilen harcamalar yasal fazla ile birlikte proje ekibinden geri alınır.
16. Proje yürütücüsü, kullanılan avans veya kredinin süresi içinde kapatılmasının takibinden sorumludur. Verilen avans veya kredinin usulüne uygun mahsubu yapılmadan yeniden avans veya kredi verilmez.
17. Çalışmanın sonuç raporu hazırlanan tezdir. Tez için Enefitü tarafından onaylanmasını takiben en geç 3 (üç) ay içerisinde tezin bir nüshası sistem üzerinden elektronik ortamda BAP Birimine sunulur. Hazırlanan teze çalışmanın Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklendiğine dair ibareyi yer verilmesi zorunludur. Ayrıca tez savunma sınavı başan belgesinin sistem üzerinden elektronik ortamda BAP Birimine sunulması da zorunludur. Ayrıca, var ise araştırma dönem ederken yayımlanan bilimsel yayınların birer örneği de birime sunulur.
18. Doktora, sanatta yeterlik, tıpta uzmanlık ve eşdeğer uzmanlık tez projeleri için sonuç raporu ile birlikte tezin başan belgesine ilave olarak tez projesi kapsamında elde edilen sonuçlardan üretilen tam metin bir makalenin ulusal/uluslararası hakemli bir dergide sunulduğunu ve değerlendirme aşamasında olduğunu gösteren bir belge ile sunulan makalenin tam metin örneğinin de sunulması zorunludur. İlgili tez projelerinden üretilerek hakemli bir dergide tam metin olarak yayınlanan bir makalenin proje çalışması devam ederken BAP Komisyonuna sunulacak Komisyon tarafından onaylanmamış olması durumunda bu fiizdeki hüküm uygulanmaz. İlgili proje için bu fiizde belirtilen hususlardan birisinin sağlanmaması durumunda sonuç raporları değerlendirilmeye alınmaz.
19. Desteklenmiş lisansüstü tez projelerinin sonuçlarının en geç iki yıl içerisinde Uygulama Esasları Belgesinde belirtilen sayı ve nitelikte yayına dönüştürülmesi ve üretilen yayınların BAP Birimine sunulması zorunludur.
 - a. Yüksek lisans tez projelerinin sonuçlarının en geç projenin tamamlanmasından sonraki iki yıl içinde ulusal veya uluslararası hakemli dergilerde tam metin makale olarak veya Web of Science Science veya Scopus veri tabanları tarafından indekslenen yada en az 5. sı düzenlenen ulusal/uluslararası hakemli konferans/sempozyumlarda bildir olarak yayınlanması zorunludur.
 - b. Sosyal, Sanat ve Beşerî Bilimler dışındaki alanlarda yürütülen Doktora, Tıpta Uzmanlık, Diğ. Hekimliğinde Uzmanlık, Eczacılık Uzmanlık ve Veteriner Hekimliğinde Uzmanlık Tez Projeleri için en geç projenin tamamlanmasından sonraki iki yıl içinde (SCL, ESCI-E, SSCI veya AHCI indekslerinde taranan dergilerde en az bir adet tam metin makale yayınlanması zorunludur. Sosyal, Sanat ve Beşerî Bilimler alanında yürütülen Doktora veya Sanatta Yeterlik Tez Projeleri için ise ESCI veya BAP Komisyonu tarafından belirlenerek duyurulan alan indekslerinde taranan dergilerde tam metin bir makale, ulusal veya uluslararası tanınmış yayınevleri tarafından yayınlanan bir kitap veya kitap bölümü yayınlanması zorunludur.
20. Çalışması tamamlanan projeler kapsamında bu sözleşme ve Uygulama Esasları Belgesinde belirtilen yayın koşullarını belirtilen ilkelere uygun olarak yerine getirmeyen lisansüstü öğrenim tez öğrencilerinden gerçekleştirilen harcamalar yasal fazla ile birlikte geri alınır.
21. Birim tarafından desteklenen projeler kapsamında gerçekleştirilen her türlü yayın ve tezde "Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: ..." ("This work has been supported by Recep Tayyip Erdoğan University Scientific Research Projects Coordination Unit under grant number #xxx") şeklinde veya benzer anlamda gelecek bir ibareyi yer verilmesi zorunludur.
22. Proje ekibi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilim Eği Normları, Etik Kurulu ve Çalışma Esaslarına uymakla yükümlüdür.
23. Projenin tüm aşamalarında Birimden proje ekibine yapılacak bildirimler e-posta üzerinden gerçekleştirilecektir. Proje ekibi Proje Süreçleri Yönetim Sisteminde tanımlı e-posta adreslerine yapılacak bildirimleri ve sistemdeki uyarıları takip etmekte yükümlüdür.
24. Proje yürütücüsü, projeye ait tüm kayıtları ve verileri 5 yıl süreyle saklamak zorundadır.
25. Başarıyla bitilen ve kişisel ihmalleri nedeniyle projenin iptal edilmesine veya tamamlanamaz hale gelmesine neden olan lisansüstü öğrenim öğrencileri, süresiz olarak BAP Birimi lisansüstü tez projesi desteklerinden faydalandırmazlar. Bu tür durumlarda BAP Komisyonu karar ile proje kapsamında gerçekleştirilen harcamaların bedelleri yasal fazla ile birlikte ilgili lisansüstü öğrenim öğrencisinden tahsil edilebilir.
26. Sözleşmede belirtilmeyen hususlarla ilgili olarak, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi Uygulama Yönergesi, Uygulama Usul ve Biçimleri, ilgili Yönetmelik hükümleri ile genel mevzuat hükümleri uygulanır.
27. Proje ekibinde yer alan tez öğrencisinin herhangi bir nedenle öğreniliğinin son bulması durumunda, tez danışmanı durumu en geç iki hafta içerisinde BAP Koordinasyon Birimine bildirmekte yükümlüdür.
28. Proje ekibi, tez konusunun ilgili enstitü/fakülte yönetim kurulu tarafından kabul edildiğini ve başvuru aşamasında beyan ettikleri diğer bilgilerin doğru olduğunu beyan etmiştir.
29. Komisyon karar ile projeye ek süre verilmesi durumunda bu sözleşme, söz konusu süreli kapsayacak şekilde uzatılmış sayılır.
30. Anlaşmazlık halinde yetkili mercî Rizai Mahkeme ve İcra Daireleridir.

08.09.2022
Dr.Öğr.Üyesi Ayça Kurt
Proje Yürütücüsü

20.09.2022
Prof.Dr. YUSUF YILMAZ
Rektör

(11/25)

ETİK KURUL KARARI

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
(Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)

BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):45		
	ÇALIŞMANIN ADI	Mineral Trioksit Agregat ve Metil Sülfonil Metan'ın RUNX2 ve OPG/RANKL Yolakları ile Pulpa Ekspozuna Bağlı Pulpa Hasarı Üzerindeki Terapötik Etkileri	
	Title	The Therapeutic Effects of Mineral Trioxide Aggregate and Methyl Sulfonyl Methane Exposure-induced Pulp Damage via RUNX2 and OPG/RANKL Patways	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Dr. Öğr. Üyesi Ayça KURT	
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Altar ATEŞ	
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yere Etik Kurulu	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input checked="" type="checkbox"/> Tek Merkez Ulusal	<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Ulusal	<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Uluslararası

KARAR BİLGİLERİ	Karar No(Decision No):2022/08	Tarih (Date): 26.04.2022
	R.T.E. Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi'nden, Dr.Öğr.Üyesi Ayça KURT 'un sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.	
Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of R.T.E.University.	
	<input checked="" type="checkbox"/> Accepted	<input type="checkbox"/> Rejected

ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr. Fikri BALTA (Başkan, Müdür)	Su Ürünleri (Veteriner Hekim)	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof.Dr. Levent TUMKAYA (Başkan Vekili)	Histoloji Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof.Dr. Ayşe ERTÜRK (Üye)	Enfeksiyon Hast. Ve Klinik Mikr.	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Serkan GÜL (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Kazım ŞAHİN (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ (Üye)	Tıbbi Biyokimya	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Murat ALKURT (Üye)	Protetik Diş Tedavisi	R.T.E. Üniversitesi Dış Hekimliği Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Hatice SEVİM NALKIRAN (Üye)	Tıbbi Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Şenay ÇAKIROĞLU (Üye)	Veteriner Hekim	R.T.E. Üniversitesi Deney Hay.Uy.ve Arş.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Şevket ÇAKMAKÇI (Üye)	Sağlık Çalışanı	Sendika Üyesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Rukiye ÜLGER (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

*Araştırma ile ilişki(Relation to the project, E: Yes, H: No)