

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**FARKLI İRRİGASYON VE AKTİVASYON TEKNİKLERİNİN
DENTİNDEN BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN SALINIMINA
ETKİSİ**

Arş. Gör. Dt. Dilek HANÇERLİOĞULLARI

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali ERDEMİR

2020- KIRIKKALE

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**FARKLI İRRİGASYON VE AKTİVASYON TEKNİKLERİNİN
DENTİNDEN BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN SALINIMINA
ETKİSİ**

Arş. Gör. Dt. Dilek HANÇERLİOĞULLARI

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali ERDEMİR

**Bu Tez Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2019/088 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

2020- KIRIKKALE

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Endodonti Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 11/11/2020

İmza

Prof. Dr. Senem YİĞİT ÖZER

Adnan Menderes Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. H. Ebru OLGUN

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İmza

Prof. Dr. Ali ERDEMİR

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İmza

Doç. Dr. Meltem HENDEK

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Ali TÜRKYILMAZ

Kırıkkale Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Üye

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
ÖNSÖZ.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vi
GRAFİKLER DİZİNİ	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	xi
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	5
1.1 Rejeneratif Endodonti.....	10
1.1.1 Kök Hücreler	11
1.1.2 İskele Biyomateryalleri.....	13
1.1.2.1 Doğal Olmayan İskeleler.....	14
1.1.2.2 Doğal İskeleler	15
1.1.3 Büyüme Faktörleri.....	18
1.1.3.1 Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factors, VEGF)	21
1.1.3.2 Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β)	22
1.1.3.3 Kemik Morfogenetik Proteinler (Bone Morphogenetic Protein, BMP)	24
1.1.3.4 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (Insulin-like Growth Factors, IGF)	26
1.2 İrrigasyon Solüsyonları	28
1.2.1 Sodyum Hipoklorit (NaOCl).....	28
1.2.2 Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA)	31
1.2.3 Sitrik Asit (SA)	33
1.3 İrrigasyon Aktivasyonu	35
1.3.1 Ultrasonik Aktivasyon Sistemleri	36
1.3.2 Lazer Aktivasyon Sistemleri	38
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
2.1 Etik Kurul Onayı	43

2.2 Dişlerin Çalışmaya Dâhil Edilme Kriterleri	43
2.2.1 Kök Kanallarının Preparasyonu	44
2.3 ELISA Ölçümlerinin Yapılması	52
2.4 Büyüme Faktörlerinin Birim Konsantrasyonlarının Hesaplanması	56
3. BULGULAR	58
3.1 TGF- β 1 Bulguları	62
3.2 IGF-1 Bulguları	66
3.3 BMP-7 Bulguları	71
3.4 VEGF-A Bulguları	75
4.TARTIŞMA VE SONUÇ	80
5. KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ	124
EKLER	125

ÖNSÖZ

Meslekte 17. yılımda başladığım uzmanlık eğitimim boyunca bana yol gösterip destekleyen ve yardımını esirgemeyen değerli danışman hocam, anabilim dalı başkanımız ve dekanımız Prof. Dr. Ali ERDEMİR'e,

Biyokimyasal değerlendirmede yardımcı olan Prof. Dr. Üçler KISA'ya,

"Abla, diş çektim" diyerek kliniğime kadar getiren Araş. Gör. Dt. Uğur DERDİYOK'a

Hekimlikte yıllarımı birlikte geçirdiğim, "Dilekkk, diş çektim." mesajlarıyla 70 dişi toplamamda destek olan arkadaşlarım Dt. Zerrin OLGUN, Dt. Serap AKCAN ve akşamında evime kadar getiren canım arkadaşım Dt. Özlem ÖZCAN'a

Tezimin materyal metod aşamasında yardımları için Araş. Gör. Dt. Mehmet Eren FİDAN, Araş. Gör. Dt. Buket DİNÇER ve Araş. Gör. Dt. Ayşenur GÜMÜŞ'e,

Yıllar sonra DUS'a çalışmamı, " İnaniyorum Dilek kazanacaksın." diyerek destekleyen, yüreklendiren, güzel insan Dr. Dt. Mehtap KASAR ve hocam Dr. Dt. Bahadır KASAR'a,

Hayatımın her gününde sevgisini, desteğini esirgemeyen, uzmanlık sürecimde en az benim kadar yorulan canım babam Mehmet BÜYÜKBAŞ ve canım annem Menşure BÜYÜKBAŞ'a,

Gerçekten anne yarısı olan canım ablam Uzm. Dr. Demet KESİCİ, eniştem olmasına rağmen öz abim gibi beni destekleyen Op. Dr. Ercan KESİCİ ve teyzesinin bir tanesi Eren Can KESİCİ'ye,

Eşim Necati HANÇERLİOĞULLARI ve hayatımın mutluluk kaynağı canım oğullarım Efe HANÇERLİOĞULLARI, Bora HANÇERLİOĞULLARI'na

Saygı, sevgi ve binlerce kez teşekkürlerimi sunuyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

- ALP:** Alkalen fosfataz
- BMP-7:** Kemik morfogenetik proteini-7 (Bone Morphogenetic Protein-7)
- BSP:** Kemik sialoprotein
- Ca(OH)₂:** Kalsiyum hidroksit
- CBCT:** Konik ışıklı bilgisayarlı tomografi
- DMP-1:** Dentin matriks proteini-1
- DPSC:** Dental pulpa kök hücresi (Dental Pulp Stem Cell)
- DSP:** Dentinfosfoprotein
- DSPP:** Dentin sialofosfoprotein
- ECM:** Ekstraselüller matriks
- EDTA:** Etilendiamintetraasetik asit
- ELISA:** Enzime bağılı immunosorban yöntem
- Er:YAG:** Erbium:Yttrium-Aluminum-Garnet
- H₂O₂:** Hidrojen peroksit
- IGF-1:** İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (Insülin Like Growth Factor-1)
- ml :** Mililitre
- µl :** Mikrolitre
- MMP:** Matriks metalloproteinaz
- MTA:** Mineral Trioksit Agregat
- NaOCl:** Sodyum hipoklorit

- ng:** Nanogram
- nm:** Nanometre
- PBS:** Fosfat tamponlu salin solüsyonu
- PRF:** Plateletten zengin fibrin
- PRGF:** Büyüme faktörlerinden zengin plazma
- PRP:** Plateletten zengin plazma
- PUI:** Pasif ultrasonik aktivasyon:
- SA:** Sitrik asit
- SCAP:** Apikal papilla kök hücresi (Stem Cells From Apical Papilla)
- TGF- β 1:** Transforme edici büyüme faktörü- β 1 (Transforming Growth Factor- β 1)
- VEGF-A:** Vasküler endoteliyal büyüme faktörü-A (Vascular Endothelial Growth Factors, VEGF-A)
- °C :** Santigrad derece

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1 Dişlerden elde edilen radyografler	43
Şekil 2.2 Çekilen premolar dişlerin steril cam kavanozlarda PBS solüsyonunda bekletilmesi.....	44
Şekil 2.3 12 mm boyutunda kök segmentlerinin hazırlanması ve genişletilmesi.....	45
Şekil 2.4 Kök segmentlerinin eppendorf tüplerine yerleştirilmesi	46
Şekil 2.5 Çalışmamızda kullanılan ultrasonik cihaz	47
Şekil 2.6 Çalışmamızda kullanılan ultrasonik irrigasyon aktivasyon uçları	47
Şekil 2.7 Devamlı irrigasyon yöntemiyle ultrasonik aktivasyonun uygulanması....	48
Şekil 2.8 Çalışmamızda kullanılan Er:YAG Lazer parametreleri	49
Şekil 2.9 Devamlı irrigasyon yöntemiyle PIPS ucu kullanarak Er:YAG lazer aktivasyonun uygulanması	49
Şekil 2.10 Çalışmamızda kullanılan Er:YAG (Fotona) Lazer	50
Şekil 2.11 Çalışmamızda kullanılan PIPS ucu	50
Şekil 2.12 Çalışmamızda kullanılan PIPS ucu.....	52
Şekil 2.13 Örneklerin saklandığı etüv.....	52
Şekil 2.14 ELISA kiti.....	53
Şekil 2.15 ELISA kitlerine örneklerin konması.....	53
Şekil 2.16 ELISA Bio Tek EL×50 otomatik yıkayıcısı.....	54
Şekil 2.17 ELISA kitlerinde inkübasyondan sonraki renk değişimi.....	54
Şekil 2.18 ELISA kitlerine stop solüsyonu eklendikten sonraki renk değişimi.....	55
Şekil 2.19 BioTek Uquant MQ×200 ELISA okuyucusu.....	55
Şekil 2.20 Tomografik ölçümlerin yapılması.....	56

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1 Dentin matriksinde bulunan rejenerasyon ve onarımda önemli rol oynadığı bilinen anahtar büyüme faktörleri.....	20
Tablo 3.1 Aktivasyon şekli ve örnek alma zamanı gözardı edilerek EDTA ve SA solüsyonlarının kullanıldığı 60'ar örnekte tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları.....	58
Tablo 3.2 EDTA solüsyonu kullanılan gruplardaki örneklerden salınan büyüme faktörlerinin aktivasyon şekillerine göre ortalama, standart sapma ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	60
Tablo 3.3 SA solüsyonu kullanılan gruplardaki örneklerden salınan büyüme faktörlerinin aktivasyon şekillerine göre ortalama, standart sapma ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	61
Tablo 3.4 EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan TGF- β 1 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	62
Tablo 3.5 SA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan TGF- β 1 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	63
Tablo 3. 6 EDTA ve SA solüsyonu uygulanan deney gruplarında TGF- β 1 salınım düzeylerinin aktivasyon şekillerine göre 24. saat ve 7. günde gruplar arası karşılaştırmalarının ortalama ve standart sapmaları.....	65
Tablo 3.7 EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan IGF-1 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	66
Tablo 3.8 SA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan IGF-1 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	67
Tablo 3.9 EDTA ve SA solüsyonu uygulanan deney gruplarında IGF-1 salınım düzeylerinin aktivasyon şekillerine göre 24. saat ve 7. günde gruplar arası karşılaştırmalarının ortalama ve standart sapmaları.....	69

Tablo 3.10 EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan BMP-7 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	71
Tablo 3.11 SA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan BMP-7 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	72
Tablo 3.12 EDTA ve SA solüsyonu uygulanan deney gruplarında BMP-7 salınım düzeylerinin aktivasyon şekillerine göre 24. saat ve 7. günde gruplar arası karşılaştırmalarının ortalama ve standart sapmaları.....	73
Tablo 3.13 EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan VEGF-A miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	75
Tablo 3.14 SA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan VEGF-A miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri.....	76
Tablo 3.15 EDTA ve SA solüsyonu uygulanan deney gruplarında VEGF-A salınım düzeylerinin aktivasyon şekillerine göre 24. saat ve 7. günde gruplar arası karşılaştırmalarının ortalama ve standart sapmaları.....	78

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 3.1 Tüm gruplardaki örneklerin TGF- β 1 salınımında gruplar arası 24. saat ve 7. gün ortalama değerlerinin grafiksel görünümü (ng/ml)	65
Grafik 3.2 Tüm gruplardaki örneklerin IGF-1 salınımında gruplar arası 24. saat ve 7. gün ortalama değerlerinin grafiksel görünümü (ng/ml).....	70
Grafik 3.3 İrrigasyon solüsyonlarının ve aktivasyon şekillerinin BMP-7 salınımında gruplar arası 24. saat ve 7. gün ortalama değerlerinin grafiksel görünümü (ng/ml).....	74
Grafik 3.4 İrrigasyon solüsyonlarının ve aktivasyon şekillerinin VEGF-A salınımında gruplar arası 24. saat ve 7. gün ortalama değerlerinin grafiksel görünümü (pg/ml).....	79

ÖZET

FARKLI İRRİGASYON VE AKTİVASYON TEKNİKLERİNİN DENTİNDEN BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN SALINIMINA ETKİSİ

Günümüzde; dens evaginatus, dens invaginatus, çürük, dental travma veya iatrojenik nedenlerle kök gelişimi duran immatür nekrotik dişlerde revaskülarizasyon (rejeneratif endodonti) tedavisi yaygın olarak uygulanmaktadır. Rejenerasyonun başarısını etkileyen kök hücre, iskele ve büyüme faktörlerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, EDTA ve sitrik asit (SA) gibi klinik uygulamalarda sıklıkla kullanılan irrigasyon solüsyonlarına farklı irrigasyon aktivasyon yöntemleri uygulanarak dentinden salınan transforme edici büyüme faktörü (TGF- β 1), insülin büyüme faktörü-1 (IGF-1), kemik morfogenetik protein-7 (BMP-7) ve vasküler endotelial büyüme faktörü-A'nın (VEGF-A) 24. saat ve 7. gün seviyelerinin değerlendirilmesidir.

Bu çalışmada; 70 adet periodontal nedenlerle çekilmiş, tek köklü ve tek kanallı premolar dişler kullanıldı. Kök segmentlerinin boyları apeksten itibaren 12 mm boyutunda standardize edilerek, 100# nolu el eğesine kadar preparasyon yapıldı. Kanal içi dentin yüzeyi hariç tüm yüzeyler ojeyle kaplandı. Tüm kök segmentlerine %1.5 NaOCl (20 ml/5 dk) irrigasyonu yapılarak, 10 diş kontrol grubu olarak ayrıldı. Kalan 60 diş kullanılan şelasyon ajanına (%17 EDTA, %10 SA) göre 2 ana gruba ve aktivasyon şekline (konvansiyonel irrigasyon, devamlı ultrasonik aktivasyon, Er:YAG lazer aktivasyonu) göre 3 alt gruba ayrıldı. Aktivasyon işleminden sonra örnekler; 1 ml fosfat tamponlu saline solüsyonu (PBS) içeren eppendorf tüplerine konup 37°C'de saklanarak 1. ve 7. günlerde ELISA yöntemiyle TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A salınım düzeyleri ölçüldü. Tüm kök segmentlerinden alınan konik ışınli bilgisayarlı tomografi ile elde edilen görüntüler üzerinde ölçüm yapılarak, kesik koni formülü yardımıyla hacimleri hesaplandı. Her kök segmentinin birim kök kanal hacimleri esas alınarak salınım seviyeleri hesaplandı. Verilerin

normallik analizi Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Veriler normal dağılmadığından non-parametrik testler olan Mann Whitney-U testi ve Wilcoxon testi kullanılarak istatistiksel analiz yapıldı.

Tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri incelendiğinde; EDTA ve SA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Konvansiyonel irrigasyon yöntemine göre aktivasyon tekniklerinin daha etkili olduğu belirlendi ($p<0.05$). Büyüme faktörlerinin 24. saat ve 7. gün konsantrasyonlarını, SA solüsyonuna uygulanan Er:YAG lazer aktivasyonunun, konvansiyonel şırınga irrigasyonu ve ultrasonik aktivasyona göre istatistiksel anlamlı bir şekilde artırdığı görüldü ($p<0.05$). 7. gün ölçümlerinde ise; tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi ($p<0.05$).

Çalışmamızın sınırları içerisinde; EDTA ve SA solüsyonlarına uygulanan aktivasyon teknikleri tüm büyüme faktörlerinin salınım seviyelerini artırdı.

Anahtar Kelimeler: Büyüme Faktörleri, Etilendiamintetraasetik Asit, Sitrik asit, Ultrasonik, Er:YAG Lazer, İrrigasyon Aktivasyonu, Rejeneratif Endodonti

ABSTRACT

THE EFFECT OF DIFFERENT IRRIGATION AND ACTIVATION TECHNIQUES ON THE EXPRESSION OF GROWTH FACTORS FROM DENTINE

Currently, revascularization (regenerative endodontics) treatment is applied in immature necrotic teeth because of stopping root development due to dens evaginatus, dens invaginatus, caries, dental trauma and iatrogenic reasons. Many studies have been conducted on stem cell, scaffolds and growth factors that affect the success of regeneration.

The aim of this study was whether there is a significant difference between 24th hour and 7th day release levels of transforming growth factor (TGF- β 1), insulin growth factor-1 (IGF-1), bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) and vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) released from dentin by ultrasonic and laser activation of irrigation solutions, which are frequently used in clinical applications such as EDTA and citric acid (CA).

In this study; 70 single rooted and single canal premolar teeth were used, which were extracted for periodontal reasons. The lengths of the root segments were standardized to 12 mm in size from the apex, and were prepared up to size 100 # with hand files. All surfaces were covered with nail polish except the inner canal surface. 10 teeth were separated as control group by irrigation to all root segments with 1.5% NaOCl (20 ml/5 min). The remaining 60 teeth were divided into 2 groups according to the chelation agent used (17% EDTA, 10% CA) and 3 subgroups according to the activation method (conventional irrigation, continuous ultrasonic activation, Er:YAG laser activation). After the activation root segments; placed in eppendorf tubes containing 1 ml of phosphate buffered saline solution (PBS) and stored at 37°C. TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 and VEGF-A concentration levels were evaluated by the enzyme-linked immunosorbent assay method (ELISA). The volumes were calculated by using the truncated cone formula by measuring on the

images obtained with cone beam computed tomography taken from all root segments.

There was no statistically significant difference between the release levels of all growth factors between EDTA and CA groups ($p>0.05$). Activation techniques were more effective than conventional irrigation method ($p<0.05$). Er:YAG laser activation of 10% CA was statistically significantly increased concentrations of growth factors on the 24th hour and 7th day compared to conventional syringe irrigation and ultrasonic activation ($p<0.05$). The concentrations levels of all growth factors decreased significantly on the 7th day measurements ($p <0.05$).

Within the limitations of our study; activation techniques applied to EDTA and CA increased the release levels of all growth factors.

Keywords: Growth Factors, Ethylenediaminetetraacetic Acid, Citric acid, Ultrasonic, Er:YAG Laser, Irrigation Activation, Regenerative Endodontics

GİRİŞ

İmmatür dişlerde pulpa dokusu, bakteriyel invazyon ve/veya dental travma nedeniyle zarar görebilir. Böyle durumlar pulpa dokusunun enflamasyonu ve pulpa nekrozu ile sonuçlanabilir (Albuquerque ve ark. 2014). Nekroz sonucu odontoblastlar canlılığını kaybeder, kök gelişimi kesintiye uğrar ve dişlerin kırılmaya eğilimi artar (Nagata ve ark. 2014). Geleneksel olarak nekrotik immatür dişlerin tedavisinde kalsiyum hidroksitle ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) apeksifikasyon tedavisi uygulanır. Tedavi süresince 3 ayda bir yenilenmesi gereken, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ çoklu muayenehane ziyaretleri ve yüksek klinik maliyet getirmektedir. Apeksifikasyon tedavisinin başarı oranı yüksek olsa da; tedavi süresinin 18 aya kadar uzaması, ince kalan dentin duvarları ve apikal bariyer oluşturulması amacıyla uzun süreli $\text{Ca}(\text{OH})_2$ uygulanmasının dentin kırılabilirliğini artırması gibi dezavantajları bulunmaktadır (Carrotte 2004).

Apeksifikasyona alternatif olarak MTA ile apikal kapama sağlanabilir; ancak bu yöntemle sadece apikal kapanma sağlanırken kök gelişimi sağlanamamaktadır (Damle ve ark. 2012). 1960'lı yıllarda Nygaard-Ostby (Östby 1961), kök kanalı içindeki doku rejenerasyonu kavramını ortaya koymuştur. 2004 yılında, Banchs ve Trope (Banchs ve Trope 2004) minimal kanal preparasyonu, bol irrigasyon ve kanal içi medikament yerleştirmenin sonrasında da kanal içi kanamayı indükleyen bir klinik protokol başlatmıştır. Son zamanlarda apeksifikasyona alternatif olarak revaskülarizasyon tedavisi ile kök gelişimi ve apikal kapanmanın sağlandığı retrospektif ve prospektif birçok vaka serisi bulunmaktadır (Diogenes ve ark. 2013). Ancak; yapılan çalışmalar yetersiz ve sınırlı olduğundan rejeneratif tedavi başarı oranı apeksifikasyonla karşılaştırıldığında değişkenlik göstermektedir. Rejeneratif endodontik tedavinin sonucunu artırmak ve fonksiyonel bir pulpa-dentin kompleksini yeniden oluşturmak için, rejeneratif endodonti alanında doku mühendisliği teknolojisi uygulanmaya başlanmıştır. Pulpa-dentin kompleksinin başarılı bir şekilde yenilenmesi için doku mühendisliğinin 3 ana elementi olan; kök hücre, büyüme faktörleri ve iskele yapıya ihtiyaç vardır.

Kök hücre; birbirine benzeyen hücreler şeklinde bölünebilme yeteneği olan, farklı tipte hücre ve dokulara dönüşebilen hücreler olarak tanımlanabilir (Rao 2004). En uygun kök hücre kaynağı hastanın kendisidir (Malhotra ve ark. 2009). Kök hücreler; apikal papillada, diş pulpasında (Gronthos ve ark. 2000), eksfoliyeye süt dişlerinde (Miura ve ark. 2003), periodontal ligamentte (Seo ve ark. 2004) ve dental follikül (Morsczech ve ark. 2005) gibi birçok dokuda bulunabilir. Kaybedilmiş organ ve dokuların rejenerasyonunda, kök hücre kaynakları ve biyoaktif moleküllerin adezyonu, büyümesi ve differansiyasyonu (farklılaşması) gerekir. Bunun içinde; hücre organizasyonu ve vaskülarizasyonunu destekleyen üç boyutlu bir yapı olan iskelelere ihtiyaç vardır.

İnsan dental pulpası; doğal bir rejenerasyon kapasitesiyle, yüksek vasküler desteğe sahip, progenitör ve postnatal kök hücrelerden oluşur (Gronthos ve ark. 2000, Nakashima ve Akamine 2005). Büyüme faktörleri, hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanan polipeptid ya da proteinlerdir. Kök hücreleri de içine alan dental pulpa hücrelerinin; migrasyonu (göç), proliferasyonu (çoğalma), diferansiyasyonu (farklılaşma) ve gerektiğinde apoptozisini içeren hücresel aktivitelerini etkilerler. (Lind 1996). Otokrin ya da parakrin etki ile intrasellüler sinyalleşme zincirini başlatabilirler (Lázár-Molnár ve ark. 2000). Sitokinler ve büyüme faktörleri hedef hücre üzerinde lokal etki gösterirler (Kim ve ark. 2012).

Çürük ve asit uygulaması gibi işlemlerden sonra demineralize olan dentin matriksinden büyüme faktörleri salınır (Finkelman ve ark. 1990). Transforme edici büyüme faktörü- β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β), kemik morfogenetik proteinler (Bone Morphogenetic Protein, BMP), fibroblast büyüme faktörü (Fibroblast Growth Factor, FGF) gibi büyüme faktörleri protein yapıda olduklarından hücre reseptörüne bağlanıp hasarlı bölgedeki pulpada öncül hücrelerin çoğalması ve/veya differansiyasyonu için kemotaktik sinyal salınımını gerçekleştirirler (Martin 1997). Bu sinyalizasyon, tersiyer dentinogenezisde anahtar rol oynar (Tziafas ve ark. 1995). Yetişkin pulpa dokusunun rejenerasyonunda BMPs, TGF- β 'nın zorunlu ve potansiyel bir rolü vardır (Finkelman ve ark. 1990, Nakashima ve Reddi 2003b). Büyüme faktörlerinin bir üyesi olan TGF- β diş gelişimi sırasında iç mine epitelinden salgılanarak odontoblastların differansiyasyonunda önemli rol oynar (Smith ve ark. 2003). Rejenerasyon tedavisinin önemli bir basamağı olan immün cevap,

anjyogenez, hücre göçü, proliferasyon, differansiyasyon ve mineralizasyon gibi hücrel yanıtı uyarılar (Barrientos ve ark. 2008).

Rejeneratif endodontik tedavi protokolü; kök kanalında minimal preparasyon veya hiç preparasyona gerek kalmadan kimyasal debridman ve ardından üçlü (siprofloksasin/metronidazol/minosiklin), ikili (siprofloksasin/metronidazol) antibiyotik ya da Ca(OH)₂'in kanal içine uygulanması ile başlar ve genellikle 2-4 hafta enfeksiyon bulgularının geçmesi beklenir. Nekroz ya da enfeksiyon nedeniyle gelişimi durmuş kök kanalında enfekte olmuş pulpa dokusuna kök hücrelerinin migrasyonu (göç), adezyonu ve proliferasyonu (çoğalma) mümkün değildir. Başarılı bir rejenerasyon protokolü kök kanalının dezenfekte edilmesini gerektirir. Enfekte olan kök kanalındaki ince dentin duvarları mekanik temizliğe uygun olmadığından kimyasal irrigasyon solüsyonlarının etkisi önemlidir. Kimyasal dezenfeksiyon için bakterisidal ve bakteriyostatik etkilerinden yararlanmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda sodyum hipoklorit (NaOCl), etilendiamintetraasetik asit (EDTA), asitler (sitrik asit (SA), tannik asit, sülfürik asit, poliakrilik asit, fosforik asit), oksidatif maddeler (hidrojen peroksit, H₂O₂), katyonik özellikte olan klorheksidin ve salin gibi birçok solüsyon kullanılmaktadır. Kök kanalının dezenfeksiyonunu sağlarken kök hücrelerinin canlılığının korunması ve uyarılması önemlidir. Bunu hedefleyen bazı klinik yaklaşımlar önerilmiştir (Ring ve ark. 2008).

Dentin tübüllerinde, 300 ile 1500 µm derinliğe kadar ulaşan bakteriyel yayılımın dezenfeksiyonunu sadece konvansiyonel irrigasyon yöntemleriyle başarmak mümkün değildir. Bu sebeple; irrigasyon aktivasyonu için gutta-perka konlar, sonik, ultrasonik sistemler ve lazer teknikleri evrensel olarak etkili kabul edilmektedir (Violich ve Chandler 2010).

Ultrasonikler 25-30 kHz'de titreşim üretirler. Ultrasonik aktivasyon; pasif ultrasonik aktivasyon (PUI) ve sürekli ultrasonik aktivasyon (SUI) olarak iki şekilde uygulanmaktadır. PUI, irrigasyon solüsyonu kanal içine gönderildikten sonra ultrasonik ucun kanal duvarlarına temas etmeyecek şekilde yerleştirilip aktive edilmesiyle sağlanır. Metal ultrasonik ucun vibrasyonu ile oluşan akustik akımlar mikrokavitasyonlar oluşturur. Aynı zamanda irrigasyon solüsyonunun ısısının yükselmesiyle solüsyonun etkinliği de artmaktadır.

Endodontide irrigasyon aktivasyonu için Erbium:Yttrium-Aluminum-Garnet (Er:YAG), Neodymium:Yttrium-Aluminyum-Garnet (Nd:YAG), Erbium, Chromium:Yttrium-Scandium-Gallium-Garnet (Er,Cr:YSGG) lazerler güncel olarak kullanılmaktadır. Olivi ve ark.; Er:YAG lazer ile kullanılan PIPS ucuyla kök kanallarında fotoakustik şok dalgaları oluşturarak solüsyonu üç boyutlu olarak ana kanala, yan kanallara, anastomozlara, ve dentin tübüllerine doğru apikale kadar pompalanarak canlı ve nekrotik doku kalıntılarının etkin olarak uzaklaştırıldığını belirtmişlerdir. (Olivi ve DiVito 2016). NaOCl ile birlikte EDTA, SA gibi şelasyon ajanlarının irrigasyon aktivasyonu ile dentin tübüllerine penetrasyonunu artırarak kök kanal dezenfeksiyonunun başarısını artırmanın mümkün olduğu düşünülmektedir.

Şimdiye kadar; rejeneratif endodontik tedavide kullanılan irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonu ile büyüme faktörlerinin kök kanalına salınımını araştıran sadece bir çalışma mevcuttur. Widbiller ve ark. (2017), EDTA ve ultrasonik aktivasyon yöntemini kullanarak kök modellerinde ve dentin disklerinde TGF- β 1 salınımını incelemişler ve sonuçta EDTA irrigasyonu ile ultrasonik aktivasyonun TGF- β 1 salınımını artırdığını belirtmişlerdir. Ancak; bu çalışmada büyüme faktörlerinin uzun süreli salınımını değerlendirilmemiştir. Literatürde farklı irrigasyon solüsyonlarının ve farklı aktivasyon tekniklerinin bir arada kullanılarak revaskularizasyonda önemli rolleri olan TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A düzeylerinin ölçümlerinin yapıldığı bir çalışma henüz mevcut değildir.

Bu çalışmanın amacı; büyüme faktörleri açısından rezervuar görevi olan dentin matriksine; EDTA ve SA gibi şelasyon ajanlarının penetrasyonunu, irrigasyon aktivasyonu ile artırarak daha yüksek düzeyde büyüme faktörlerinin salınımının mümkün olup olmadığını araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

Endodontik tedavi; enfekte olmuş pulpa dokusunun kimyasal ve mekanik olarak temizlenmesi ve sonrasında sızdırmayan, biyouyumlu materyallerle doldurulmasıdır. Geleneksel diş hekimliğinde; en uygun koşullar sağlandığında bazı tedavi prosedürlerinde %90'nın üzerinde başarı oranlarının görüldüğü bir aşamaya gelinmiştir (Schwartz-Arad ve ark. 2005). Yeni materyallerin geliştirilmesi, tedavi sırasında teknik duyarlılığı etkileyen faktörlere dikkat edilmesi ve popülasyondaki ağız sağlığı konularında artan farkındalık tedavi sonuçlarındaki bu olumlu gelişmelerin artmasına yardımcı olmuştur. Geliştirilen tedavi materyallerinde biyouyumluluğa daha fazla önem verilmesi, tedavinin diş ve periodonsiyumda olumsuz hücresel tepkilere yol açmamasını sağlamıştır. Tüm bu olumlu gelişmelere rağmen; kök kanal tedavisi yapılarak restore edilen dişlerde fizyolojik savunmanın ve ağrı iletiminin olmaması ilerleyen dönemlerde dişin kaybedilme riskini artırmaktadır. Bu risk kök gelişimini tamamlamamış dişlerde daha da yüksektir (Schmalz ve Smith 2014).

İmmatür dişlerde pulpa dokusu; dens evaginatus, dens invaginatus, çürük, dental travma veya iatrojenik nedenlerle zarar görebilir. Travmatik kırıklar veya çatlaklar nedeniyle ağız florasındaki bakteriler pulpaya geçer. Bu bakterilerin metabolik ve diğer toksik ürünleri sonucu; pulpa dokusunun enflamasyonu ve pulpa nekrozu gelişebilir (Baumotte ve ark. 2011). Yapılan çalışmalarda; kök gelişimini tamamlamamış travmaya uğramış dişlerde, anaerobik ortamda yüksek oranda siyah pigmente bakteriler ve *Enterococcus faecalis*'i içeren polimikrobiyal bir flora bulunduğu rapor edilmiştir (Baumgartner ve Falkler 1991, Baumgartner ve ark. 1999, Gomes ve ark. 2006, Sassone ve ark. 2007, Baumotte ve ark. 2011).

Pulpada gelişen nekroz sonucu odontoblastlar canlılığını kaybeder ve kök gelişimi kesintiye uğrar (Nagata ve ark. 2014). Açık apeksli ve ince dentin duvarları

olan bu dişlerin tedavisinde; kök gelişimi sağlanırken aynı zamanda kanal sisteminin de optimal sızdırmazlığı elde edilmeye çalışılır (Damle ve ark. 2012).

Ca(OH)₂, travmaya uğramış dişlerde periodontal dokuların iyileşmesi ve apikal kapanmanın sağlanması için önerilen bir referans materyaldir (Cvek 1992). Ca(OH)₂, apikal periodontitis gelişiminde rol oynayan mikroorganizmalar için antiseptik özelliğiyle apikal iyileşmeyi sağlar (Ørstavik ve ark. 2004). Ca(OH)₂ kullanılarak yapılan apeksifikasyon tedavisinde amaç; kök ucunda kalsifiye apikal bariyer oluşumunu uyararak toksinlerin ve bakterilerin periradiküler dokuya geçişini önlemektir. Bu bariyer; periapikal dokulara ekstrüzyon olasılığını azaltırken, uygun bir kök kanal dolgu malzemesinin yerleştirilmesini de kolaylaştırır (Mackie 1998). Bununla birlikte; Ca(OH)₂ ile başarı oranı yüksek olsa da; tedavi süresinin 18 aya kadar uzaması, tedavi seansları arasında kanalın tekrar enfekte olma riski, uzun süreli Ca(OH)₂ uygulanmasının dentin kırılabilirliğini artırması ve çoklu muayenehane ziyaretleri gibi dezavantajları bulunmaktadır (Bonte ve ark. 2015).

Apikal alandaki rezidüel odontojenik hücrelerin ve bağ dokusunun, rejenerasyon kapasitesiyle kemik dokusu, sement ve düzensiz tübüler yapıya sahip dentin tabakası oluşturabileceği belirtilmiştir (Torneck ve Smith 1970, Torneck ve ark. 1973). Alfred L. Frank (1966); Ca(OH)₂ uyguladığı 3 vakasının 3 ve 6 aylık kontrollerinde; apikal lezyonun iyileştiği ve kök ucunda kalsifiye doku oluşumunun görüldüğünü belirtmiştir. Cvek (1972) tarafından yapılan bir çalışmada; 55 non-vital daimi kesici dişlere Ca(OH)₂'le apeksifikasyon tedavisi uygulanmış ve 50'sinde 14-21 ay sonrasında apikal kapanma ve iyileşmenin görüldüğü fakat kök oluşumunun devam etmediği tespit edilmiştir. Yapılan birçok çalışma sonuçları bize; Ca(OH)₂'le yapılan apeksifikasyon tedavilerinde; %74 ile %100 arasında apikal kapanmanın sağlandığı ve klinik semptomların iyileştiğini göstermektedir (Sheehy ve Roberts 1997, Dominguez Reyes ve ark. 2005, Damle ve ark. 2012, Diogenes ve ark. 2013).

Dentin tabakası ağırlığının %22'sini organik madde oluşturmaktadır. Bu oranın çoğunluğunu, dentinin mekanik özelliklerini önemli ölçüde etkileyen tip 1 kollajen oluşturur. Ca(OH)₂'nin kollajeni çözme etkisi ve sert doku yapımını uyararak; eğilme direncini azalttığı, elastiklik modülünü etkilemediği tespit edilmiştir. Apeksifikasyon tedavisinde birlikte kullanılan NaOCl ve Ca(OH)₂'nin sinerjistik bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Tatsuta ve ark. 1999). Ayrıca %3 ve

%5 NaOCl ile tedavi edilen kök kanallarının kırılma şekillerinde önemli farklılık olduğu belirtilmiştir (Grigoratos ve ark. 2001). Bu durum yüksek konsantrasyonlarda ki NaOCl'in daha fazla kollajeni çözmesiyle ilişkili olabilir. Dentinin organik matriksi; asit proteinleri, fosfat ve karboksilat grupları içeren proteoglikanlardan oluşur ve bu proteinler kollajen ağı ve hidroksiapatit kristalleri arasında bağlayıcı maddeler olarak işlev görmektedir. Ca(OH)₂'nin alkali yapısının, bu bağlayıcı işlev gören asidik bileşenlerin bazılarını nötralize edebildiği, çözebildiği veya denatüre edebildiği tespit edilmiştir. Bunun sonucu olarak; dentin tabakasının zayıflayabileceği belirtilmiştir. Ca(OH)₂'le apeksifikasyon tedavisi uygulanan olgunlaşmamış dişlerin kırılma direncinin yaklaşık bir yıl içinde yarıya indiği ve bu nedenle servikal kırıkların görülebileceği rapor edilmiştir (Andreasen ve ark. 2002).

1993 yılında; Torabinejad ve Chivian (1993) sementoblastlar üzerinde indüktif etkiye sahip Mineral Trioksit Agregatın (MTA) kullanımını önermişlerdir. MTA; trikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat, trikalsiyum oksit ve silikat oksit içeriğiyle ince hidrofilik parçacıklardan oluşur. 12.5 pH'da ve nemli ortamda sertleşerek kemik apozisyonu sağlar. Pulpa kaplamasında, vital pulpa tedavilerinde (pulpatomi ve apeksogenezis), kök perforasyonlarının kapatılmasında, apikal rezeksiyonda ve rejenerasyon tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Rejenerasyonu destekleyen kemik hücrelerinden sitokin salınımını uyarma yeteneğine sahiptir. Düşük çözünürlük özelliği vardır. Sitotoksik olmadığı, biyouyumlu, antimikrobiyal ve tek seansta apikal bariyer oluşturmak için potansiyel bir malzeme olduğu belirtilmiştir. Yüksek biyouyumluluk özelliğiyle optimal iyileşme teşvik edilir. Histolojik olarak periradiküler dokularda yeni sement ve pulpada dentin köprü oluşumunu sağladığı bilinmektedir (Tawil ve ark. 2009). Mikrosızıntıyı önleme özelliği ise; genleşme ve büzülme özelliklerinin dentine çok benzer olmasından kaynaklanmaktadır; bu durum da marjinal sızıntıya ve kök kanal sistemine bakteriyel geçişe engel olmaktadır (Tawil ve ark. 2015).

30 vakada Ca(OH)₂ ve MTA ile yapılan apeksifikasyon tedavisinde; ilk 6 aylık süreçte belirgin bir fark görülmezken, 12 aylık değerlendirmelerde MTA'nın apikal kapanmada daha başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Ca(OH)₂ uygulanan 15 vakanın dördünde 12. aydan sonra koronal ve radiküler kırıklar görülmüştür (Bonte ve ark. 2015). Araştırma sonuçları; MTA'nın apikal sert doku oluşumunu daha yüksek oranda indüklediğini ve kullanımının diğer materyallerden

daha az enflamasyona neden olduğunu göstermiştir (Torabinejad ve ark. 1993). Bu sonuçlara dayanarak, MTA'nın açık apeksli dişlerde apikal tıkamayı sağlamak için uygun bir bariyer olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Torabinejad ve Chivian 1999).

Kök gelişimini tamamlamamış dişlerde; uzun süreli Ca(OH)₂ ve tek seans MTA uygulanmasıyla yapılan apeksifikasyon tedavileri başarılı sonuçlar verse de, histolojik olarak dental dokuların revaskülarizasyonunu sağlamamaktadır. Son yıllarda rejeneratif endodonti uygulamaları; nekrotik kök gelişimini tamamlamamış daimi dişlerde; kök hücrelerin, biyoaktif moleküllerin ve iskelelerin kombinasyonu ile pulpa dokusunun revaskülarizasyonu gibi tedavi seçeneği sunmaktadır.

Rejeneratif endodontinin temelini oluşturan ilk çalışma Nygaard-Qstby tarafından yapılmıştır. Nekrotik pulpalı ve apikal lezyonlu matür bir dişin apikalinde vaskülarize doku oluşumunun uyarıldığı bu çalışmada kan pıhtısının iyileşmeyi teşvik ettiği varsayımıyla, temizlenen ve medikament yerleştirilen kök kanallarında kanal egesiyle apikal alanda kanama uyarılmıştır. Oluşan pıhtının koronale kloraperka patı konarak hastaların 17. günden 3 yıla kadar takipleri yapılmıştır. 17. günde enflamasyon belirtilerinde azalma görülmüştür. Çekim endikasyonu konan dişlerin histolojik incelemelerinde; tüm dişlerde kanal içine büyüyen bağ dokusu ve kanal duvarları boyunca mineralize odaklar tespit edilmiştir. Kanal içerisinde sementoblast gibi istenmeyen hücrelerin bulunması, odontoblast gibi istenen hücrelerin bulunmaması bu tedavi prosedürünün tam anlamıyla rejenerasyonu sağlamadığını gösterse de, diğer çalışmalar için öncülük ettiği düşünülebilir (Östby 1961).

Rule ve Winter (1966), nekrotik immatür dişlerde seanslar arasında ilk defa poliantibiyotik patını kullandıkları çalışmalarını yayınlamışlardır. İstemeden yapılan apikal kanamayla 5 vakada enfeksiyon belirtilerinin azaldığını ve kök gelişimlerinin devam ettiğini rapor etmişlerdir.

Başka bir çalışmada; vital ya da nekrotik pulpalı 47 dişte apikal kanama isteyerek yapılmış ve rejenerasyon süreçleri 9. günden 3 yıla kadar takip edilmiştir. Dişlerin çoğunda klinik semptomların iyileştiği görülmüştür. Çekim endikasyonu konan dişlere yapılan histolojik çalışmalarda; 18 dişte hücreli sement, 28 dişte fibröz

bağ dokusu tespit edilmiştir. Nekrotik pulpalı dişlerde ise herhangi bir onarımın olmadığı görülmüştür (Nygaard-Östby ve Hjortdal 1971).

2001 yılında Iwaya ve ark. (2001); rejeneratif tedavi prosedürleri içeren güncel bir vaka yayınlamışlardır. Nekrotik pulpalı dişe, mekanik preparasyon yapılmadan %5 NaOCl ve %3 H₂O₂ irrigasyonu yapıldıktan sonra metronidazole ve siprofloksasin içeren antimikrobiyal pat uygulanmıştır. 5. ayda çekilen radyografide kök gelişimi ve apikal kapanmaya ait ilk belirtiler görülürken, 30. ayda apeksin tamamen kapandığı ve kök kanal duvarlarının kalınlaştığı görülmüştür. Bu vakada aynı zamanda elektrikli pulpa testlerine de pozitif cevap alındığı belirtilmiştir.

2004 yılında Banchs ve Trope (2004); günümüze kadar en çok uygulanan tedavi protokolüyle rejenerasyon vakasını yayınlamışlardır. Nekroze pulpası ve fistül ağızı bulunan mandibular premolar dişe; %5,25 NaOCl ile dezenfeksiyon sağlanıp siprofloksasin, minosiklin ve metranidazolden oluşan üçlü antibiyotik patı yerleştirilmiştir. İkinci seansta; saline irrigasyonundan sonra apikalde kanama uyarılmış ve oluşan kan pıhtısının üzerine MTA yerleştirilmiştir. 2 hafta sonra herhangi bir semptom ve bulguya rastlanmayan hastada daimi restorasyon yapılmıştır. Bu vakada; dentinal duvarların kalınlaştığı, apeksin kapandığı ve soğuk testine pozitif cevap verdiği belirtilmiştir

Jeeruphan ve ark. (2012); rejeneratif tedavide MTA ile yapılan apeksifikasyon ve Ca(OH)₂'le uzun süreli apeksifikasyon tedavilerinin klinik ve radyolojik sonuçlarını araştırmışlar. Rejenerasyon vakalarının kök uzunluğunda %14.9 oranında artış olurken, bu oran MTA %6.1 ve Ca(OH)₂'de ise %0.4'tür. İlk defa bu çalışmada dişlerin ağızda kalma sürelerine bakılmıştır. Ağızda kalma süreleri; revaskülarizasyon protokolünde %100, MTA uygulanan apeksifikasyon vakalarında %95 ve Ca(OH)₂ ile uzun süreli apeksifikasyon tedavilerinde ise %77.22 olarak tespit edilmiştir. Ca(OH)₂ uygulanan vakalardaki diş kayıplarının %23'ünde restorasyonu mümkün olmayan kök fraktürleri görülmüştür. Bu çalışmaya göre; rejeneratif endodontik tedavinin; dişlerin ağızda kalma sürelerini olumlu yönde etkilediği sonucuna varılabilir.

Tüm bu çalışmaların sonuçlarına bakıldığında nekrotik pulpalı dişlerde kanal içi dezenfeksiyonun mümkün olduğu ve dezenfeksiyon sonrasında kök pulpasında revaskülarizasyonun gerçekleştirilebileceği düşünülebilir. Rejeneratif

endodontik tedavi prosedürlerinin temel amacı; pulpa-dentin kompleksindeki hücrelerin yerine konmasıyla birlikte, hasar görmüş kök dentininin gelişimini de devam ettirmektir (Murray ve ark. 2007). Tüm bu klinik uygulamalar doku mühendisliğinin çalışma prensipleri esas alınarak uygulanmaktadır.

1.1 Rejeneratif Endodonti

Doku mühendisliğiyle; kanser, travma ya da hastalıklar nedeniyle kaybolan dokunun fizyolojik ve fonksiyonel restorasyonu hedeflenir. Rejeneratif tıp alanındaki çalışmalar; 3 ana element olan kök hücreler, iskele ve büyüme faktörlerini içermektedir (Nakashima ve Reddi 2003a, Nakashima ve Akamine 2005).

Dentinin yapı olarak mineralize dokudan oluştuğu ve hasar gördüğü durumlar dışında minimal remodelling gösteren bir doku olduğu düşünülmüdü. Dentinin tersine pulpa ise; yüksek turn-over ve remodeling sergileyebilen yumuşak bağ dokusu şeklinde tanımlanırdı. Son 40 yıldır dentinin biyoaktif özellikleri üzerine yapılan çalışma sonuçlarıyla dentin matriksinin; BMP'lerin aktivitesine bağlı olarak mineralizasyonu uyardığı, pulpal tamir sürecini ve apikal kapanmayı indüklediği bilinmektedir (Smith ve ark. 2016). Aynı zamanda diş gelişiminde de rolü olan odontoblast farklılaşmasını uyararak TGF- β ve BMP ailesinin çözünabilir dentin matriksine çökelmesi tespit edilmiştir (Begue-Kirn ve ark. 2004). Dentin ve pulpa yapısındaki biyoaktif moleküller rejeneratif endodontinin sadece bir bölümünü içerse de, yapılan çalışmalarda pulpal yara iyileşmesini ve mineralizasyonu uyararak pozitif etkileri rejeneratif endodonti alanında da ilgi konusu olmuştur. Hem kök gelişimini tamamlamamış hem de tamamlamış dişlerde; apikal papillada (Ruparel ve ark. 2013) iltihaplı periapikal dokularda (Chrepa ve ark. 2015) ve kan damarlarında bulunan kök hücreleri pulpal yara iyileşmesini uarmayı amaçlayan rejeneratif prosedürlerin önemli bir basamağını oluşturmaktadır. Kan pıhtısı, PRP ve PRF gibi doğal iskelelerin uygulanmasıyla yara iyileşmesindeki bileşenlerin tamamlanarak, dentin ve kök yapılarının gelişiminin devam etmesinin yanı sıra pulpa-dentin kompleksinin hücrelerini de yerine koymak rejeneratif endodontinin hedefi haline gelmiştir. Araştırma verileri; dişin tüm kronu yerine daha küçük boyutlarda diş dokusunun

üretilebildiğini göstermiştir. Bu nedenle; doku mühendisliğiyle insan dişlerinin rejenerasyonla yerine konabileceği öngörülebilir (Young ve ark. 2002, Duailibi ve ark. 2004).

1.1.1 Kök Hücreler

Tüm dokular kök hücrelerden köken alır. Kök hücre; birbirine benzeyen hücreler şeklinde bölünebilme yeteneği olan, farklı tipte hücre ve dokulara dönüşebilen hücreler olarak tanımlanabilir (Rao 2004). En uygun kök hücre kaynağı hastanın kendisidir (Malhotra ve ark. 2009).

Kök hücreler elde edilme kaynaklarına göre; embriyonik kök hücreler (fetal) ve yetişkin kök hücreler (post-natal) olarak ikiye ayrılır. Embriyonik kök hücreler doku mühendisliğinde daha değerlidir, fakat bazı etik ve yasal sorunlar (Murray ve ark. 2007) ve dokularda teratom oluşturma (Weissman 2000) riski nedeniyle kullanılamamaktadır.

Kök hücreleri; kendi kendilerini yenileyebilme (self renewal), farklılaşabilme (plastisite), klon oluşturabilme (clonality) özelliklerine sahiptir (Atala 2005). Kök hücreler farklılaşma yeteneklerine göre; totipotent, pluripotent, multipotent ve unipotent hücreler olarak 4 gruba ayrılır (Murray ve ark. 2007). Totipotent hücre tipi, 1-3 günlük embriyolarda bulunur ve sınırsız olarak farklılaşma özelliğine sahiptir. Pluripotent hücreler, 10-15 günlük embriyolarda bulunur ve vücutta farklı tüm doku tipine dönüşebilen embriyonik germ hücreleridir. Multipotent hücrelerin tek bir germ tabakasına ait hücelere dönüşme yetenekleri vardır (Murray ve ark. 2007). Unipotent kök hücreler ise tek bir hücre tipine dönüşebilirler (Alison 2005).

Postnatal kök hücreler; beyin, kemik iliği, periferik kan, kan damarları, iskelet kası, deri, karaciğer ve dental pulpada bulunur (Malhotra ve ark. 2009). Oral dokularda bulunan kök hücreler; oral epitelyal kök hücreler (Oral Epithelial Progenitor/ Stem Cells, OESC), diş pulpası kök hücreleri (Dental Pulp Stem Cells, DPSC), eksfoliyeye insan süt dişi kök hücreleri (Stem Cells From Human Exfoliated

Deciduous Teeth, SHED), periodontal ligament kök hücreleri (Periodontal Ligament Stem Cells, PDLSC), dental follikül kök hücreleri (Dental Follicle Stem Cells,DFSC), apikal papilla kök hücreleri (Stem Cells From Apical Papilla,SCAP), diş germi progenitor hücreler (Tooth Germ Progenitor Cells, TGPC), kemik iliği kök hücreleri (Bone Marrow-derived MSCs, BMSC), periost kaynaklı kök hücreler (Periosteum-Derived Stem Cells, PSC) ve gingiva kaynaklı mezenşimal kök hücreleridir (Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cell, GMSC) (Liao ve ark. 2011, Egusa ve ark. 2012).

Çok fazla dokudan elde edilmesine rağmen rejeneratif endodontik prosedürlerde genellikle DPSC, SCAP, SHED ve PDLSC'ler kullanılmaktadır.

DPSC; multipotent özellikte mezenşimal kök hücreleridir (Gronthos ve ark. 2000). Otolog kök hücre kullanımı için önemli bir kaynaktır. Osteoblastlar gibi; kemik sialoprotein (BSP), alkalin fosfataz (ALP), tip I kollajen ve osteokalsin sentezini indükler (Tsukamoto ve ark. 1992). Kök hücre çalışmalarında elde edilme kolaylığı nedeniyle en çok 20 yaş dişleri kullanılmaktadır. 20 yaş dişleri çenelerde en son gelişen dişler olması ve gelişimlerinin erken evresinde ulaşılabilmesi sebebiyle pulpa dokusu açısından zengin olduğu bilinmektedir (d'Aquino ve ark. 2008). Bu dişlerden elde edilen kök hücrelerinin; osteoblastlara (Laino ve ark. 2005), odontoblastlara (Gronthos ve ark. 2002), kıkırdak (Zhang ve ark. 2006), endotel (d'Aquino ve ark. 2007), yağ (Jo ve ark. 2007), sinir, iskelet ve düz kas hücrelerine (d'Aquino ve ark. 2007) farklılaşabildiği tespit edilmiştir.

Gelişim aşamasındaki dişin apeksinde yer alan dental papilla 'apikal papilla' olarak adlandırılmıştır ve buradan elde edilen kök hücrelere de SCAP denilmektedir (Sonoyama ve ark. 2008). En önemli SCAP kaynağı 3. molarlar ve açık apeksli dişlerdir (Lymperi ve ark. 2013). SCAP'lerin *in vivo* osteoblastlar ve odontoblastlara, *in vitro* ise osteoblast, odontoblast ve adipozitlere farklılaşabildiği tespit edilmiştir (Kikuchi ve ark. 2004, Ikeda ve ark. 2006). 18-20 yaş arası yetişkinlerden elde edilen SCAP'da rejenerasyon potansiyelinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Sonoyama ve ark. 2006).

SHED; fizyolojik olarak düşme zamanı gelmiş süt dişlerinin pulpalarından elde edilebilir. Nöronal hücrelere, adipozitlere ve odontoblastlara farklılaşma özelliği

vardır. *In vivo* koşullarda; yüksek proliferasyon kapasitesine sahiptir. Dentin üretimini ve kemik oluşumunu indüklediği bilinmektedir (Miura ve ark. 2003).

Periodontal ligament, sementumu alveolar kemiğe bağlayan, vaskülerize bağ dokusudur. Bu karmaşık vaskülerize yapıda sementoblast ve osteoblastlara farklılaşabilen prekürsör hücreler bulunmaktadır (Rimondini ve Mele 2009). PDLSC'lerin yüksek rejenerasyon yetenekleriyle fonksiyonel bir periodonsiyumu oluşturabildikleri belirtilmiştir (Sonoyama ve ark. 2006). İnsan vaka raporundan elde edilen histolojik sonuçlar; kök kanalı içindeki rejenere dokuların pulpal dokular değil, periodontal ligamentteki kök hücrelerden farklılaşan sementoblast ve osteoblastların sentezlediği semento-osteoid doku olabileceğini göstermiştir (Martin ve ark. 2013).

1.1.2 İskele Biyomateryalleri

1990'ların başından bu yana doku mühendisliğinde; travma ve/veya hastalıklar (Langer ve Vacanti 1993) nedeniyle kaybedilmiş organ ve dokuların rejenerasyonunda, kök hücre kaynakları (Nakashima ve Iohara 2011) ve biyoaktif moleküllerin (Arslan ve ark. 2014b) adezyonu, proliferasyonu ve diferansiyasyonu (Li ve ark. 2005) için iskele olarak davranan materyallerin sentezi üzerine birçoğ çalışma yapılmıştır.

Tedavilerin daha başarılı olabilmesi için pulpa kök hücreleri, hücre organizasyonu ve vaskülarizasyonunu destekleyen üç boyutlu bir yapı olmalıdır. Bu ise ancak kök hücreleri ile birlikte iskelelerin kullanılması ile mümkün olabilmektedir (Hargreaves ve ark. 2008).

İdeal bir iskele materyali; yüksek porözite, biyouyumluluk, osteoindüktif, biyoçözünürlük, hücre büyümesini destekleyebilme, toksik olmama, steril olma, besin transportu, progenitör/kök hücrelerin yerleşimine olanak sağlamalıdır. Büyüme faktörleri ve antibiyotik ilavesinin mümkün olması ve anjiyogenezis potansiyelinin yüksek olması gibi özellikler içermelidir.

Rejenerasyon için kullanılan doku iskeleleri doğal iskeleler ve doğal olmayan iskeleler olarak iki farklı şekilde elde edilmektedir. Kan pıhtısı, plateletten zengin plazma (PRP), plateletten zengin fibrin (PRF), kollajen, kitosan, glukozaminoglikan/hyaluronik asit, demineralize/doğal dentin matris ve deri doğal iskeleleri oluştururken; yapay iskeleler ise polilaktik asit, poliglikolik asit, polilaktik-ko-glikolik asit, poliepsilonkaprolakton ve biyoseramiklerden oluşur (Hargreaves ve Law 2011).

1.1.2.1 Doğal Olmayan İskeleler

Sentetik biyomateryaller; monomerlerin yapısına göre alt gruplara ayrılmaktadır. Karbon atomunun yanında bulunan karboksilik asit ve hidroksil grubu olmak üzere iki işlevsel gruptan oluşur ve ester bağı içerirler. Monomerlerin halka açılma polimerizasyonu ile poli(L-laktik asit) (PLLA), poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) ve polikaprolaktone gibi poli(α -hidroksil esterler) sentezlenebilir. Biyouyumluluğu ve insanlardaki güvenli kullanım sonuçları nedeniyle doku mühendisliğinde ve ilaç taşıma sisteminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Luo ve ark. 1999, Lee ve Park 2009). PLGA; laktik asit ve glikolik asit monomerlerinin farklı oranlarda karışımlarının polimerizasyonu ile elde edilir. Kopolimeri oluşturan monomer oranlarının değişimi ile farklı molekül ağırlıklı, farklı fiziksel ve kimyasal özellikte PLGA polimerleri elde edilebilir. PGA hidrofilik özellikte olduğundan hücre içinde kolaylıkla çözünür. PLA ise PGA'ya göre fazladan bir metil grubu taşıdığı için daha hidrofobiktir ve bozunması daha uzun sürede gerçekleşir.

PLA, PGA, PLGA ester bağlarının hidroliziyle laktik ve glikolik asite parçalanır ve bu doğal metabolitlerde sitrik asit döngüsüne girerek karbondioksit ve suya parçalanmaktadır.

En göze çarpan ve derinlemesine araştırılan polilaktone, poli(ϵ -kaprolaktone) (PCL)'dir. Pulpa kaplamasında etkili olduğu kabul edilen MTA, PCL ile birleştirilip üretilen üç boyutlu iskeleler üzerinde kültürlenmiş DPSC'lerin adezyonu, proliferasyonu ve diferansiyasyonunun daha iyi olduğu tespit edilmiştir. ALP

aktivitesinin daha yüksek olması nedeniyle sert doku rejenerasyonunda yararlı bir materyal olabileceğini destekleyen sonuçlar mevcuttur (Chiu ve ark. 2017).

1.1.2.2 Doğal İskeleler

Kandan Elde Edilen Doğal İskeleler: Günümüzde klinik ortamda kullanılan ve ticari olarak temin edilebilen sistemlerle hazırlanan en bilinen platelet konsantreleri, plateletten zengin plazma (PRP), büyüme faktörlerinden zengin plazma (PRGF) ve plateletten zengin fibrin (PRF)'dir. Kandan elde edilen doğal iskelelerde; PDGF, TGF- β , IGF, VEGF, epidermal büyüme faktörleri ve epitelyal büyüme faktörleri gibi farklı büyüme faktörleri bulunmaktadır.

PRP; büyüme faktörleri için zengin bir kaynak olan ilk jenerasyon otolog platelet konsantrasyonudur. PRP lökositlerin varlığı ve normal kan değerlerinin 5 ile 8 katı yüksek platelet konsantrasyonu ile karakterizedir. Çift santrifüjleme aşamasına giren antikoagüle edilmiş kandan hazırlanır ve kullanmadan önce bir aktivatör gerektirir (Marx ve ark. 1998).

PRGF, lökosit yokluğu ve platelet konsantrasyonunda orta düzeyde bir artış (başlangıç değerinin 2–3 katı) ile karakterizedir. Tek bir santrifüj basamağı geçiren antikoagülanlı kandan hazırlanır ve kullanılmadan önce bir aktivatör gerektirir (Anitua 2001).

PRF, kullanımdan önce bir aktivatör gerektirmeyen yoğun fibrin matrikste çoğu platelet ve lökositlerin varlığı ile karakterizedir. Tek bir santrifüj basamağı geçiren antikoagülan içermeyen kandan hazırlanır (Choukroun ve ark. 2001).

PRP jelleri gibi hidrojeller, fonksiyonel hidrofilik grupların hidrasyonu nedeniyle yüksek su içeriğine sahiptir. Yüksek su içeriği; 3 boyutlu kültür koşullarında besin ve atık ürünlerinin değişimini kolaylaştırır. PRP'nin likit olması nedeniyle cerrahi kullanımlardan önce sıvı preparatı pıhtılaştırmak gerekmektedir. Bunun için kullanılan sığır trombiniyle, bilinmeyen enfeksiyonların alıcılara taşınma ihtimali endişeleri artırmıştır (Hartshorne ve Gluckman 2016). Çok hassas ve en az

30 dak. gibi zaman alıcı bir işlem gerektirmesi nedeniyle klinik kullanımını yavaş yavaş kaybolmaktadır (Ehrenfest ve ark. 2013). 1999 yılında Anita ve ark. (Anitua 1999, Anitua 2001) pro-inflamatuar etkileri baskılamak için lökositlerin ortadan kaldırılması ile karakterize olan büyüme faktörlerinden zengin plazmayı (PRGF) geliştirmişlerdir (Anitua 1999).

2006 yılında Choukroun ve ark.; PRP hazırlama protokolünü basitleştirmek ve ksenofaktörleri (sığır trombini gibi) ortadan kaldırmak için yeni bir teknik geliştirmişlerdir. Bu, platelet açısından zengin fibrin (PRF) veya Choukroun'un PRF'si olarak adlandırılan "ikinci nesil platelet kaynaklı biyomateryaller" olarak adlandırılır. PRF; fibrin, platelet, büyüme faktörleri, lökositler ve kök hücreler de dahil olmak üzere çeşitli hücre türlerinden oluşan doğal (otolog) kompozit bir biyomateryaldir (Hartshorne ve Gluckman 2016).

In vivo doku iyileşmesi ve rejenerasyonu; iskele (fibrin matriksi), plateletler, büyüme faktörleri, lökositler ve kök hücreler arasındaki karşılıklı etkileşimi gerektirir. Bu temel elemanların hepsi PRF'nin aktif bileşenleridir ve doku rejenerasyonunun anahtar süreçlerine uygun şekilde dahil edildiğinde hücre proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu, ekstraselüller matriks sentezini (ECM), kemotaksisi ve anjiyogenezisi sağlar (M Dohan Ehrenfest ve ark. 2012). Choukroun; santrifüj hızını azaltarak lökosit bakımından zenginleştirilmiş ileri tip olan A-PRF'yi ve enjekte edilebilir PRF olan i-PRF'yi modifiye etmiştir (Ghanaati ve ark. 2014). Bariyer olarak, sıkıştırılıp membran olarak (A-PRF, L-PRF, CGF) ya da vakum tüpünde aspire edilip süzülerek (İ-PRF) kullanılabilir.

2006 yılında Sacci, özel bir programlanmış sıkma döngüsüne sahip bir santrifüj cihazı ile konsantre büyüme faktörlerini (CGF) geliştirmiştir. Farklı santrifüjleme hızıyla, PRF'ye kıyasla büyüme faktörlerinde belirgin olarak, daha yoğun, daha zengin ve daha büyük olan bir fibrin matriksin elde edilmesini sağlamıştır (Rodella ve ark. 2011).

Nekrotik pulpalı ve açık apeksli 4 vakada PRF iskelenin uygulanmasıyla 1, 3, 6, 12 ve 18. aylarda yapılan kontrollerde dişlerin asemptomatik olduğu, kök gelişiminin sağlandığı ve apikal kapanmanın gerçekleştiği görülmüştür (Bakhtiar ve ark. 2017).

CGF ve PRF iskelelerinde SCAP'ler kullanılarak yapılan bir çalışmada; hücre proliferasyonu, migrasyonu ve mineralizasyonu arasında belirgin bir farklılık bulunamamıştır. Hem PRF hem de CGF; SCAP'lerin proliferasyonunu, migrasyonunu ve diferansiyasyonunu destekler, rejeneratif endodontide CGF'nin de umut verici bir alternatif olduğu düşünülebilir (Hong ve ark. 2018).

Demineralize veya Doğal Dentin Matriks: Dentin ECM'si; demineralize pre dentin ve mineralize dentin olmak üzere iki bölümden oluşur. Pre dentinden; ilk ECM iskelesini oluşturmak için Tip 1 kollajen ve lösin bakımından zengin proteoglikanlar salgılanır ve etkileşime girer. Pre dentinde GAG'lar, amorf bir yapı sergileyen alanların düzenlenmesinde rol oynar. Hücre içi çözünebilir vitamin D bağımlı D9k ve D28k gibi kalbindin proteinler (Magloire ve ark. 1988), kalmodulin (Goldberg ve ark. 1987), anksinler (Goldberg ve ark. 1991), parvaalbumin (Davideau ve ark. 1993) ve nukleobindin (Somogyi ve ark. 2004) proteinlerini odontoblastların eksprese etmesiyle mineralize dentin matriksi oluşur.

Dentin ve kemik matriksi; %18 kollajen, %2 non-kollajen, %70 hidroksiapatit ve %2 su içeriğiyle birbirine benzer yapıdadır. Matriks yapıları TGF- β , BMPs, IGF, osteokalsin, osteopontin ve dentinfosfoprotein (DSP) için depo görevi görür (Um ve ark. 2017).

Yapılan in vivo çalışmalarda; demineralize dentin matriks (DDM)'in sert doku oluşumunda kalsifiye dentin matrikse göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Urist ve ark. 1968). İnsan DDM'si kollajen matriks ve büyüme faktörleri içeren, asitte en çok çözünebilir iskelelerden biridir. DDM iskeleler; nanopöröz, aselüller ve yeniden işlenebilir yapıdadır (Um ve ark. 2017). 0.6 N HCl ile dentin demineralizasyonu; mineral fazın çoğu ve immunojenik faktörlerin eliminasyonu, çoğunluğunu kollajen ve non-kollajen proteinlerin oluşturduğu bir yapı elde edilir (Kim ve ark. 2014). DDM ile dentinojenik evrelerle ilişkili biyoaktif moleküllerin salınımı gerçekleşir (Liu ve ark. 2016). Osteokondüktif, osteoindüktif ve biyouyumlu olduğu kanıtlanmıştır (Murata ve ark. 2012). Gözenekli dentin iskelelerin kullanımı hızlı mikrovasküler destek sağlamaktadır (Bormann ve ark. 2012).

1.1.3 Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri; birçok hücreyel olayı düzenleyen, polipeptid yapıda geniş bir molekül ailesini temsil eder (Smith ve ark. 2015). Büyüme faktörlerinin çoğunlukla hücre çoğalma hızının artırılması, farklılaşmasının indüklenmesi ve matriks sentezi için hücrelerin uyarılması gibi iyileşmede spesifik fonksiyonları ve hedef hücreleri vardır (Gurtner ve ark. 2008). Hücre reseptörüne bağlandıktan sonra hücreyel yanıtı tetiklerler.

Diş gelişimi sırasında dental papilladaki nöral krest kökenli hücreler farklılaşarak odontoblastları oluşturur. Hücre farklılaşmasının tamamlanması üzerine, odontoblastlar salgılama evrelerine başlar ve dişin ana yapısal bileşeni olan dentin üretilir (Roberts-Clark ve Smith 2000). Kemikte olduğu gibi, dentinde de kalsifiye doku oluşturabilmek için hidroksiapatit kristalleri ile mineralize olan organik bir şablon gerekir. Bu sentez işlemi sırasında, odontoblastlar sadece demineralize predentini oluşturmakla kalmaz, aynı zamanda ekstrasellüler alana çeşitli biyoaktif molekülleri de salgırlar. Mineralizasyon sırasında, bu biyoaktif faktörler dentin matriksine gömülür ve hareketsiz hale gelir. Bu aktif proteinler ve büyüme faktörlerinin yarı ömürleri kısadır. Biyoaktivitelerini proteolitik bozulmadan korumak ve ömrünü uzatmak için ECM bileşenlerine bağlanmaları gerekir. Büyüme faktörü bağlayıcı bileşikler arasında proteoglikanlar, esas olarak heparin sülfat spesifik bağlayıcı proteinler, glikoproteinler ve farklı kollajen türleri bulunur (Dreyfuss ve ark. 2009). Çürük oluşumunda, bakteriyel laktat dentinin organik bileşenini ekspoz ederek; immün cevabı ve hücreyel cevabı değiştirebilen biyoaktif molekülleri serbest bırakır. Dentine $\text{Ca}(\text{OH})_2$, MTA ve self etching dental adezivlerin uygulanmasıyla biyoaktif moleküllerin serbest hale geldiği bilinmektedir (Graham ve ark. 2006, Tomson ve ark. 2007, Ferracane ve ark. 2013). Organik asitler veya EDTA gibi şelasyon ajanları dentin demineralizasyonu için uygun ajanlardır. Çözünen dentin fraksiyonunda; vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF), transforme edici büyüme faktörü-beta 1 (TGF- β 1), kemik morfogenetik proteini-2 (BMP-2), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), plasenta büyüme faktörü ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi biyoaktif moleküller bulunur (Finkelman ve

ark. 1990). Bu moleküller çok düşük konsantrasyonlarda; immün cevap, anjiyogenez, migrasyon, proliferasyon, diferansiyasyon ve mineralizasyon gibi hücresel yanıtı uyarır (Barrientos ve ark. 2008). Rejeneratif endodontik prosedürler tam olarak bu hücresel reaksiyonlara dayanmaktadır.

Dentin matriksinde bulunan rejenerasyon ve onarımda önemli rol oynadığı bilinen anahtar büyüme faktörleri tablo 1.1’de şematize edilmiştir (Smith ve ark. 2016).



Tablo 1.1 Dentin matriksinde bulunan rejenerasyon ve onarımda önemli rol oynadığı bilinen anahtar büyüme faktörleri

Dentin matriksinde bulunan büyüme faktörleri	Rejeneratif Fonksiyonları
Vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF)	Kan damarı oluşumunu teşvik eden güçlü anjiyogenik faktör
Transforme edici büyüme faktörü-beta 1 (TGF-β1)	Primer odontoblastik farklılaşma ve tersiyer dentinogenezisde rol oynar.
Transforme edici büyüme faktörü-beta 2(TGF-β2)	DPSC'lerin mineralizasyon fenotipine farklılaşmasını teşvik eder.
Transforme edici büyüme faktörü-beta 3 (TGF-β3)	Odontoblastik farklılaşmayı uyarır.
Kemik morfogenetik proteini-2 (BMP-2)	In vivo ve in vitro modellerde odontoblastik farklılaşmayı teşvik eder. DSPP'i (dentin sialofosfoprotein) indükler ve alkalen fosfataz aktivitesinin artmasını sağlar.
Kemik morfogenetik proteini-4 (BMP-4)	Odontoblastik farklılaşmanın artmasını sağlar.
Kemik morfogenetik proteini-7 (BMP-7)	DPSCs'de mineralize edici fenotipi teşvik eder
İnsülin büyüme faktörü-1 (IGF-1)	DPSCs'lerin ve SCAP'ın çoğalmasını ve farklılaşmasını mineralleştirici fenotip şekline getirir
Hepatosit büyüme faktörü	Mezenkimal kök hücrelerin canlılığını, çoğalmasını ve migrasyonunu teşvik eder.
Adrenomedullin	P38 sinyalini uyararak odontoblastik farklılaşmayı sağlar.
Fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2)	Kök hücre kemotaksisi, anjiogenezi teşvik eder.
Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)	Anjiogenezi ve mezenkimal kök hücrelerin kemotaksisini, odontoblastik farklılaşma sürecini düzenler ve diğer büyüme faktörlerine sinerjik olarak etki eder.
Epidermal büyüme faktörü (EGF)	DPSCs ve SCAP'nin nörolojik farklılaşmasını artırır.
Plasenta büyüme faktörü	Anjiogenezi ve mezenkimal kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasını sağlar.
Beyin kaynaklı nörotrofik faktör	Nöronal büyümeyi ve aksonal hedeflemeyi teşvik eder.
Glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör	In vivo sinir rejenerasyonunu ve pulpa hücrelerinin canlılık/proliferasyonunu, odontojenik farklılaşma boyunca ekspresyonunu sağlar.
Büyüme/Farklılaşma Faktör 15	Yaralanma sonrası aksonal rejenerasyonu ve fonksiyonu destekler ve nöronal onarımda önemli rol oynar.

1.1.3.1 Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factors, VEGF)

VEGF ailesi; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, plasental büyüme faktörü (PIGF), VEGF-E, VEGF-F olmak üzere 7 üyeden oluşur (Ferrara ve ark. 2003). Glikoprotein yapısındadırlar ve biyolojik etkilerini VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, nöropilin (NP-1 ve NP-2) reseptörleri üzerinden gerçekleştirirler.

İlk defa tümör hücrelerinde Senger ve ark. (1983), tarafından keşfedilen ve “vasküler permeabilite faktörü” olarak adlandırılan VEGF-A en iyi tanımlanan formudur. İnsan vücudunda; makrofajlar, aktiflenmiş T-lenfositler, endotel hücreleri gibi birçok hücrede sentezlenebilmektedir. Hipoksi, onkogenler, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interlökin-8 (IL-8), interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) gibi sitokinlerin, bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF), trombosit büyüme faktörü (PDGF), TGF- β , endotelial büyüme faktörü (EGF) ve IGF-1 gibi büyüme faktörlerinin VEGF-A salınımı arttırdığı bilinmektedir. Fizyolojik anjiogenezin yanısıra enflamasyon, ateroskleroz ve tümör oluşumu gibi patolojik anjiogenezde de VEGF-A'nın bilinen en güçlü pro-anjiogenik faktör olduğu belirtilmektedir (Vural). Bu etkisini damar endotel hücrelerindeki; VEGFR-1, VEGFR-2 ile nöronlarda bulunan NP-1 ve NP-2'e bağlanarak ve bu endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu artırarak sağlar.

VEGF-B, kalp-iskelet kası ve kahverengi yağ dokusunda bulunur. Koroner anjiogenezde rolü olduğu düşünülen VEGF-B'nin mitojenik aktivitesi VEGF-A'dan düşüktür (Bellomo ve ark. 2000). VEGF-C ise bağırsak, tiroid bezi, over, kalp ve plasenta dokusunda bulunur ve lenfanjiogenezde önemli rolü olduğu bilinmektedir. %48 oranında VEGF-C ile benzerlik gösteren VEGF-D'de lenfanjiogenez ve hücre proliferasyonunda rol alır (Lohela ve ark. 2008). Akciğer ve kalp dokusunda üretilen PIGF, ilk olarak plasental dokudan izole edilmiştir (Velegakis ve ark. 2017).

Anjiogenik büyüme faktörleri; dentin matriksinde de bulunmuştur. Primer dentinogeneziste; odontoblastların beslenmesi için pulpanın odontojenik bölgesinde zengin bir vasküler ağ gelişir. Pulpal hasarın geliştiği durumlarda ise lokal anjiogenezis görülmektedir. Çürük nedeniyle ekspoz olan pulpa dokusunda;

subodontoblastik alanda gelişen kapiller pleksus ve büyüme faktörlerinin salınımı ile reaksiyoner ya da reperatif dentin oluşumu sağlanır (Roberts-Clark ve Smith 2000).

Botero ve ark. (2003), makrofajlar ve odontoblast benzeri hücrelerde bakteriyel lipopolisakkaritlerin VEGF salınımını artırdığını tespit etmişlerdir. DPSC ve VEGF yüklü mikroküreler, apikal foramenler yoluyla kök lümenine enjekte edilip farelere subkutan yerleştirildiğinde; bu mikrokürelerin kan damarlarının ve pulpa benzeri dokuların oluşumunu teşvik ettiği görülmüştür (Li ve ark. 2018). Biyobozunur fiberlere VEGF yüklenerek, kontrollü salınımla kök hücrelere 25 gün boyunca yeterli kan desteğinin sağlandığı belirtilmiştir (Yadlapati ve ark. 2017). Galler ve ark. (2015); farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde dentinden VEGF salınımının TGF- β 1'e göre oldukça düşük olduğunu rapor etmişlerdir (Galler ve ark. 2015). %17 EDTA, %1 fitik asit, %10 SA, %37 fosforik asitin irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldığı bir çalışmada büyüme faktörleri salınımı araştırılmıştır. %37 fosforik asit uygulanan dentin disklerinde; VEGF salınımının diğer solüsyonlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Atesci ve ark. 2020).

1.1.3.2 Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β)

TGF- β 'lar; polipeptit yapıda ve birçok hücreyel olayda önemli rol oynayan büyüme faktörleri süper ailesinin üyesidir. TGF- β ailesi; TGF- β izoformları, kemik morfojenik proteinleri (BMP), anti-müllerian hormon, miyostatin, aktivinler ve inhibitörlerden oluşur (PIEK ve ark. 1999). TGF- β öncü propeptit olarak sentezlenir ve latency-associated peptide (LAP) ile etkileşime girerek latent TGF- β kompleksini oluşturur. Makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler ve plateletler tarafından üretilirler. Serin-treonin kinaz enzimleri, tip I ve tip II reseptörler üzerinden aktivite gösterirler. TGF- β aktivasyonu; pH, reaktif oksijen türleri, trombospondin ve integrinler tarafından indüklenir. Aynı zamanda, plazmin ve özellikle matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) ve MMP-9 gibi MMP'ler latent TGF- β 'yı aktive eder (Yu ve Stamenkovic 2000). Hücrelerin proliferasyonu, apoptozisi, diferansiyasyonu ve migrasyonu gibi çeşitli hücreyel fonksiyonlar TGF- β 'lar tarafından düzenlenir.

Kanser, fibrozis, kardiyovasküler ve otoimmün hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol aldığı bilinmektedir.

TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 izoformları oldukça birbirine benzerler, birçok mezenşimal hücrenin büyümesini uyarmasına rağmen birçok hücre tipinde proliferasyonunu inhibe ederler. TGF- β 'nın, hem nötrofiller hem de T lenfositleri için kemotaktik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Brennan ve ark. 1990). Yaralanma veya iltihaplanma bölgesine gelen lökositler; TGF- β da dahil olmak üzere çok sayıda sitokin konsantrasyonlarını düzenlerler (Brennan ve ark. 1990). TGF- β hem otokrin hem de parakrin etkiye sahiptir. Enflamasyon ve hücre aracılı immün reaksiyonlarda TGF- β 1 ve TGF- β 2 sentezi görülmektedir (Yamamura ve ark. 1991).

Finkelman ve ark. (1990), EDTA ile çözünmüş dentinde TGF- β ve büyüme faktörlerini tespit etmişlerdir; fakat TGF- β izoformlarını ayırt edememişlerdir. Dentinin çürüğe yanıt olarak onarım sürecinde büyüme faktörlerinin salınımını uyardığını ileri sürmüşlerdir. Bundan 4 yıl sonra yapılan bir çalışmada; TGF- β izoformlarının ayrımı yapılmıştır. Odontoblastlarda TGF- β 1 ve TGF- β 3 seviyelerinin odontoblast farklılaşması sırasında yüksekken, TGF- β 2 seviyesinin preodontoblastlarda arttığı ve odontoblast farklılaşmasında azaldığı görülmüştür (Bepue-Kirn 1994).

TGF- β 1, odontoblastlarda non-kollajen yapıdaki dentin sialofosfoprotein (DSPP) ve dentin matriks proteini-1 (DMP-1)'in salgılanmasında önemli role sahiptir (Unterbrink ve ark. 2002). Kültüre edilmiş fare dental pulpalarında odontoblastların fonksiyonel farklılaşmalarını başlattıkları tespit edilmiştir (Bkgue-Kirn ve ark. 1992).

Niwa ve ark. (2018), pulpada latent TGF- β 1'i MMP11'in, odontoblastlarda ise MMP2'inin aktive ettiğini belirtmişlerdir. Aktive olan TGF- β 1'lerin ise odontoblast farklılaşmasını teşvik ederek DSPP miktarını artırdığı görülmüştür.

Cassidy ve ark. (1997), ise TGF- β 1'in insan dentininde yüksek oranda saptanan başlıca izoform olduğunu ve olgun dentin matriksinde salgılanma oranının azaldığını belirtmişlerdir. TGF- β 1'in odontoblast farklılaşmasında FGF ve IGF ile sinerjistik etkileşiminin olabileceği düşünülmektedir (Martín ve ark. 1998).

Dentinde durgun halde bulunan büyüme faktörlerinin çeşitli irrigasyon solüsyonlarının etkisiyle salınımının mümkün olduğu bilinmektedir. Dentine bağlı

sinyal moleküllerinin salınımını sağlayarak, dentinden biyoaktif bir matriks olarak yararlanmak rejeneratif prosedürlerin başarı şansını artırabilir (Galler ve ark. 2015).

Smear tabakasını kaldırma özellikleri nedeniyle kanal tedavisinin final aşamasında kullanılan EDTA ve SA'nın farklı konsantrasyon ve pH'larda TGF- β 1 salınımı gerçekleştirdiği bilinmektedir. Galler ve ark. (2015), %10 EDTA'nın 20 dak. uygulanmasının en yüksek miktarda TGF- β 1 salınımını gerçekleştirdiğini belirtmişlerdir. Tüm konsantrasyonlarda SA'nın EDTA'ya kıyasla önemli ölçüde daha düşük TGF- β 1 salınımını sağladığını rapor etmişlerdir. Bu çalışma sonucundan farklı olarak Chae ve ark. (2018) ise; %10 SA irrigasyonu yapılan kök segmentlerinde, %17 EDTA kullanılan kök segmentlerine göre daha yüksek oranda TGF- β 1 salınımı olduğunu tespit etmişlerdir. Bunu SA'nın daha fazla LAP denatüre ederek daha çok latent TGF- β 1'i aktive edebilmesiyle açıklamışlardır. Ayrıca; SA'nın makrofajlara daha az toksik etki yarattığı (Amaral ve ark. 2007), fibroblastlara EDTA'dan daha biyoyumlu olduğunu rapor etmişlerdir (Malheiros ve ark. 2005).

2020 yılında yapılan bir çalışmada; dentin disklerine 30 sn. süreyle %37 fosforik asit uygulanmasından sonra mezenşimal kök hücreleri ekilmiştir. 3 günlük inkübasyon sonrasında yapılan değerlendirmede, TGF- β 1 salınımı için etkili bir ajan olduğu belirtilmiştir (Atesci ve ark. 2020).

1.1.3.3 Kemik Morfogenetik Proteinler (Bone Morphogenetic Protein, BMP)

BMP'ler, TGF- β süper ailesinin en büyük alt grubunu oluştururlar. BMP ailesi, amino asit dizilimlerine göre dört alt gruba ayrılabilir. Bugüne kadar insanda yaklaşık 20 farklı BMP tanımlanmıştır. Hepsinin osteojenik özelliği yoktur. Örneğin BMP-1, in vivo kıkırdak oluşumunu uyarabilen bir metalloproteazdır ve TGF- β süper ailesine ait değildir (Kessler ve ark. 1996). BMP'ler, yaklaşık 120 aminoasitten oluşan dimerik moleküllerdir ve hücre içinde büyük ve aktif olmayan öncü protein olarak sentezlenirler. Osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar, kondrositler, endotel hücreleri ve plateletler tarafından sentezlenir. Bu proteinlerin çeşitli dokularda; hücre

proliferasyonu, diferansiyasyonu, apoptozisi, kemotaksisi, doku onarımı, embriyonik gelişimi, organogenezisi, diş morfogenezisi, glikoz homeostazı ve demir homeostazının sağlanmasında önemli rolleri vardır. Mezenşimal kök hücrelerin, osteoblastik farklılaşmasını sağlayarak kıkırdak ve kemik gibi sert doku oluşumunu uyarırlar.

BMP'lerin düzenleyici etkileri, hedef hücre tipine, farklılaşma evresine, lokal BMP konsantrasyonuna ve diğer salgılanan proteinlerle etkileşimlerine bağlıdır. BMP-2, BMP-4, BMP-7 ve BMP-11 kemik oluşumunu ve BMP-8, BMP-9 kıkırdak oluşumunu indükler. BMP-3, bazı osteojenik BMP'lerin indükleme yeteneğini antagonize eder. Pluripotent kemik iliği mezenşimal kök hücrelerinin yanı sıra adipositler, miyoblastlar, fibroblastlar ve sinir hücrelerinin de BMP'lerle aktive olabildiği bilinmektedir (Chen ve ark. 1998).

BMP'ler; doku ve organların gelişimi sırasında epitel-mezenşim etkileşiminde etkili biyoaktif moleküller olarak bilinmektedir. BMP'nin biyoaktif etkisi; iskelet ve kıkırdak doku oluşumu sırasında olgunlaşmamış hücreler üzerinedir. Olgun osteoblastlar üzerinde etkisini kaybetmektedir (Groeneveld ve Burger 2000). Vücutta BMP'ler kırık, spinal füzyon gibi komplike durumlarda iyileşmeyi sağlamada en etkili büyüme faktörleridir (Carreira ve ark. 2014).

Diş hekimliğinde, BMP'ler periodontal rejenerasyon, kemik iyileşmesi, implant osteointegrasyonunun hızlandırılması, ortodontik amaçlı oral cerrahi, kemik patolojisi, distraksiyon osteogenezisinde (Hong ve ark. 2013) kullanılmaktadır ve endodontik tedavide etkili olduğu düşünülmektedir (Carreira ve ark. 2014).

Rekombinant BMP-2, BMP-4 ve BMP-7; yetişkin dermis, kas, kemik, dental pulpa veya periodonsiyuma doğrudan uygulandığında osteojenik, dentinojenik ve sementojenik etkilidir. Fare embriyolarının dental papilla organ kültüründe, BMP-2 ve BMP-4'ün odontoblast farklılaşmasını uyardığını belirtilmiştir. İn vitro, rekombinant insan BMP-2'nin osteokalsin sentezini, BMP-4'ün ise kollajen- α 1 sentezini artırdığı bulunmuştur. Hem BMP-2 hem de BMP-4, ALP aktivitesini uyarılmaktadır. Bu bulgular, BMP'ler için pulpa hücrelerinin preodontoblastlara farklılaşması üzerinde düzenleyici bir rolleri olduğunu ortaya koymaktadır (Nakashima 1994).

Osteojenik protein-1 olarak da bilinen BMP-7'nin ampute dental pulpalarda dentinojenik etkileri tespit edilmiştir (Jepsen ve ark. 1997, Rutherford ve Gu 2000). Rat molarlarında BMP-7 kullanılarak dentinogenezisin uyarılmasındaki etkinliği incelendiğinde; BMP-7 ile tedavi edilen örneklerin koronal pulpasında heterojen mineralizasyon görülürken, radiküler pulpada homojen mineralizasyon saptanmıştır. Bu çalışma; pulpanın koronal ve radiküler kısımlarının biyolojik farklılıklar gösterdiği ve BMP-7 gibi biyoaktif moleküllerin endodontik tedavide rejenerasyon potansiyelinde yeri olduğunu göstermektedir (Six ve ark. 2002).

Başka bir çalışmada; adenovirüs aracılı rekombinant BMP-7 uygulanan pulpalarda; pulpa hücrelerinin proliferasyon ve diferansiyasyonunun düzenlenmesindeki rolü incelenmiştir. Sonuçlar; BMP-7'nin odontoblast benzeri farklılaşmayı indüklediğini ve kültürlenmiş insan dental pulpa hücrelerinde dentin benzeri kalsifiye doku oluşumunu uyardığını göstermiştir. Artan ALP aktivitesinin farklılaşmamış mezenşimal hücrelerde daha yüksek olduğu görülmüştür (Lin ve ark. 2007). Kök gelişimi sırasında BMP-2, BMP-3 ve BMP-7'nin BSP üretimini düzenlediği belirtilmiştir (Yamashiro ve ark. 2003).

Diğer büyüme faktörleri gibi BMP'lerde dentinde irrigasyon solüsyonlarının uygulanmasıyla serbest hale gelebilmektedir. Odontoblastik farklılaşma ve DSP indüksiyonunda önemli bir rol oynayan BMP-2'nin salınmasında %1'lik fitik asitin etkili bir ajan olduğu bildirilmiştir (Atesci ve ark. 2020).

1.1.3.4 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (Insulin-like Growth Factors, IGF)

Tek zincirli polipeptit yapısında olan insülin benzeri büyüme faktörü, somatomedinler olarak adlandırılırlar. IGF-1 ve IGF-2 olmak üzere ikiye ayrılırlar. Aminoasit dizilimleri, insülin ve proinsülinle benzerlik gösterir. IGF1R ve IGF2R hücre yüzey reseptörleri ve IGFBP-1-6 olarak adlandırılan altı adet yüksek afiniteli IGF bağlayıcı proteini vardır (Al-Khafaji ve ark. 2018). IGF-1 parakrin ve/veya otokrin etki gösterir. Büyüme hormonu bağımlı IGF-1, somatomedin C olarak tanımlanır. IGF-2 ise büyüme hormonundan bağımsızdır. Bununla birlikte, tükürükte

önemli bağlanma proteinleri yoktur ve tükürük IGF-1 seviyeleri plazma büyüme hormonu seviyeleri ile ilişkilidir (Joseph ve ark. 1993). Serebellar nöronlar, feokromositoma hücreleri, hemopoietik sistem hücreleri gibi birçok hücresel sistemlerde antiapoptotik etkisi vardır (Muta ve Krantz 1993). Kemik dokusunda yüksek oranda bulunur. Kemik dokusunun gelişmesinde prekürsör hücrelerden osteoblast, osteoklast farklılaşmasını ve apozisyon-rezorpsiyon dengesini düzenlerler. IGF-1'in kemikten elde edilen hücrelerde ALP aktivitesini artırdığı belirtilmiştir (Chenu ve ark. 1990).

Diş gelişimi sırasında; mineye özgü amelogenin ve ameloblastin genlerini etkileyerek minenin mineralizasyonunu indüklemektedir (Takahashi ve ark. 1998). İnsülin, IGF-1 ve IGF-2'nin biyolojik etkileri birbirine benzerdir ve dental pulpa hücrelerinin büyümesinde ve farklılaşmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (LeROITH ve ark. 1993). Rat molarlarında; IGF-1'in pulpa kaplama materyali olarak dentinogenezdeki rolü araştırılmıştır. IGF-1 ve PDGF'nin $Ca(OH)_2$ ile kombinasyonunun köpeklerde apikal kemik rejenerasyonunu desteklediği bildirilmiştir (Kim ve ark. 2001). İn vitro ortamda PDGFBB/IGF-1 ile dental pulpa hücrelerinde mitojenik aktivite artışı görülmüştür (Denholm ve ark. 1998).

Dentin matriksinde durgun halde bulunan IGF-1'in çürük gibi pulpa hasarında pulpaya salınabildiği ve onarım süreçlerini uyarabildiği bildirilmiştir (Finkelman ve ark. 1990, Mitsiadis ve Rahiotis 2004). Odontoblastlar farklılaştıklarında, diğer büyüme faktörleri BMPs, IGF-1 ve 2, FGF-2, anjiogenik faktörler gibi TGF- β 'yı sentez ve salgırlar. Bu moleküller serbest hale gelip pulpaya difüze olduğunda onarım sürecine katılırlar (Smith ve ark. 2008). IGF-1 seviyelerinin, kök gelişimini tamamlamamış dişlerin pulpasında daha düşük oranda olduğu belirtilmiştir. Bu durum; lokal olarak üretilen IGF-1'in kök gelişimi sırasında hızla pulpa hücrelerindeki reseptörlere bağlanmasıyla açıklanabilir. Aynı zamanda bu durum, IGF-1'in mineralizasyon ve hücre farklılaşmasında etkin rol oynadığını göstermektedir (Caviedes-Bucheli ve ark. 2009).

1.2 İrrigasyon Solüsyonları

Endodontik tedavinin başarısı; kök kanal sistemindeki mikroorganizmaların, biyofilm tabakasının, debrisin, vital ve nekrotik pulpal dokuların temizlenmesine ve sekonder enfeksiyonların önlenmesine bağlıdır. Bu amaçla; kök kanallarının el ve döner ege sistemleriyle preparasyonu ile birlikte irrigasyon işlemi de yapılmaktadır. Preparasyonun amacı; mekanik temizlikle birlikte irrigasyon solüsyonlarının etkinliğini artırmak ve kök kanal dolgusunun uygulanmasını kolaylaştırmaktır. Sadece eğelerle yapılan mekanik preparasyonla kök kanal duvarlarının tamamına ulaşamadığı bilinmektedir (Peters ve ark. 2003). Bu durum bize; kimyasal dezenfeksiyonun önemini göstermektedir (Haapasalo ve ark. 2010). Preparasyon sırasında ve sonrasında yapılan irrigasyon işlemiyle; organik ve inorganik dokuların çözünmesi, antimikrobiyal etkinin sağlanması ve apikal alandaki debrisin periapikal alana taşmadan temizlenmesine çalışılmaktadır. Günümüzde tüm bu pozitif etkileri sağlayan tek bir solüsyon yoktur. Bu nedenle bir ya da daha fazla solüsyonun kombinasyonu yapılmaktadır. Kimyasal dezenfeksiyon için bakterisidal ve bakteriyostatik etkilerinden yararlanmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda NaOCl, EDTA, asitler (SA, tannik asit, sülfürik asit, poliakrilik asit, fosforik asit), oksidatif maddeler (H₂O₂), katyonik özellikte olan klorheksidin ve saline gibi birçok solüsyon kullanılmaktadır.

1.2.1 Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

NaOCl; en yaygın olarak kullanılan irrigasyon solüsyonudur. NaOCl; suda Na⁺ ve OCl⁻ (hipoklorit iyonu) iyonize olur ve hipoklorik asit (HOCl) ile bir denge kurar (McDonnell ve Russell 1999). HOCl⁻ ve OCl⁻ aminoasitlerin degradasyonuna (parçalanmasına) ve hidrolizine neden olur. Proteinlerin amino gruplarındaki H⁺, Cl⁻ ile değiştirilir ve kloramin bileşikleri oluşur. Güçlü bir antioksidan olan klorin bakteriyel enzimlerdeki sülfidril gruplarını geri dönüşümsüz okside ederek antimikrobiyal etki sağlar (Estrela ve ark. 2002). NaOCl güçlü bir bazdır (pH>11) ve yüksek pH'sı ile hücrelerin sitoplazmik membran bütünlüğünde geri dönüşümsüz

enzimatik inhibisyon oluşturur. Mikrobiyal hücrenin vital fonksiyonlarını bozar ve hücre ölümüne neden olur.

Endodontide NaOCl irrigasyon solüsyonu olarak; %0.5 ile %6 arasındaki konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal etkisinin yanında, nekrotik ve vital pulpa kalıntıları ve dentinin organik bileşeni olan kollajeni de çözme özelliğine sahip etkili bir ajandır (Haapasalo ve ark. 2010). %0.5 NaOCl'nin, %5.25 NaOCl ile karşılaştırıldığında aynı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu, ancak doku çözme yeteneğinin daha az olduğu belirtilmiştir (Kandaswamy ve Venkateshbabu 2010). *E. faecalis*'e sadece %5.25 NaOCl ile uzun süreli irrigasyonun etki edebileceği bildirilmiştir (Retamozo ve ark. 2010). Siqueira ve ark. (1998) siyah pigmente anaerobik bakteriler ve *E. Faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*'u içeren fakültatif bakteri grubunda %4 NaOCl ve %2.5 NaOCl'nin antibakteriyel etkinliğinin %0.5 NaOCl, CHX, EDTA ve SA'dan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ercan ve ark. (2004), nekrotik pulpada ve periapikal lezyonlu dişlerde; %2 CHX ve %5.25 NaOCl'nin antibakteriyel etkinliklerinin yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

NaOCl'in etkinliği; çözeltinin konsantrasyonuna, hacmine, doku ile temas süresine, uygulama sıcaklığına ve irrigasyon aktivasyonu yapılmasına bağlı olarak değişmektedir. Düşük konsantrasyonlu çözeltilerin önceden ısıtılmasının, kısa süreli uygulamalarda çözeltinin stabilitesini etkilemeden doku çözme kapasitelerini artırdığı belirtilmiştir (Stojicic ve ark. 2010). NaOCl'in, güçlü proteolitik etkisiyle organik dokuyu çözen en etkili ajan olduğu ve yüksek konsantrasyonlarda daha hızlı doku çözülmesi sağladığı rapor edilmiştir (Clarkson ve ark. 2006). Çözeltinin ısının artırılmasıyla nekrotik pulpada bulunan özellikle *E. faecalis* hücrelerine karşı etkinliğinin arttığı görülmüştür, fakat düşük bir sıcaklıkta aynı etkinliğe sahip yüksek konsantrasyonlu çözeltilerin sistemik toksitesinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Sirtes ve ark. 2005). Clegg ve ark., *E. Faecalis*'i içeren biyofilm tabakasına NaOCl (%6, %3 ve %1), %2 CHX ve BioPure MTAD etkinliklerini incelemişler ve %6 NaOCl'nin hem bakteri eliminasyonu sağlayabilecek hem de biyofilmi fiziksel olarak kaldırabilecek irrigasyon solüsyonu olduğunu bildirmişlerdir (Clegg ve ark. 2006).

NaOCl, sekonder veya inatçı periradiküler enfeksiyonlu kök kanal tedavilerinde daha yüksek oranda tespit edilen *Candida albicans*'a karşı antifungal

etkilidir. NaOCl, H₂O₂ ve CHX'in, önemli ölçüde seyreltilmiş olsa bile *C. albicans'a* karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Ferguson ve ark. 2002). Şen ve ark. (1999); %1 NaOCl, %5 NaOCl ve %0.12 CHX'in antifungal özelliklerini araştırmışlar. Smear tabakasının varlığında 1, 5 ve 30 dk.lık sürelerde antifungal aktivitenin gerçekleşmediğini belirtmişlerdir. %5 NaOCl'in sadece 10 örneğin üçünde 30 dk.da etki etmeye başladığını tüm örneklerin tamamında ise 60 dk.da etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. *C. albicans'in* smear tabakasının varlığında daha dirençli olduğunu rapor etmişlerdir.

Dentinin el ve döner eğelerle preparasyonu sırasında; bakteri ve yan ürünlerini de içerebilen organik ve inorganik doku artıklarının oluşturduğu smear tabakası adı verilen bir tabaka görülür. Yaklaşık olarak 2-5µm kalınlığında olduğu ve dentin tübüllerine kadar uzandığı düşünülmektedir (Violich ve Chandler 2010). Sadece NaOCl irrigasyonu ile smear tabakasını tamamen kaldırmak mümkün değildir. Kök kanal duvarlarından smear tabakasının etkin bir şekilde uzaklaştırılabilmesi için; NaOCl irrigasyonuna ek olarak şelasyon ajanları ile birlikte kullanımının gerekli olduğu bilinmektedir (Yamada ve ark. 1983, Liolios ve ark. 1997).

CHX ve NaOCl karıştırıldığında asit-baz reaksiyonuna bağlı olarak kırmızı renkte para-kloranilin (PCA) adı verilen bir çökelti oluşmaktadır. PCA; toksiktir, methemoglobine ve siyanoza yol açmaktadır. Bu çökelti; kuronda renklenmeye neden olmanın yanı sıra dentin tübüllerini de tıkar (Rossi-Fedele ve ark. 2012). CHX ve NaOCl birlikte kullanımı sırasında solüsyon aralarında distile su ya da salin solüsyonu kullanılmalıdır.

NaOCl'in, kollajeni çözmesi nedeniyle dentin tabakasında dejenerasyon görülür. Ayrıca, NaOCl'in irrigasyonu sırasında oluşan oksijen tabakasının; rezin polimerizasyonunu önemli ölçüde azalttığı ve marjinal adaptasyonu olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (Frankenberger ve ark. 2000). Erdemir ve ark. (2004), NaOCl'nin kök kanal dentinine bağlanma kuvvetini önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir. Gutta-perka çözücülerinin, adeziv simanların kök kanal dentinine bağlanma güçleri üzerine olumsuz bir etkiye sahip olduğunda rapor etmişlerdir. %3'ten yüksek NaOCl konsantrasyonlarının, fizyolojik saline ile kıyaslandığında

dentinin elastik modülünü ve fleksural dayanıklılığını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Sim ve ark. 2001).

Güçlü antimikrobiyal ve doku çözme özelliklerine ek olarak, NaOCl pulpa amputasyonu sonrasında kanama kontrolünü sağlamada başarılı sonuçlar vermektedir (Mohammadi 2008). Hafez ve ark. (2002), %3 NaOCl'nin bir kanama kontrol ajanı olarak biyouyumlu olduğunu belirtmiştir. Bu konsantrasyonla tedavi edilen pulpalarda, 7- 27 gün sonra pulpal nekroz belirtisi görülmediği rapor edilmiştir.

NaOCl'in yüksek konsantrasyonlarda toksikitesinin de arttığı bilinmektedir. Mukoza ile temasında ya da apikal alana irrigasyon sırasında taşmasında doza bağımlı olarak dokuda ağrı, kanama, ülserasyon, ödem, nekroz, sekonder enfeksiyon ve parestezi gelişebilir (Hauman ve Love 2003).

Bir in vitro çalışma, DPSC canlılığını 5, 10 ve 15 dk boyunca %0.04, %0.08, %0.16 ve %0.33 NaOCl'le irrigasyondan sonra incelemiştir. Sonuçlar, NaOCl konsantrasyonunun azaltılmasıyla yaşayabilir hücre sayısının arttığını göstermiştir. Ayrıca, %0.04 NaOCl'in, tüm zaman noktalarında hücrelerin canlılığını koruduğu tespit edilmiştir (Essner ve ark. 2011). Yapılan bir başka çalışmada; yüksek konsantrasyonlarda NaOCl'in kök hücrelerin canlılığı üzerine olumsuz etkileri mevcutken, bu etkinin %1.5 NaOCl ve ardından %17 EDTA kullanımı ile önlenebildiği rapor edilmiştir (Martin ve ark. 2014).

1.2.2 Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA)

$[(HO_2CCH_2)_2NCH_2CH_2N (CH_2CO_2H)_2]$ formülüyle belirtilen EDTA, poliaminokarboksilik asit yapısındadır, renksizdir ve suda çözünebilme özelliğine sahiptir. EDTA, özellikle disodyum EDTA ve kalsiyum disodyum EDTA olarak üretilmektedir (Mohammadi ve ark. 2013).

1957 yılında Nygaard-Ostby (1957), %15'lik EDTA'nın endodontik tedavide kullanımını önermiştir. Dentin tabakasının mineral içeriği çoğunlukla suda çözünebilir kalsiyum (Ca^{+2}) ve fosfattan (PO_4^{-3}) oluşur. Ortama disodyum EDTA

eklendiğinde Ca^{+2} iyonları çözünür ve dentinde demineralizasyon görülür. EDTA, Ca iyonlarıyla stabil bir yapı oluşturmaktadır. EDTA'nın 5 dk. içinde 20-30 µm derinliğe kadar dentini dekalsifiye ettiği bildirilmiştir (Frithjof ve Östby 1963). Zamana bağlı olarak demineralize olan dentin tabakası artsa da 50 µm derinliği geçmediği; EDTA'nın demineralizasyon etkisini kendi kendisinin sınırladığı belirtilmiştir. Bunun demineralizasyon sırasındaki zamana bağlı pH değişimiyle gerçekleştiği düşünülmektedir (Ostby 1957). EDTA'nın maksimum 28 µm derinlikte dekalsifikasyon oluşturduğunu bildirilmiştir (Patterson 1963).

EDTA antibakteriyel etkisini, hücreyi öldürmeden bakteriyel hücre zarındaki katyonları bağlamasıyla sağlar. EDTA'nın antibakteriyel etkinliğinin konsantrasyonu ve pH'sına bağlı olduğu bildirilmiştir. Na-EDTA'nın antibakteriyel etkinliği metal iyonlarıyla bağlanması tamamlanana kadar devam etmektedir (Kotula ve Bordácová 1969). *S. aureus*, *E. Faecalis* ve *C. Albicans* türlerine %7 maleik asit ve %17 EDTA'nın etkinliğinin eş değeri olduğu bulunmuştur (Ballal ve ark. 2011). %17 EDTA ve %10 SA ile 5 dk. boyunca irrigasyon yapmanın biyofilm tabakası üzerine %1 NaOCl kadar etkisinin olmadığı belirtilmiştir (Ordinola-Zapata ve ark. 2012).

%0.5'in üzerindeki EDTA konsantrasyonlarının tüm görünür metabolik aktiviteyi tamamen inhibe ettiği fakat kollajeni parçalayamadığı bildirilmiştir (Lindemann ve ark. 1985). EDTA solüsyonunun; periapikal alana ekstrüzyonu irreversible kemik dekalsifikasyonu ile birlikte; özellikle periapikal lezyonlu kök kanallarında vasoaktif intestinal peptid (VIP), substans P, CGRP, somatostatin ve makrofaj etkileşimini değiştirebileceği belirtilmiştir (Segura ve ark. 1996).

NaOCl irrigasyonunun sonrasında uygulanan %17 EDTA irrigasyonunun smear tabakasını etkin bir şekilde kaldırdığı bilinmektedir. 10 ml EDTA'nın 1 dk. süreyle uygulanmasının smear tabakasını kaldırmak için yeterli olduğu; bu sürenin 10 dk.ya kadar uzaması durumunda peritübüler ve intratübüler dentin erozyonunun görüldüğü belirtilmiştir (Calt ve Serper 2002). Bu erozyonun EDTA'nın tek başına kullanılmasından çok NaOCl ve EDTA'nın birlikte kullanıldığı uygulamalarda gerçekleştiği tespit edilmiştir (Niu ve ark. 2002).

Pawlicka (1982); şelatörlerin kök dentin mikrosertliğini azaltabileceğini, en fazla değişimin kök kanal lümenine yakın olan dentin tabakasında gerçekleştiğini

bildirmiştir. %17 EDTA'nın kök dentinin mikro sertliğini azalttığı rapor edilmiştir (Saha ve ark. 2017). Ari ve ark. (2004), irrigasyon solüsyonu olarak %5.25 NaOCl, %2.5 NaOCl, %3 H₂O₂, %17 EDTA ve %0.2 CHX kullandıkları çalışmada; kök dentin mikrosertliğini sadece CHX'in etkilemediğini diğer tüm solüsyonların azalttığını belirtmişlerdir.

EDTA'nın, dentinden büyüme faktörlerinin salınımını uyardığı ve dentin tabakasının dezenfeksiyonuyla kök hücrelerinin adezyonunu artırdığı belirtilmiştir. (Martin ve ark. 2014). %17 EDTA'nın 60 sn. uygulanmasının, %10 SA uygulanmasına göre daha yüksek düzeyde TGF- β 1'i açığa çıkardığı tespit edilmiştir (Zhao ve ark. 2000). %10 EDTA (pH=7) irrigasyonunun yüksek düzeyde TGF- β 1 salınımı sağladığı belirtilen bir başka çalışmada; FGF-2 ve VEGF salınımının TGF- β 1'den daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca; EDTA irrigasyonundan önce yapılan CHX irrigasyonunun TGF- β 1 salınımını artırdığı belirtilmiştir (Galler ve ark. 2015).

1.2.3 Sitrik Asit (SA)

SA, non-iyonik çözünür bir şelat oluşturmak için metallerle reaksiyona giren bir şelasyon ajanıdır. Periodontal tedavilerde kök yüzeyi düzleştirme için uygulanmaktadır (Salama ve Abdelmegid 1994). SA, endodontide %10 ile %50 konsantrasyonlarda ve 1 ile 2 pH aralığında kullanılan organik bir asittir. Kimyasal stabilitesi iyidir. Fakültatif ve zorunlu anaeroplara karşı antimikrobiyal etkisi vardır.

CHX ve EDTA karıştırıldığında bir çökeltiye neden olurken, CHX ve SA arasında antagonist etkileşimin görülmediği belirtilmiştir (Rossi-Fedele ve ark. 2012).

EDTA ve SA çözeltilerinin makrofajlara sitotoksik etkileri olduğu ve hücre canlılığında 0-24 saatlik sürelerde %50-70 oranında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Ancak; SA'nın 1 ile 7 günlük değerlendirmelerde daha az toksik etki yarattığı rapor edilmiştir (Amaral ve ark. 2007). Ca⁺² ve Mg⁺² bağlayıcı şelasyon ajanlarının etkisiyle bu hücrelerde apoptotik sürecin hızlandığı görülmüştür. Aynı

zamanda bu solüsyonların ortamın pH'sını düşürerek ve hücre canlılığı için gereken besinleri azaltarak canlı makrofaj sayısını azalttığı ve periapikal iyileşmeyi bozduğu rapor edilmiştir (Segura ve ark. 1996).

SA'nın antibakteriyel ve dekalsifikasyon özelliğinin EDTA ile benzer sonuçlar verdiği görülmüştür (Di Lenarda ve ark. 2000). Gandolfi ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada; dentinde en yüksek demineralizasyona %10 EDTA ve %10 SA'nın neden olduğunu rapor etmişlerdir. %1 EDTA hariç kullanılan tüm şelasyon ajanlarında kollajen yapısında değişim gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

SA'nın, fosforik asit, poliakrilik asit ve laktik asitle karşılaştırıldığında smear tabakasını kaldırmada daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Meryon ve ark. 1987). Hem tamponlu hem de orijinal pH değerleri ile %25 ve %50 gibi daha yüksek konsantrasyonlarda smear tabakasının etkin bir şekilde uzaklaştırmaktadır. Tamponlanmış ve gerçek pH değerlerine sahip daha yüksek konsantrasyonlu SA çözeltileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamış, ancak gerçek pH değerlerine sahip solüsyonlarla yapılan irrigasyon gruplarında peritübüler dentin tabakasında daha fazla yıkım olduğu rapor edilmiştir (Haznedaroğlu 2003). Smear tabakasını uzaklaştırma etkinliğinin EDTA ile aynı olduğu bildirilmiştir. SA'nın EDTA'ya göre dokularda daha az sitotoksik olduğu belirtilmiştir (Yamaguchi ve ark. 1996). %17 EDTA ve %10 SA'nın kontrol gruplarına (distile su, % 2.5 NaOCl) göre kökün koronal ve orta üçlüsünde smear tabakasını etkin bir şekilde kaldırdığı ve kök kanal dolgusunun dentin tübüllerine penetrasyonunu artırdığı rapor edilmiştir (Machado ve ark. 2018).

%10 SA'nın 10 dk., %25 SA'nın 3 dk., %2.5 fosforik asit 5 dk., %5 fosforik asitin 3 dk.da *E. Faecalis*'e antibakteriyel etkinlikleri olduğu, EDTA'nın ise antibakteriyel etkinliğinin görülmediği belirtilmiştir (Arias-Moliz ve ark. 2008).

SA'nın %10-%50 gibi farklı konsantrasyonlarda ve 1-10 dk.lık uygulama sürelerinde vertikal kök kırığı direnci açısından güvenli olduğu söylenebilir (Arslan ve ark. 2014b).

Enflamatuvar cevapta önemli rol oynayan makrofajların oranını; SA'nın %25 oranında, EDTA'nın ise %95 oranında azalttığı belirtilmiştir. Şelasyon ajanları; membran geçirgenliğinde, hücre metabolizmasında, hücre canlılığı ve/veya kendini yenileme yeteneklerinde değişiklikler yaparak sitotoksositeye neden olmaktadır

(Amaral ve ark. 2007). Ivica ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada; SA ve EDTA uygulanan dentin disklerinde kök hücre canlılığını araştırmışlar. SA uygulanan dentin disklerinde kök hücre canlılığı ve adezyonun daha yüksek oranda olduğunu tespit etmişlerdir.

%10 SA dilüsyonlarının EDTA-T'den daha biyoyumlu olduğu belirtilerek; SA kullanılan kültür ortamlarında daha yüksek canlı hücre yüzdesi olduğu ve kendi kendini yenileme kapasitelerini korudukları rapor edilmiştir (Scelza ve ark. 2001). %10 SA irrigasyonu yapılan kök segmentlerinde, %17 EDTA kullanılan kök segmentlerine göre daha yüksek oranda TGF- β 1 salınımı olduğunu tespit etmişlerdir (Chae ve ark. 2018). Mevcut çalışma sonuçları, %10 SA çözeltilisinin, rejeneratif endodontik prosedürlerde hücre canlılığı için kullanılan altın standart %17 EDTA çözeltilisinden daha faydalı olabileceğini göstermektedir.

1.3 İrrigasyon Aktivasyonu

Endodontik tedavinin başarısı; mikroorganizmaların, mikrobiyal toksinlerin, vital ve nekrotik pulpa kalıntılarının temizlenmesine bağlıdır. Her ne kadar etkin bir biyomekanik preparasyon yapılmaya çalışılsa da; kök kanal anatomisinin karmaşık yapısı nedeniyle kök kanalını tamamen şekillendirmek ve temizlemek mümkün değildir (Vertucci 1984). Temizlenemeyen bu alanlarda debris, mikroorganizma ve ürünlerinin kalması kök kanal dolgusunun başarısını etkileyecek, sekonder ve inatçı enfeksiyonların gelişimine zemin hazırlayacaktır. Ulaşılamayan pulpal alanlar dışında; el ve döner eğelerle uygulanan preparasyon işlemi sırasında oluşan smear tabakasının dentin tübüllerine penetrasyonu, hem kimyasal solüsyonun dezenfeksiyon etkinliğini azaltmakta, hem de kök kanal dolgu patının penetrasyonuna engel olmaktadır (Walsh ve George 2017). Kimyasal dezenfeksiyonun sağlanması için; irrigasyon solüsyonun dentin tübüllerine, isthmuslara ve kökün apikal üçlüsüne kadar etkin bir şekilde ulaştırılması gerekmektedir.

Yaygın olarak kullanılan NaOCl ve EDTA'nın konvansiyonel irrigasyon yöntemiyle, koronal ve orta üçlüde debris ve smear tabakasının kaldırılmasında

başarılı olursa da apikal üçlüde etkinliği azalmaktadır (Kiran ve ark. 2016). Bu yöntemle solüsyon, iğnenin ucundan 1 mm daha fazla öteye gidememesi irrigasyonun etkinliğini azaltmaktadır. Apikal alanda solüsyonda oluşan hava kabarcıkları ve vapor lock (buhar kilitlemesi) oluşması dezenfeksiyonun etkinliğini azaltan ayrı bir etkidir. Bu nedenle konvansiyonel irrigasyon yöntemiyle etkin bir dezenfeksiyon sağlanamamaktadır (Siqueira Jr ve Rôças 2011). Son yıllarda irrigasyon solüsyonunun etkinliğini artırmak için irrigasyon aktivasyonu uygulanmaktadır. Manuel aktivasyon teknikleri (gutta-perka konuları, fırçalar), basınç değişim sistemleri (EndoVac®, RinsEndo®), sonik sistemler, ultrasonik sistemler ve lazer aktivasyon teknikleri irrigasyon solüsyonlarının aktivasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Gu ve ark. 2009).

1.3.1 Ultrasonik Aktivasyon Sistemleri

Endodontide ilk defa 1957 yılında; Richman ultrasonik periodontal ucu kanalda bulunan debrisyi uzaklaştırmada ve apikal cerrahide kullanmıştır (Richman 1957, Gomma ve ark. 1992). 1980 yılında Martin tarafından endodonti için ultrasonik ünite olarak tasarlanmış ve kullanılabilir hale gelmiştir (Martin ve ark. 1980). Ultrasonik enerji; sonik enerjiye göre daha yüksek frekansta ve daha düşük genliktedir. Ultrasonik frekans aralığı 25-30 kHz'dir (Gu ve ark. 2009). Enine titreşimde çalışırlar; node, anti-node adı verilen sıkışma ve genişleme basınç bölgeleri oluştururlar (Özkoçak ve Bayram 2014).

Eşzamanlı ultrasonik enstrumantasyon ve irrigasyon (sürekli ultrasonik aktivasyon) ve pasif ultrasonik irrigasyon (PUI) olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır (Gu ve ark. 2009).

PUI terimi ilk olarak Weller ve ark. (1980) tarafından; ultrasonik ucun kanal duvarlarında preparasyon yapmadan, duvarlara teması olmadan yapılan irrigasyon şeklinde tanımlamak için kullanılmıştır. Kanal içinde kesme işlemi yapmayan eğenin titreşimiyle ultrasonik dalgalar şeklinde enerji salınımı gerçekleşir. Oluşan akustik akımlarla irrigasyon solüsyonunda kavitasyonlar oluşmaktadır. PUI uygulaması; devamlı ya da kesikli irrigasyon olarak iki şekilde yapılmaktadır. Kesikli yıkama tekniğinde; kanal içine önce irrigasyon solüsyonu gönderilir ve sonrasında ultrasonik

cihaz aktive edilir. Devamlı yıkama tekniğinde ise, irrigasyon solüsyonu kanal içinde aktivasyon süresince sürekli yenilenir (Cameron 1988). Her iki irrigasyon yönteminin, süresi 3 dakikaya ayarlandığında, ex-vivo bir modelde dentin debrisinin kök kanalından uzaklaştırılmasında eşit derecede etkili olduğu gösterilmiştir (Van der Sluis ve ark. 2006). 1 dakikalık devamlı ultrasonik irrigasyonun uygulanmasıyla; hem vital hem de nekrotik dişlerde önemli ölçüde daha temiz kanallar ve isthmuslar elde edilmiştir (Burleson ve ark. 2007).

PUI'nın nekrotik ve vital pulpal doku artıkları ve dentin debrisinin uzaklaştırılmasında konvansiyonel irrigasyon tekniğinden daha etkili olduğu konusunda fikir birliği vardır (Cameron 1987, Metzler ve Montgomery 1989, Lee ve ark. 2004b). Düz ve geniş kök kanallarında yapay olarak oluşturulmuş düzensiz alanlarda, ultrasonik aktivasyonun dentin debrisini konvansiyonel irrigasyon yönteminden etkin bir şekilde temizlediği rapor edilmiştir (Lee ve ark. 2004a). Rödig ve ark. (2010); PUI'nın kök kanallarında NaOCl'in etkinliğinde artış sağlayarak, debrisin uzaklaştırılmasında RinsEndo® ve konvansiyonel irrigasyon yönteminden daha başarılı olduğunu belirtmişlerdir. %17 EDTA ve %1 NaOCl kullanılarak yapılan bir çalışmada; EDTA solüsyonuna PUI uygulanan ve hem NaOCl hem de EDTA solüsyonuna PUI uygulanan gruplarda smear tabakasının kaldırılmasında anlamlı artış olduğu rapor edilmiştir (Schmidt ve ark. 2015).

Kök kanal dolgu patlarının push-out bağlanma kuvveti ve kök kanal dentinine penetrasyonunun araştırıldığı bir çalışmada; ultrasonik aktivasyonun, sonik aktivasyona göre daha yüksek bağlanma kuvveti değerleri ve dentin penetrasyonu sağladığı görülmüştür (Wiesse ve ark. 2018).

Literatürde ultrasonik aktivasyon kullanılarak büyüme faktörü salınımını araştıran bir çalışma mevcuttur. Hem dentin disklerine hemde kök segmentlerine; %10 EDTA ve fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS) kullanılarak 1, 3, ve 10 dk ultrasonik aktivasyonlu ve aktivasyonsuz gruplar oluşturulmuştur. Tüm gruplarda sadece PBS irrigasyonunda TGFβ-1'in yüksek seviyelerde salınımı görülmezken, EDTA irrigasyonunu takiben uygulanan ultrasonikle aktivasyondan sonra önemli miktarda TGFβ-1 salınımı tespit edilmiştir. Çalışma sonucuna göre; ultrasonik aktivasyon dentinden TGF-β1 salınımını artırmıştır. Rejenaratif endodonti uygulamalarında dentindeki büyüme faktörlerinin fizyolojik olarak çözünebileceği ve

doku mühendisliğinde otolog kaynak olabileceği rapor edilmiştir (Widbiller ve ark. 2017).

1.3.2 Lazer Aktivasyon Sistemleri

"LASER", Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation'nın (Uyarılmış Radyasyon Emisyonu ile Işık Amplifikasyonunun) kısaltmasıdır. Lazer ışığı, tek bir fotonun dalga boyudur (Mohammadi 2009). Lazer ışığı, uyarılmış bir atomdan bir foton salmak üzere stimüle edildiğinde oluşur. Bir fotonun uyarılmış bir atom tarafından kendiliğinden yayılması, bir sonraki fotonun serbest bırakılmasını uyarır ve foton salınımı işlemi bu şekilde devam eder. Bu uyarılmış emisyon, doğada başka hiçbir yerde bulunmayan tek bir dalga boyuna sahip (monokromatik), eş zamanlı ışınlar üretir (Clayman ve Kuo 1997). Lazerler hedeflenen dokuda düşük enerjile güçlü bir etki yaratabilirler (Clayman ve Kuo 1997).

Diş hekimliğinde kullanılan lazerler bir atımda 1 J'den daha az enerji meydana getirdiği için enerji birimi olarak milijoule" (mJ) (1 J=1000 mJ) kullanılır (Coluzzi 2004). Fotonlarda dalga boyu kısaltıkça taşıdıkları enerji miktarı artmaktadır. "Watt" (W) ise gücü; yani birim zamanda yapılan işi tanımlar. Hedef dokuya iletilirken saniyedeki atım sayısı ise "Hertz" (Hz) ya da pulse per second'dır (pps). 1 saniyedeki atım sayısı frekansı belirtir (Coluzzi 2008).

Lazer ışığı bir dokuya ulaştığında; emilir, iletilir, yansıtılır veya dağıtılır. Biyolojik dokuda, emilim esas olarak serbest su molekülleri, proteinler, pigmentler ve diğer makromoleküllerin varlığından kaynaklanır. Emilim katsayısı yüksek oranda gelen lazer ışınlarının dalga boyuna bağlıdır (Rossmann ve Cobb 1995).

Lazer enerjisinin temel etkisi fototermaldir. Lazer enerjisinin doku üzerindeki etkisi; sıcaklık artışına, interstisyel ve hücre içi suyun reaksiyonuna bağlıdır. Işınlanan dokudaki ısı artışında, güç yoğunluğu ve maruz kalma süresi önemlidir. Dokularda; 37–50°C'de hipertermi, 60–70°C'de koagülasyon-protein denatürasyonu, 70–80°C'de protein koagülasyonu, 100–150°C'de vaporizasyon-ablasyon ve 200°C'nin üstünde artış olduğunda ise karbonizasyon görülür. Son ürün

olarak karbon tüm dalga boylarını emer. Bu nedenle, lazer enerjisi uygulanmaya devam etse de, yüzeydeki karbonize tabaka gelen ışını emerek bir ısı alıcısı haline geldiği için normal dokunun ablyasyonunu önler (Coluzzi 2004).

Lazerler; çürüğün temizlenmesi, diş kesimi (Aoki 1998), kemik cerrahisi ve periodontal tedavilerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Endodonti alanında ise; pulpa vitalitesinin tespitinde, dentin hipersensivitesinin tedavisinde, vital pulpa tedavilerinde, apikal rezeksiyonda kök ucu kavitesi hazırlanmasında, kök kanallarının preparasyonu ve sterilizasyonunda, kök kanal dolgusunun yapımında ve yenilenmesinde farklı lazer sistemleri kullanılmaktadır.

Erbium Lazer Aktivasyonu: Erbium kullanılarak üretilmiş 2 farklı dalga boyunda, benzer özellikler içeren 2 lazer sistemi bulunmaktadır. 'Yitrium skandiyum galyum garnet' katı kristaline erbium ve krom ilave edilerek Erbiyum, Cr: YSGG (2780 nm) lazer ve 'yitrium alüminyum garnet' katı kristaline erbium ilave edilerek Erbiyum:YAG (2940 nm) lazer cihazları üretilmiştir (Coluzzi 2004).

Er:YAG lazer emisyonu, hidroksiapatit mineralindeki OH⁻ grupları ve dentin kristal yapılarındaki su molekülleri tarafından yüksek düzeyde emilir. Su moleküllerinin emilimi sonrasında hızlı buharlaşma meydana gelir. Bu hızlı buharlaşmayı takiben görülen mikropatlamalar, hem organik hem de inorganik doku parçacıklarının diş dokusundan uzaklaşmasını sağlar (Lin ve ark. 2010). Su içeren dokularda; Er:YAG lazerler Er,Cr:YSGG lazerlere göre daha iyi absorbe edildiğinden diş sert dokularında daha az enerjiyle ablyasyon sağlanabilir.

Araştırmalar; kök kanal şekillendirme ve temizlenmesinde lazerin tek başına kullanımı yerine konvansiyonel yöntemlerle birlikte kullanımının daha etkili olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda; Er:YAG lazer ucunun şekillendirme sırasında kök dentinine olan mesafesinin azalmasıyla etkinliğinin arttığı belirtilmiştir (Levy 1992, Kokuzawa ve ark. 2012). Er:YAG lazerle kanal şekillendirmesi sırasında yeterli su soğutması yapılması dentin gerilimini azaltmaktadır. Gerilimin azalmasıyla mikroçatlakların önlenerek daha başarılı tedaviler yapılabileceği bilinmektedir (Watanabe ve ark. 2010).

Pulpatomi vakalarında; 200 mJ / 20 Hz ve 100 mJ / 20 Hz parametrelerinde kullanılan Er:YAG lazer'in radiküler pulpaya zarar vermediği dentin köprüsü oluşumunu teşvik ettiği belirtilmiştir (Guo ve Zhang 2016).

Er:YAG ve Nd:YAG lazer kullanımının kök kanal dentininin mineral içeriğine (kalsiyum (Ca), fosfor (P), magnezyum (Mg) ve sodyum (Na) ve potasyum (K)) etkisi araştırıldığında, her iki lazer sisteminin dentin Ca, P, Mg, ve K düzeylerini artırdığı fakat istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı rapor edilmiştir (Topçuoğlu ve Köseoğlu 2015).

Er:YAG lazer ışınlamasının biyofilm tabakasına bakterisidal bir etkisi olduğu, biyomekanik preparasyonla ulaşılamayan alanların lazer kullanımıyla temizlenebildiği tespit edilmiştir (Matsumoto ve ark. 2011, Kokuzawa ve ark. 2012). Deneysel olarak *E. faecalis* ile enfekte edilmiş kök kanallarında Nd:YAG ve Er:YAG lazerin bakterisidal etkinlikleri karşılaştırıldığında; Er:YAG lazerin özellikle düz kanallarda Nd:YAG lazerden daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle eğimli kök kanallarında endodontik lazer ucu ve tekniğinin bakterisidal etkinliği artıracak şekilde geliştirilmesi gerektiği belirtilmiştir (Yasuda ve ark. 2010).

Farklı irrigasyon protokolleriyle, Er,Cr:YSGG lazer uygulamasının fiber postların bağlanma dayanımına etkisi incelendiğinde; orta üçlüde en yüksek bağlanma CHX irrigasyonu ve Er,Cr:YSGG lazer uygulaması yapılan gruplarda tespit edilmiştir. Er,Cr:YSGG lazer uygulamasının (1.5 W, 20 Hz, 85 hava, 75 su, 26.7 J/cm²) postun kök kanalına bağlanmasını iyileştirdiği sonucuna ulaşılmıştır (Çökük ve ark. 2016).

Işık fotonlarının çok düşük enerji seviyelerinde ve mikrosaniye atım süresinde gelişmiş lazer sistemleri kullanılarak irrigasyon aktivasyonu uygulanabilmektedir (Laser Activated Irrigation, LAI). Er:YAG lazerle kullanılan stripped uç tasarımına sahip PIPS ucu geliştirilmiştir. PIPS; spesifik parametreler ve protokollerle kullanıldığında subablatif seviyelerde (fotoakustik ve fotomekanik olaylar) üretilen şok dalgasıyla sıvıların üç boyutlu yayılmasını sağlar. PIPS, irrigasyon solüsyonları için güvenli ve etkili bir aktivasyon uygulama şeklidir. Aktivasyon ucu preparasyonunun koronal yönünde sabit tutulur, böylece dentin yapısının korunması sağlanır. Dentin duvarlarına lazer enerjisinden kaynaklanan

termal hasar olasılığını önleyen minimal invaziv yöntemle etkili irrigasyon sağlanmaktadır.

PIPS ucuyla Er:YAG lazer kullanımında; düşük enerji ile yüksek tepe değerinde güç üretilerek solüsyonun ana kanala, yan kanallara, anastomozlara ve dentin tübüllerine kadar ulaşması sağlanır. Bu şekilde tüm vital ve nekrotik pulpa artıklarının temizlenmesi hedeflenir. Diğer yöntemlere göre; debris ve organik doku eliminasyonunun daha başarılı bir şekilde sağlandığı tespit edilmiştir (Arslan ve ark. 2014a, Lloyd ve ark. 2014). Doğru protokollerle yapılan lazer aktivasyonunda NaOCl ve EDTA kullanımının, geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında kök kanallarında temizlenme ve dezenfeksiyon etkisini artırdığı rapor edilmiştir (Olivi ve DiVito 2016).

Smear tabakası ve *E. faecalis* ile enfekte edilmiş kök kanallarında Nd:YAG, diode ve PIPS ucuyla Er:YAG lazer etkinliği incelenmiştir. Çalışma sonuçları; üç lazer sisteminin de *E. faecalis* 'i anlamlı düzeyde azalttığı ve NaOCl'ye PIPS ucuyla yapılan Er:YAG lazer aktivasyonunun daha temiz kanallar ve dentin tübüleri açığa çıkardığı rapor edilmiştir (Korkut ve ark. 2018). Tek köklü kanallarda smear tabakası ve *E. Faecalis* 'in temizlenmesi üzerine PIPS ucuyla Er:YAG lazer aktivasyonu ve konvansiyonel irrigasyon yöntemlerinin incelendiği bir çalışma yapılmıştır. İrrigasyon solüsyonu olarak EDTA, NaOCl ve CHX'in kullanılmıştır. NaOCl+PIPS ucuyla Er:YAG lazer aktivasyonu ve NaOCl+EDTA kullanılan konvansiyonel irrigasyon gruplarının; *E. Faecalis* kolonizasyonunu azalttığını, smear tabakasını koronal ve orta üçlüde etkili bir şekilde uzaklaştırdığını ve apikal üçlüde uzaklaştıramadığını rapor etmişlerdir (Zhu ve ark. 2013).

Ekim ve Erdemir (2015); NaOCl ve EDTA kullanarak, PUI, EndoVac®, diode, Nd:YAG ve Er:YAG lazer irrigasyon yöntemleriyle smear tabakasının kaldırılmasını incelediklerinde, en etkili sonucu PIPS uçlarıyla birlikte kullanılan Er:YAG lazerin verdiğini belirtmişlerdir. Özbay ve Erdemir (2018); NaOCl ve EDTA'nın aktivasyonu için lazer sistemlerinin kullanılmasının, smear tabakasının kaldırılmasında en etkili yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca; PIPS ucuyla uygulanan Er:YAG lazer aktivasyonunun kullanılan irrigasyon solüsyonundan bağımsız olarak, en etkili yöntem olduğunu rapor etmişlerdir.

Literatürde; rejeneratif endodonti alanında büyüme faktörlerinin salınımıyla ilgili lazer aktivasyon sistemleri kullanılarak yapılan bir çalışma henüz mevcut değildir.



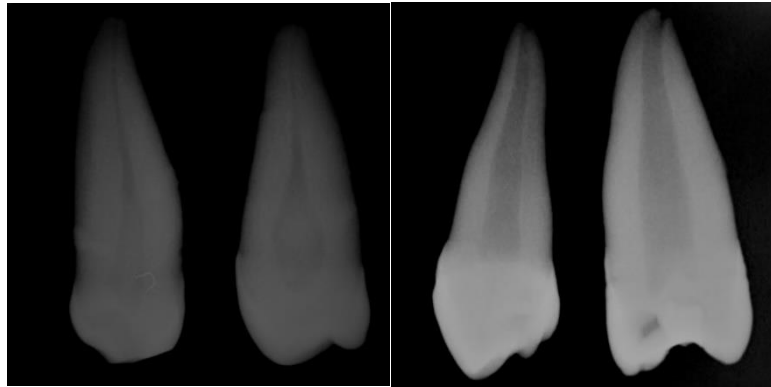
2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Etik Kurul Onayı

Araştırma için gerekli olan etik kurul onayı Kırıkkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'ndan 15.05.2019 tarihinde ve 2019.05.18 numaralı kararıyla alındı (Ek-1). Araştırmaya alınacak gözlem sayısını belirlemek için G* Power v3.1 (Heinrich Heine, Universität Düsseldorf) testi kullanıldı. Analiz sonucuna göre %85 oranında güç elde edebilmek için, gruplarda örnek sayısının 10 olması gerektiği tespit edilmiştir.

2.2 Dişlerin Çalışmaya Dâhil Edilme Kriterleri

Çalışmamızda; periodontal nedenlerle çekim endikasyonu konmuş, 70 adet anatomik malformasyonu olmayan, çürüksüz, tek köklü, tek kanallı, mandibular premolar dişler kullanıldı. Kalsifikasyon, rezorbsiyon ve çift kök kanalı olmadığının doğrulanması amacıyla dijital röntgen cihazı (Gendex Dental Systems, Hatfield, PA 19440 USA) ve iki farklı açıdan fosfor plak (Soredex, Helsinki, Finland) kullanılarak radyografiler (Şekil 2.1) elde edildi ve incelendi.



Şekil 2.1 Dişlerden elde edilen radyografiler

Dişler çekimden hemen sonrasında fosfat tamponlu salin solüsyonu (Gündüz Kimya, İstanbul, PBS) ile yıkayıp kretuar yardımıyla periodontal dokular kök yüzeyinden temizlenerek (Şekil 2.2) kullanılabilecek kadar 4°C, %0.1 thymol solusyonunda saklandı.



Şekil 2.2 Çekilen premolar dişlerin steril cam kavanozlarda PBS solüsyonunda bekletilmesi

2.2.1 Kök Kanallarının Preparasyonu

Dişler apekten itibaren 12 mm boyutunda ölçülüp, su soğutması altında steril frezlerle dekorone edilerek kök boyları standart hale getirildi. rejeneratif endodontik tedavi uygulamalarında en yüksek klinik başarı oranı apikal çapları 0.5-1.0 mm olan dişlerde görüldüğünü belirten çalışma verilerine göre (Fang ve ark. 2018); tüm kök segmentleri, apikal çapları 1 mm olan standart kesik koni şeklinde kanallar elde etmek için #100 nolu el eğesine (Shenzhen D-Perfect Medical Instruments, Dublin 7, Ireland, K files) kadar genişletildi (Şekil 2.3). Eğeler arasında %0.9 saline (Sodium chloride solution, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldı. Tüm kök segmentleri sadece kanal içi dentin yüzeyleri açıkta kalacak şekilde oje ile kaplandı.



Şekil 2.3 12 mm boyutunda kök segmentlerinin hazırlanması ve genişletilmesi

Genişletme sonrasında bütün dişlerde; klinik protokole benzetmek için kök ucundan yaklaşık 1 mm uzaklıkta konumlandırılan 25 gauge'luk tek kullanımlık plastik enjektörlerle (Berika Teknoloji Medikal, Meram/Konya) 20 ml %1.5 NaOCl ve 20 ml saline irrigasyonu yapıldı. Kontrol grubu için 10 diş randomize ayrıldı.

Kalan 60 kök segmenti silikon esaslı ölçü malzemesi (Zetaplus L Intro Kıt, Zhermack S.P.A. Italy) kullanılarak eppendorf tüplerine yerleştirildi (Şekil 2.4).



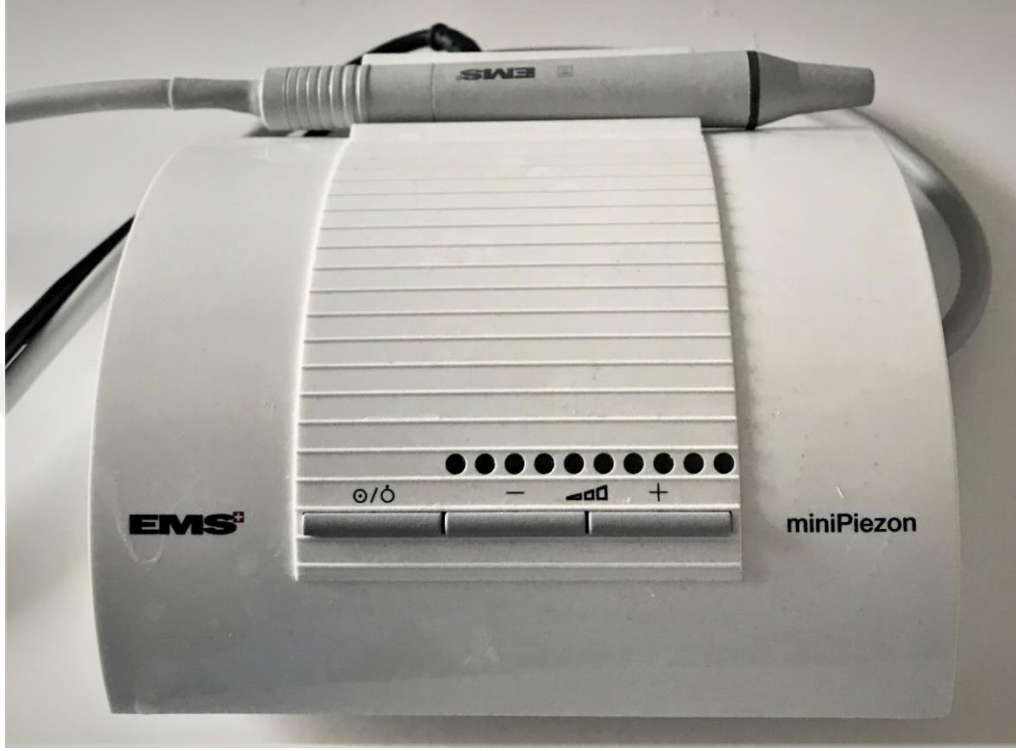
Şekil 2.4 Kök segmentlerinin eppendorf tüplerine yerleştirilmesi

Dişler, 30 diş içerecek şekilde kullanılacak irrigasyon solüsyonuna göre randomize olarak 2 ana gruba ayrıldı. Bu iki gruptan birincisinin irrigasyon solüsyonu %17 EDTA, ikincisinin irrigasyon solüsyonu ise %10 SA olarak belirlendi. Daha sonra iki ana grup kullanılacak irrigasyon aktivasyon yöntemine göre 3 alt gruba ayrıldı. 1. alt gruplarda (Grup 1A, 2A) irrigasyon aktivasyonu yapılmazken, 2. alt gruplarda ultrasonik (Grup1B, 2B) ve 3. alt gruplarda PIPS ucu ile Er:YAG lazer (Grup1C,2C) aktivasyonu uygulandı. Uygun aktivasyon yöntemine göre; irrigasyon solüsyonları kullanılarak final irrigasyonları tamamlandı.

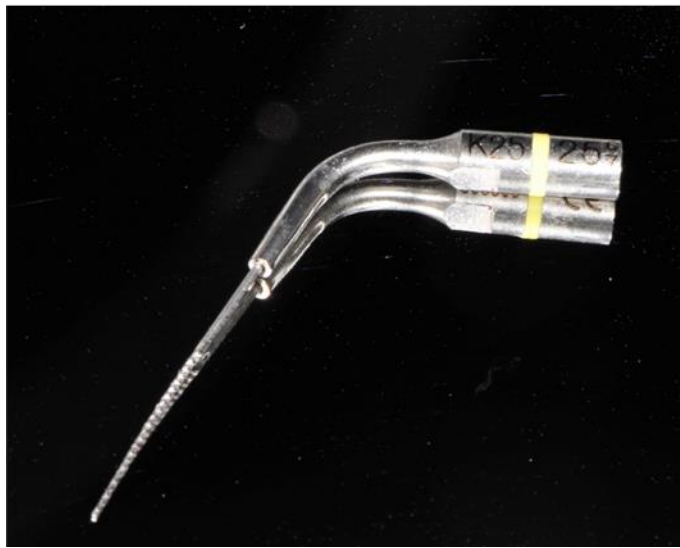
Grup 1A ve 2A'da; konvansiyonel şırınga irrigasyonu için plastik enjektörler çalışma boyundan 1 mm. kısa olacak şekilde yerleştirildi. Apikal kısımda 4-5 mm boyunca yavaşça ileri ve geri hareketlerle 25 gauge'luk, tek kullanımlık plastik enjektörlerle 20 ml, %17 EDTA veya %10 SA 5 dk. boyunca herhangi bir aktivasyon uygulanmadan irrigasyon yapıldı.

Grup 1B ve 2B'de ultrasonik cihazı (EMS miniPiezon SA CH-1260 Nyon, Switzerland) (Şekil 2.5) ve ultrasonik aktivasyon ucu (IF43727, K 25/25, Satelek, Acteon, Merignac Celdex-France) (Şekil 2.6) kullanıldı. Kök kanalına 25 gauge'luk,

tek kullanımlık plastik enjektörlerle 20 ml %17 EDTA veya %10 SA 5 dk. boyunca uygulanırken ultrasonik uç yardımıyla, %50 power modunda 4-5 mm boyunca aşağı yukarı hareketlerle devamlı ultrasonik irrigasyon aktivasyonu yapıldı (Şekil 2.7).



Şekil 2.5 Çalışmamızda kullanılan ultrasonik cihaz

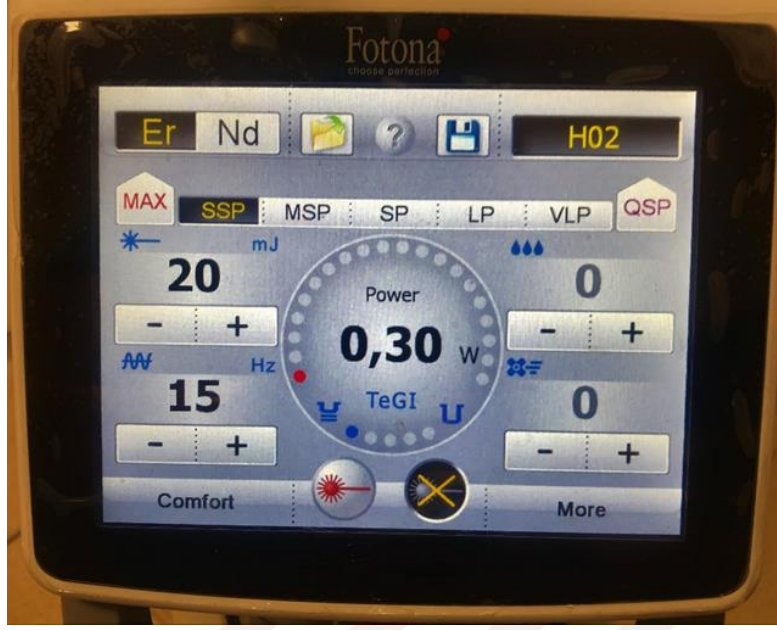


Şekil 2.6 Çalışmamızda kullanılan ultrasonik irrigasyon aktivasyon uçları



Şekil 2.7 Devamlı irrigasyon yöntemiyle ultrasonik aktivasyonun uygulanması

Grup 1C ve 2C’de irrigasyon aktivasyonu için 2940 nm dalga boyuna sahip Er:YAG lazer cihazına (LightWalker AT, Fotona, Ljubljana, Slovenia) (Şekil 2.10) takılan 300 µm’lik fiber optik PIPS ucu (Şekil 2.11, şekil 2.12) kullanıldı. Lazer cihazı, üretici firmanın endodontik tedavide tavsiye ettiği parametreler olan; 0.3 W, 20 mJ atım hızı; 15 Hz olacak şekilde ayarlandı (Şekil 2.8). Kök kanalına 25 gauge’luk, tek kullanımlık plastik enjektörlerle 20 ml %17 EDTA veya %10 SA 5 dk. boyunca uygulanırken kök segmentinin koronalinden 1 mm içeride olacak şekilde konumlandırılan PIPS ucu ve Er:YAG lazer (Fotona) kullanılarak devamlı irrigasyon aktivasyonu uygulandı (Şekil 2.9). İrrigasyon aktivasyonu boyunca optik fiber uç kök kanalının koronal kısmında sabit tutuldu.



Şekil 2.8 Çalışmamızda kullanılan Er:YAG Lazer parametreleri



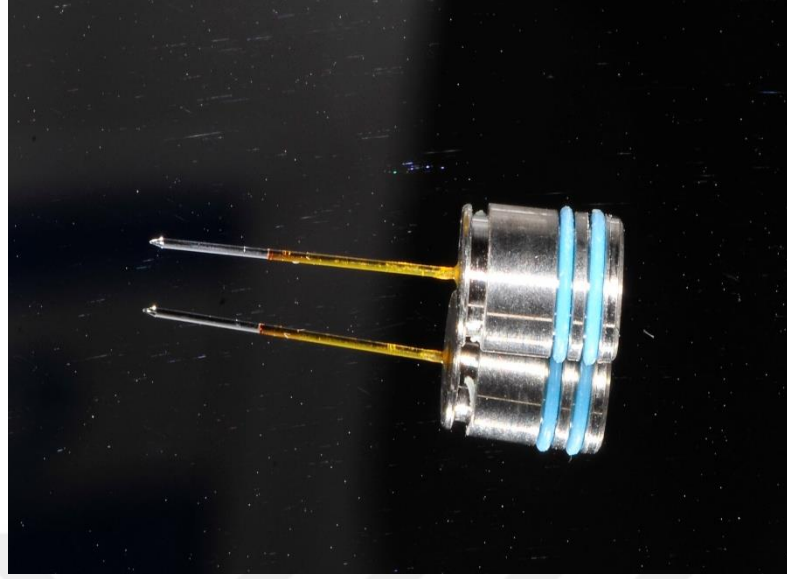
Şekil 2.9 Devamlı irrigasyon yöntemiyle PIPS ucu kullanarak Er:YAG lazer aktivasyonunun uygulanması



Şekil 2.10 Çalışmamızda kullanılan Er:YAG (Fotona) Lazer

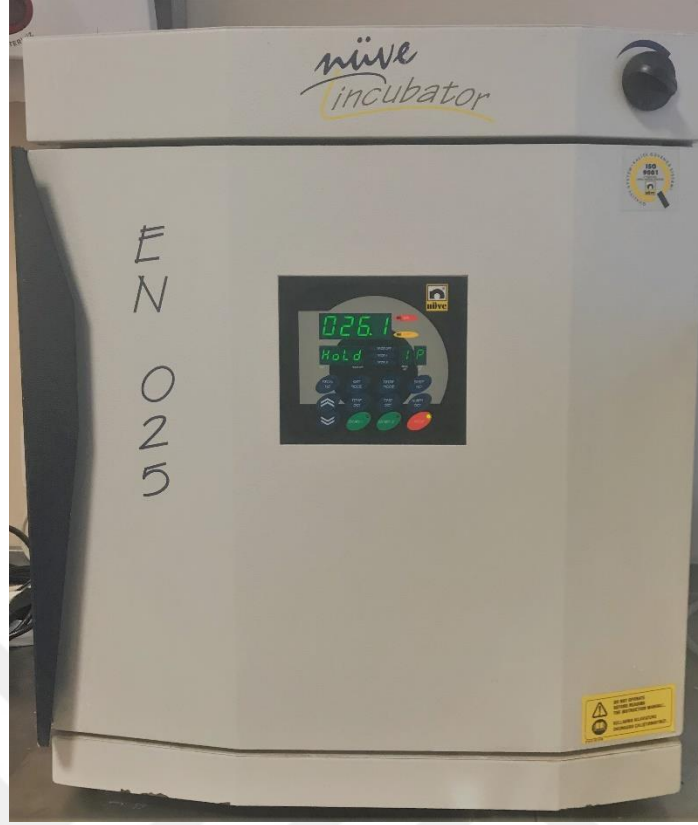


Şekil 2.11



Şekil 2.12 Çalışmamızda kullanılan PIPS ucu

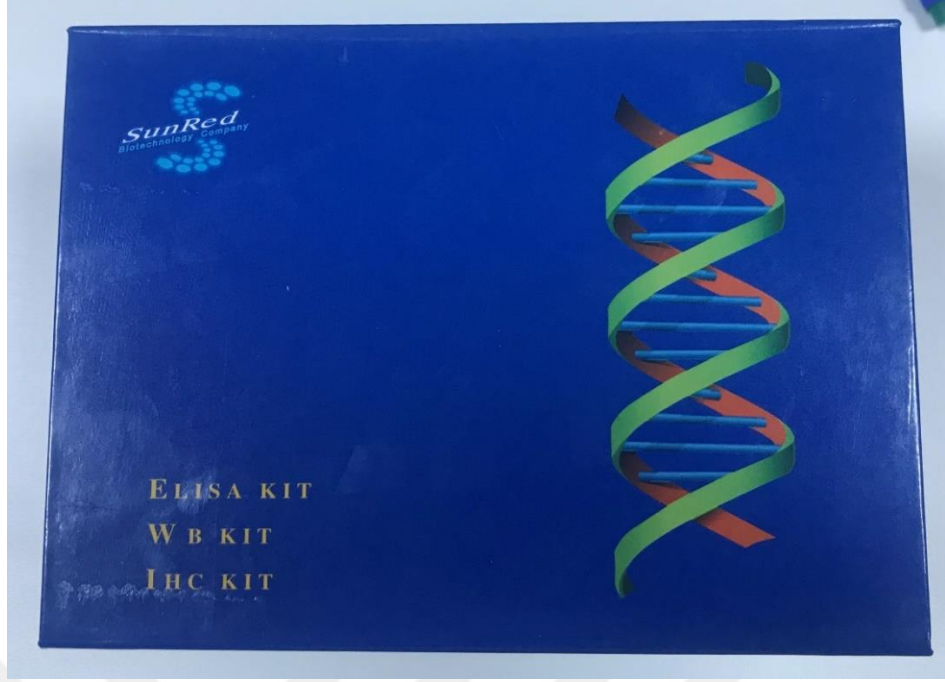
Tüm kök segmentleri 20 ml saline solüsyonuyla irrigasyon yapılarak steril kağıt konularla (Meta Dental Co., Ltd., Korea) kurutuldu. Her bir kök segmenti steril eppendorf tüplerine 1 ml PBS solüsyonu eklenerek yerleştirildi. Örnekler 37°C’de inkübatöre (Şekil 2.13) (Nüve EN 025, Ankara, Türkiye) yerleştirildi. İrrigasyon işleminin yapıldığı saatten 24 saat sonra 400 µl örnek toplanarak eppendorf tüplerine konulup -20°C’de (Öztiryakiler, Slim 400 LTV, İstanbul) saklandı. İçerisinde dişlerin bulunduğu eppendorf tüpleri 7.günde tekrar örnek toplanması için 37°C’de inkübatöre tekrar yerleştirildi. 7. günde ikinci değerlendirme için 400 µl örnekler toplanıp eppendorf tüplerine alınarak ELISA’da değerlendirilinceye kadar -20°C’de muhafaza edildi.



Şekil 2.13 Örneklerin saklandığı etüv

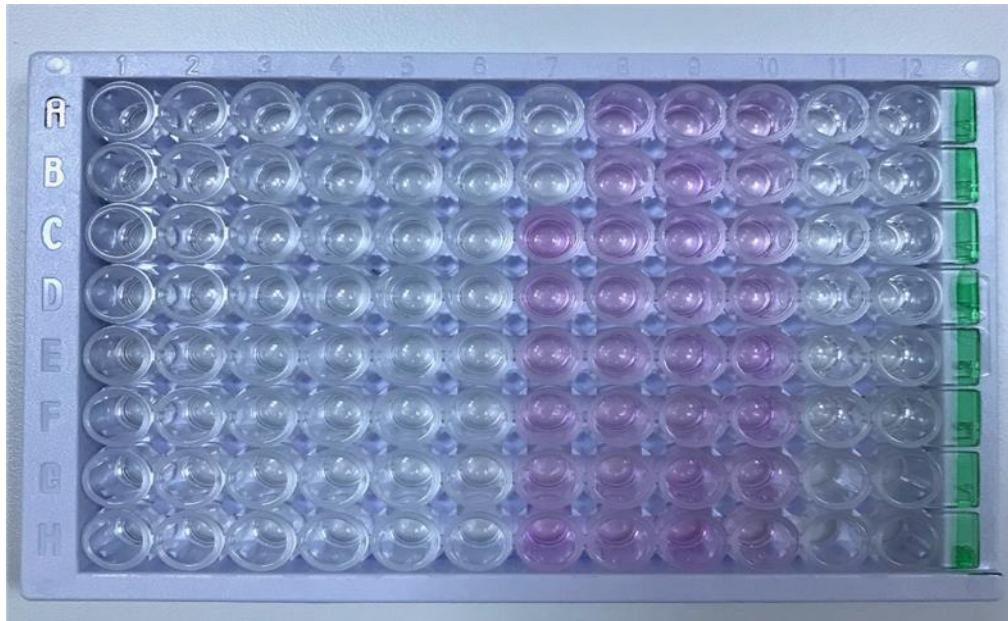
2.3 ELISA Ölçümlerinin Yapılması

Toplanan örnekler Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Lab.'da enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) testleri yapılarak değerlendirildi. Elde edilen örneklerden büyüme faktörleri; TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A'nın ölçümü için ticari kitler (SunRed Biotechnology Company) (Şekil 2.14) kullanıldı.



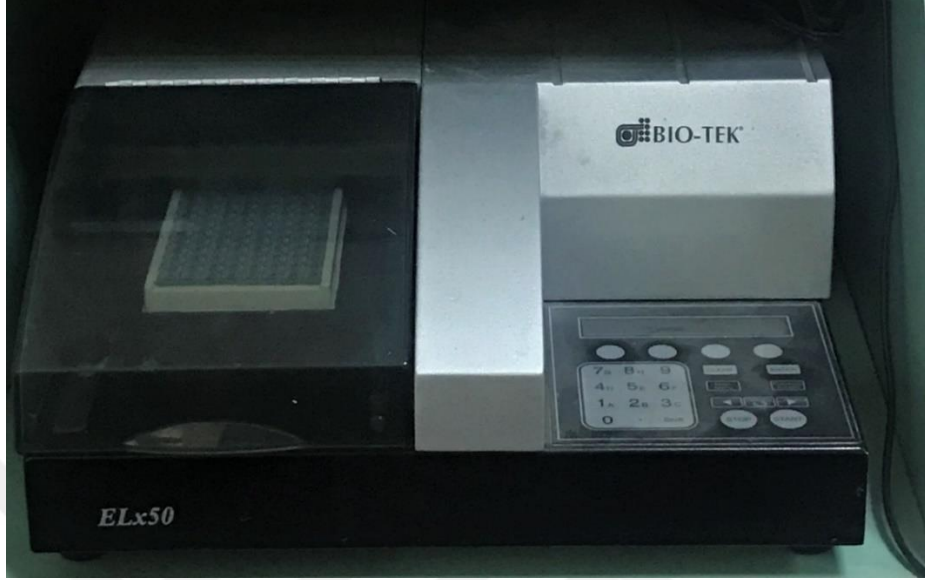
Şekil 2.14 ELISA kiti

İlk olarak ELISA plaklarındaki kuyucuklara TGF- β 1 ölçümü için toplanan örneklerden 40 μ l eklendi (Şekil 2.15). Daha sonra 10 μ l TGF- β 1 antikor ve 50 μ l standart HRP eklenip 37° C’de 60 dk. süreyle inkübe edildi.



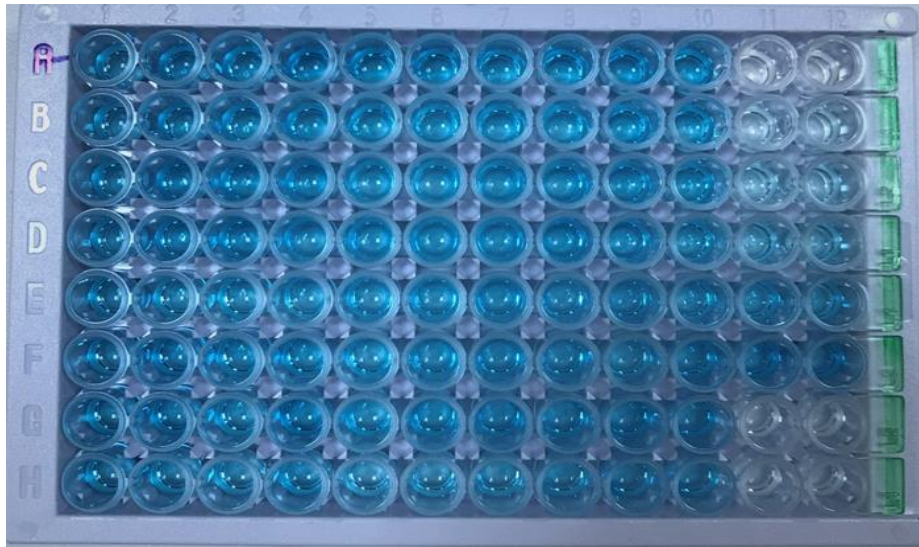
Şekil 2.15 ELISA kitlerine örneklerin konması

İnkübatörden çıkarılan plaklar ELISA otomatik yıkayıcısında 3 kez yıkandı (Şekil 2.16) (BioTek EL×50, Vinooski, VT, USA).

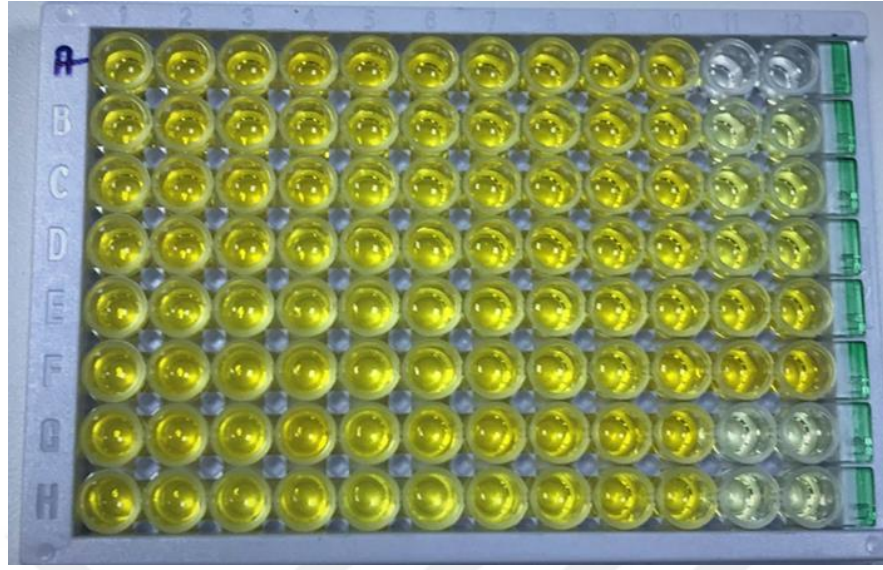


Şekil 2.16 ELISA Bio Tek EL×50 otomatik yıkayıcısı

Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra 50 µl kromojen A, 50 µl kromojen B solüsyonu eklendi (Şekil 2.17). Plaklar 37° C’de 10 dk boyunca etüvde bekletildi. 10 dk. sonra reaksiyonu durdurmak için 50 µl stop solüsyonu eklendi (Şekil 2.18).



Şekil 2.17 ELISA kitlerinde inkübasyondan sonraki renk değişimi



Şekil 2.18 ELISA kitlerine stop solüsyonu eklendikten sonraki renk değişimi

Okunmaya hazır olan, ELISA plakları 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapan ELISA okuyucusuna yerleştirildi (Şekil 2.19). Ölçüm sonrası elde edilen datalar kaydedildi. (BioTek Uquant MQ×200, Vinooski, VT, USA). Aynı işlemler IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A için tekrarlandı.



Şekil 2.19 BioTek Uquant MQ×200 ELISA okuyucusu

2.4 Büyüme Faktörlerinin Birim Konsantrasyonlarının Hesaplanması

Kök kanalının hacmi ile ELISA'da kullanılan besiyeri hacmi arasındaki anlamlı fark göz önüne alındığında, kanal içindeki gerçek büyüme faktörlerinin konsantrasyonlarını hesaplamak için; her bir kök segmentinde hazırlanan kök kanalı boşluğu hacmi konik-ışınlı bilgisayarlı tomografi ile (CBCT) (Digital X-ray Imaging System, PaX-Uni3D, Vatech, Korea) görüntüler alındıktan sonra hesaplandı. CBCT alınırken tomografi cihazında en düşük FOV alanı, en düşük voksel çözünürlüğü ve en uzun ışınlama süresi ayarlaması yapıldı. Kanal boşluğu hacmini kesik bir koni olarak hesaplayabilmek için; uzunluk (L), koronal çap (D) ve apikal çap (d) olmak üzere tüm kök segmentlerinde sagittal düzlemde ölçümler yapıldı (Şekil 2.20). Alınan CBCT görüntüleri EZ 3D plus (2010 Vatech E-Woo Holdings Co. LTD) programına aktarılarak yukarıdaki parametreler ölçüldü. Her ölçüm 3 kez tekrar edildi.



Şekil 2.20 Tomografik ölçümlerin yapılması (D =1.5 mm d =1.1 mm L =12.1 mm)

Tüm kök segmentlerinin tomografi ölçümleri dikkate alınarak kök kanal boşluğu hacimleri (V) aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$V_{(Kanal)} = \pi L [(D/2)^2 + (D/2)(d/2) + (d/2)^2] / 3$$

Kök kanal boşluğu hacmi hesaplandıktan sonra TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A büyüme faktörlerinin kök kanallarındaki son konsantrasyonu $C_{(Kanal)}$ aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

$$C_{(Kanal)} = C_{(Elisa)} \times V_{(Toplanan Medium)} / V_{(Kanal)}$$

İstatistiksel analiz için SPSS 23.0 programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin normallik analizi Kolmogorov Smirnov testi değerlendirildi. Tüm verilerde en az bir grupta veriler normal dağılmadığından tüm verilere non-parametrik testler yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli değişkenler için ortalama \pm ss olarak verildi. Bağımsız iki grupta sayısal değişkenlerin fark analizi Mann Whitney-U testi ile yapıldı. Tekrarlayan ölçümlerin fark analizi Wilcoxon testi ile değerlendirildi. İstatistiksel alfa anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Aktivasyon şekli ve örnek alma zamanı gözardı edilerek EDTA ve SA solüsyonlarının kullanıldığı 60'ar örnekte tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 3.1'te verilmiştir.

Tablo 3.1 Aktivasyon şekli ve örnek alma zamanı gözardı edilerek EDTA ve SA solüsyonlarının kullanıldığı 60'ar örnekte tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları

	EDTA	Sitrik asit
	ort±ss	
TGF-β1 (ng/ml)	29,84±8,77 ^A	29,95±10,39 ^A
IGF-1 (ng/ml)	0,95±0,26 ^A	0,83±0,29 ^B
BMP-7 (ng/ml)	8,23±2,48 ^A	7,58±2,62 ^A
VEGF-A (pg/ml)	17,98±4,88 ^A	18,71±7,32 ^A

*Aynı satırda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

EDTA ve SA solüsyonlarının aktivasyon şekli ve örnek alma zamanı gözardı edilerek elde edilen tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri incelendiğinde; EDTA grubunda SA grubuna göre istatistiksel olarak IGF-1 düzeyinin daha yüksek olduğu gözlenirken ($p<0.05$), TGF-β1, BMP-7 ve VEGF-A düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

EDTA solüsyonunun kullanıldığı gruplarda değerlendirilen tüm büyüme faktörlerinin hem 24. saat hem de 7. gün salınımlarının, aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri tablo 3.2' de verilmiştir.

Büyüme faktörleri TGF- β 1, IGF-1, BMP-7'nin konsantrasyon değerleri ng/ml, VEGF-A'nın ise salınım düzeyi düşük olduğu için pg/ml olarak belirtilmiştir.

EDTA solüsyonu kullanılan deneysel grupların tamamında tüm büyüme faktörlerinin salınımının hem 24. saat hem de 7. günde sadece NaOCl kullanılarak irrigasyon yapılan kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Kontrol grubu gözardı edilerek EDTA solüsyonunun kullanıldığı gruplarda tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri incelendiğinde; hem 24. saat hem de 7. günde en düşük seviyede salınım düzeylerinin konvansiyonel şırınga irrigasyonu grubunda (Grup 1A) ve en yüksek seviyede salınım düzeylerinin ise PIPS ucuyla uygulanan Er:YAG aktivasyon grubunda (Grup 1C) olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

SA solüsyonunun kullanıldığı gruplarda tüm büyüme faktörlerinin hem 24. saat hem de 7. gün salınımlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri tablo 3.3' de verilmiştir.

SA solüsyonu kullanılan deneysel grupların tamamında tüm büyüme faktörlerinin salınımının hem 24. saat hem de 7. günde sadece NaOCl kullanılarak irrigasyon yapılan kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Kontrol grubu gözardı edilerek SA solüsyonunun kullanıldığı gruplarda tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri incelendiğinde; hem 24. saat hem de 7. günde en düşük seviyede salınım düzeylerinin konvansiyonel şırınga irrigasyonu grubunda (Grup 2A) ve en yüksek seviyede salınım düzeylerinin ise PIPS ucuyla uygulanan Er:YAG aktivasyon grubunda (Grup 2C) olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Tablo 3.2 EDTA solüsyonu kullanılan gruplardaki örneklerden salınan büyüme faktörlerinin aktivasyon şekillerine göre ortalama, standart sapma ve zamana bağlı değişim düzeyleri

EDTA					
	Kontrol Grubu	Aktivasyon Yok (Grup 1A)	Ultrasonik aktivasyon (Grup 1B)	Er:YAG aktivasyonu (Grup 1C)	Toplam
	ort±ss				ort±ss
TGF-β1 (ng/ml) (24.saat)	1,08±0,45 ^{A,a}	20,86±5,39 ^{A,b}	28,06±5,44 ^{A,c}	30,67±5,03 ^{A,c}	26,53±6,62 ^A
TGF-β1 (ng/ml) (7.gün)	0,95±0,33 ^{A,a}	28,45±11,88 ^{B,b}	32,35±7,81 ^{B,b}	38,64±5,43 ^{B,c}	33,15±9,49 ^B
TGF-β1 (ng/ml) (fark)	-0,13±0,16 ^a	7,6±7,77 ^b	4,29±4,03 ^b	7,97±6,4 ^b	6,62±6,27
IGF-1 (ng/ml) (24.saat)	0,11±0,05 ^{A,a}	0,8±0,29 ^{A,b}	0,91±0,21 ^{A,b,c}	0,98±0,14 ^{A,c}	0,90±0,23 ^A
IGF-1 (ng/ml) (7.gün)	0,10±0,04 ^{A,a}	0,83±0,31 ^{A,b}	1±0,22 ^{B,b,c}	1,15±0,22 ^{B,c}	0,99±0,28 ^B
IGF-1 (ng/ml) (fark)	-0,009±0,02 ^a	0,04±0,05 ^b	0,08±0,1 ^{b,c}	0,17±0,13 ^c	0,10±0,11
BMP-7 (ng/ml) (24.saat)	0,7±0,18 ^{A,a}	6,47±2,88 ^{A,b}	7,52±1,2 ^{A,b}	9,46±1,46 ^{A,c}	7,82±2,29 ^A
BMP-7 (ng/ml) (7.gün)	0,61±0,12 ^{A,a}	7,2±3,23 ^{A,b}	8,41±1,67 ^{B,b}	10,3±1,87 ^{B,c}	8,63±2,62 ^B
BMP-7 (ng/ml) (fark)	-0,08±0,18 ^a	0,72±1,21 ^b	0,89±1,16 ^b	0,84±1,08 ^b	0,82±1,11
VEGF-A (pg/ml) (24.saat)	1,97±0,66 ^{A,a}	15,22±4,9 ^{A,b}	16,07±3,74 ^{A,b}	20,62±3,99 ^{A,c}	17,3±4,75 ^A
VEGF-A (pg/ml) (7.gün)	1,86±0,65 ^{A,a}	17,1±4,96 ^{B,b}	17,09±3,15 ^{B,b}	21,76±5,47 ^{A,b}	18,65±5 ^B
VEGF-A (pg/ml) (fark)	-0,1±0,42 ^a	1,88±2,24 ^b	1,03±1,38 ^b	1,14±5,18 ^b	1,35±3,26

*Her faktör kendi sütununda değerlendirilerek büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05).

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05).

Tablo 3.3 SA solüsyonu kullanılan gruplardaki örneklerden salınan büyüme faktörlerinin aktivasyon şekillerine göre ortalama, standart sapma ve zamana bağlı değişim düzeyleri

SİTRİK ASİT					
	Kontrol Grubu	Aktivasyon yok (Grup 2A)	Ultrasonik aktivasyon (Grup 2B)	Er:YAG aktivasyonu (Grup 2C)	Toplam
	ort±ss				ort±ss
TGF-β1 (ng/ml) (24. saat)	1,08±0,45 ^{A,a}	20,13±4,18 ^{A,b}	26,18±3,92 ^{A,c}	37,86±1,96 ^{A,d}	28,06±8,21 ^A
TGF-β1 (ng/ml) (7. gün)	0,95±0,33 ^{A,a}	19,95±5,18 ^{A,b}	31,44±6,59 ^{B,c}	44,11±8,51 ^{A,d}	31,83±12,04 ^B
TGF-β1 (ng/ml) (fark)	-0,13±0,16 ^a	-0,18±3,63 ^b	5,26±6,09 ^{c,d}	6,24±9,67 ^d	3,77±7,27
IGF-1 (ng/ml) (24. saat)	0,11±0,05 ^{A,a}	0,53±0,14 ^{A,b}	0,73±0,15 ^{A,c}	1,12±0,13 ^{A,d}	0,79±0,28 ^A
IGF-1 (ng/ml) (7. gün)	0,10±0,04 ^{A,a}	0,58±0,12 ^{B,b}	0,84±0,17 ^{B,c}	1,19±0,15 ^{A,d}	0,87±0,29 ^B
IGF-1 (ng/ml) (fark)	-0,009±0,02 ^a	0,06±0,04 ^b	0,11±0,09 ^b	0,07±0,1 ^b	0,08±0,08
BMP-7 (ng/ml) (24. saat)	0,7±0,18 ^{A,a}	4,68±1,17 ^{A,b}	6,79±0,64 ^{A,c}	9,75±1,37 ^{A,d}	7,07±2,37 ^A
BMP-7 (ng/ml) (7. gün)	0,61±0,12 ^{A,a}	5,27±1,04 ^{B,b}	7,8±1,14 ^{B,c}	11,2±1,78 ^{A,d}	7,07±2,37 ^B
BMP-7 (ng/ml) (fark)	-0,08±0,18 ^a	0,59±0,81 ^b	1,02±1,1 ^b	1,45±2,65 ^b	1,02±1,7
VEGF-A (pg/ml) (24. saat)	1,97±0,66 ^{A,a}	12,69±4,08 ^{A,b}	15,93±5,9 ^{A,b}	25±3,18 ^{A,c}	17,87±6,87 ^A
VEGF-A (pg/ml) (7. gün)	1,86±0,65 ^{A,a}	13,44±4,37 ^{B,b}	17,94±7,24 ^{A,b}	27,27±3,48 ^{B,c}	19,55±7,76 ^B
VEGF-A (pg/ml) (fark)	-0,1±0,42 ^a	0,75±1,08 ^b	2,01±5,44 ^{b,c}	2,27±1,99 ^c	1,68±3,35

*Her faktör kendi sütununda değerlendirilerek büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

3.1 TGF-β1 Bulguları

EDTA ve SA solüsyonunun kullanıldığı gruplarda TGF-β1'in hem 24. saat hem de 7. gün salınım düzeylerinin aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri tablo 3.4, tablo 3.5'te, kullanılan solüsyona ve aktivasyon şekillerine göre gruplar arası karşılaştırmaları tablo 3.6'da ve tüm gruplardaki örneklerin ortalama değerlerinin grafiksel görünümü ise grafik 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.4 EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan TGF-β1 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri

EDTA				
	Aktivasyon Yok (Grup 1A)	Ultrasonik Aktivasyon (Grup 1B)	Er:YAG Aktivasyonu (Grup 1C)	Toplam
TGF-β1 ng/ml (24. saat)	20,86±5,39 ^{A,a}	28,06±5,44 ^{A,b}	30,67±5,03 ^{A,b}	26,53±6,62 ^A
TGF-β1 ng/ml (7. gün)	28,45±11,88 ^{B,a}	32,35±7,81 ^{B,a}	38,64±5,43 ^{B,b}	33,15±9,49 ^B
TGF-β1 ng/ml (fark)	7,6±7,77 ^a	4,29±4,03 ^a	7,97±6,4 ^a	6,62±6,27

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarında 24. saat ve 7. gün salınım seviyeleri arasındaki grup içi fark incelendiğinde; tüm gruplarda (Grup 1A, grup 1B, grup 1C) TGF-β1 salınım seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

24. saat ölçümlerinde aktivasyon şekillerine göre TGF-β1 salınım düzeyleri gruplar arası incelendiğinde; aktivasyon gruplarında (Grup 1B, grup 1C), aktivasyon

uygulanmayan grup 1A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülürken ($p<0.05$), aktivasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). 7. gün ölçümlerinde gruplar arası inceleme yapıldığında; konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 1A ile ultrasonik aktivasyon uygulanan grup 1B arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmezken ($p>0.05$), Er:YAG aktivasyon grubunda (Grup 1C) TGF- β 1 miktarının diğer gruplara (Grup 1A, grup 1B) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

24. saat ve 7. gün TGF- β 1 salınım düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde aktivasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

EDTA solüsyonu uygulanan gruplarda aktivasyon şekli gözardı edildiğinde; toplam 30 örneğin 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimleri incelendiğinde TGF- β 1 miktarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Tablo 3.5 SA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan TGF- β 1 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri

SA				
	Aktivasyon Yok (Grup 2A)	Ultrasonik Aktivasyon (Grup 2B)	Er:YAG Aktivasyonu (Grup 2C)	Toplam
TGF- β 1ng/ml (24.saat)	20,13 \pm 4,18 ^{A,a}	26,18 \pm 3,92 ^{A,b}	37,86 \pm 1,96 ^{A,c}	28,06 \pm 8,21 ^A
TGF- β 1ng/ml (7. gün)	19,95 \pm 5,18 ^{A,a}	31,44 \pm 6,59 ^{B,b}	44,11 \pm 8,51 ^{A,c}	31,83 \pm 12,04 ^B
TGF- β 1 ng/ml (fark)	-0,18 \pm 3,63 ^a	5,26 \pm 6,09 ^b	6,24 \pm 9,67 ^b	3,77 \pm 7,27

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

SA solüsyonu kullanılan deney gruplarında 24. saat ve 7. gün salınım seviyeleri arasındaki grup içi fark incelendiğinde; ultrasonik aktivasyon uygulanan

grup 2B'de TGF- β 1 miktarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilirken ($p<0.05$), Er:YAG aktivasyon grubu ve konvansiyonel şırınga irrigasyonu grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

24. saat ve 7. gün ölçümlerinde aktivasyon şekillerine göre TGF- β 1 salınım düzeyleri gruplar arası incelendiğinde; Er:YAG aktivasyon grubunda (Grup 2C), diğer gruplara göre (Grup 2A, grup 2B) TGF- β 1 salınım düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ultrasonik aktivasyon grubunda (Grup 2B) TGF- β 1 salınım düzeylerinin, konvansiyonel şırınga irrigasyonu grubuna göre (Grup 2A) istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

24. saat ve 7.gün TGF- β 1 salınım düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde; ultrasonik aktivasyon ve Er:YAG aktivasyon uygulanan örneklerde (Grup 2B, grup 2C) konvansiyonel şırınga irrigasyonuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilirken ($p<0.05$), aktivasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

SA solüsyonu uygulanan gruplarda aktivasyon şekli gözardı edildiğinde; toplam 30 örneğin 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimleri incelendiğinde TGF- β 1 miktarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

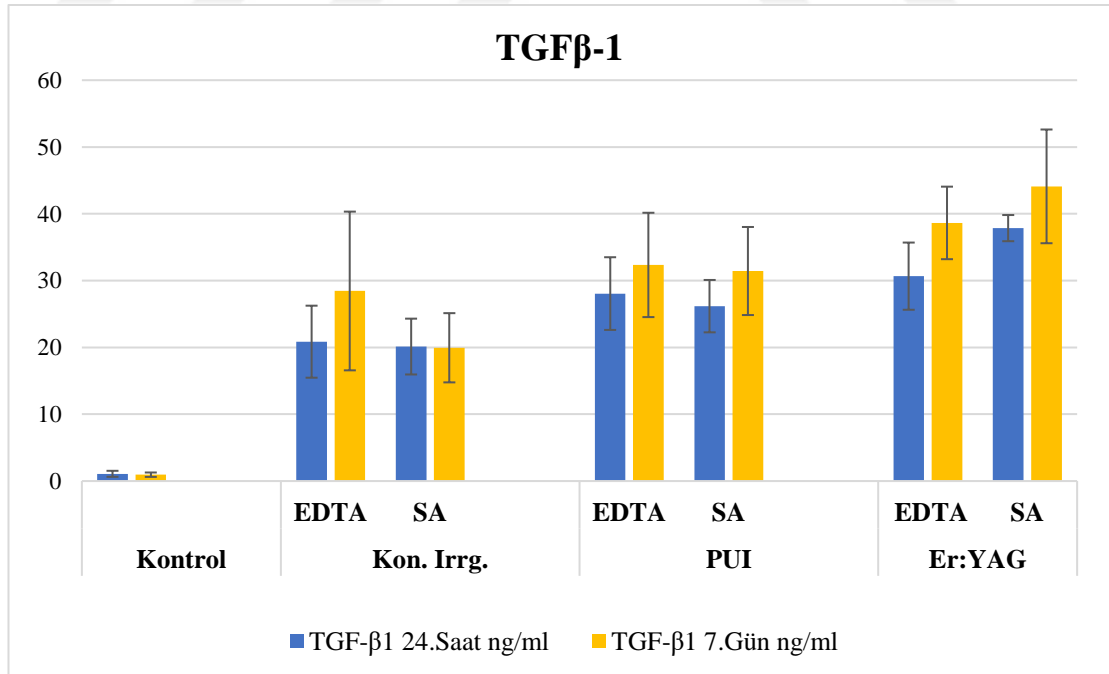
Her aktivasyon grubu kendi içinde değerlendirildiğinde 24. saat SA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C örneklerindeki TGF- β 1 seviyelerinin, EDTA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 1C örneklerindeki TGF- β 1 seviyelerinden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülürken ($p<0.05$), diğer ölçümlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir ($p>0.05$).

Tablo 3. 6 EDTA ve SA solüsyonu uygulanan deney gruplarında TGF- β 1 salınım düzeylerinin aktivasyon şekillerine göre 24. saat ve 7. günde gruplar arası karşılaştırmalarının ortalama ve standart sapmaları

		TGF- β 1 (ng/ml) 24. Saat	TGF- β 1 (ng/ml) 7. gün
Aktivasyon Yok	Grup 1A (EDTA)	20,86 \pm 5,39 ^A	28,45 \pm 11,88 ^A
	Grup 2A (SA)	20,13 \pm 4,18 ^A	19,95 \pm 5,18 ^A
Ultrasonik Aktivasyon	Grup 1B (EDTA)	28,06 \pm 5,44 ^A	32,35 \pm 7,81 ^A
	Grup 2B (SA)	26,18 \pm 3,92 ^A	31,44 \pm 6,59 ^A
Er:YAG Aktivasyonu	Grup 1C (EDTA)	30,67 \pm 5,03 ^A	38,64 \pm 5,43 ^A
	Grup 2C (SA)	37,86 \pm 1,96 ^B	44,11 \pm 8,51 ^A

* Her grup kendi içinde değerlendirildiğinde aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

Grafik 3.1 Tüm gruplardaki örneklerin TGF- β 1 salınımında gruplar arası 24. saat ve 7. gün ortalama değerlerinin grafiksel görünümü



3.2 IGF-1 Bulguları

EDTA ve SA solüsyonunun kullanıldığı gruplarda IGF-1'in hem 24. saat hem de 7. gün salınım düzeylerinin aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri tablo 3.7 ve tablo 3.8'de, kullanılan solüsyona ve aktivasyon şekillerine göre gruplar arası karşılaştırmaları tablo 3.9'da ve tüm gruplardaki örneklerin ortalama değerlerinin grafiksel görünümü ise grafik 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.7 EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan IGF-1 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri

EDTA				
	Aktivasyon Yok (Grup 1A)	Ultrasonik Aktivasyon (Grup 1B)	Er:YAG Aktivasyonu (Grup 1C)	Toplam
IGF-1 ng/ml (24. saat)	0,8±0,29 ^{A,a}	0,91±0,21 ^{A,a,b}	0,98±0,14 ^{A,b}	0,90±0,23 ^A
IGF-1 ng/ml (7. gün)	0,83±0,31 ^{A,a}	1±0,22 ^{B,a,b}	1,15±0,22 ^{B,b}	0,99±0,28 ^B
IGF-1 ng/ml (fark)	0,04±0,05 ^a	0,08±0,1 ^{a,b}	0,17±0,13 ^b	0,10±0,11

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarında 24. saat ve 7. gün salınım seviyeleri arasındaki grup içi fark incelendiğinde; Er:YAG aktivasyonu ve ultrasonik aktivasyon uygulanan gruplarda (Grup 1B, grup 1C) IGF-1 salınım düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilirken ($p<0.05$), konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 1A'da istatistiksel olarak önemli fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

24. saat ve 7. gün ölçümlerinde aktivasyon şekillerine göre IGF-1 salınım düzeyleri gruplar arası incelendiğinde; EDTA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG

aktivasyonu uygulanan grup 1C'nin, konvansiyonel şırınga irrigasyon uygulanan grup 1A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilirken ($p<0.05$), Er:YAG aktivasyon grubu ve ultrasonik aktivasyon grubu (Grup 1C, grup 1B) arasında istatistiksel olarak önemli fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Ultrasonik aktivasyon grubu (Grup 1B) ile konvansiyonel şırınga irrigasyonu grubu ölçümlerinde (Grup 1A) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

24. saat ve 7.gün IGF-1 salınım düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde; Er:YAG aktivasyon grubunda IGF-1 miktarının, konvansiyonel şırınga irrigasyonu grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$). Aktivasyon grupları (Grup 1B, grup 1C) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Konvansiyonel şırınga irrigasyon grubu ve ultrasonik aktivasyon grubu arasında zamana bağlı değişim düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

EDTA solüsyonu uygulanan gruplarda aktivasyon şekli gözardı edildiğinde; toplam 30 örneğin 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimleri incelendiğinde IGF-1 miktarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Tablo 3.8 SA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan IGF-1 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri

SA				
	Aktivasyon Yok (Grup 2A)	Ultrasonik Aktivasyon (Grup 2B)	Er:YAG Aktivasyonu (Grup 2C)	Toplam
IGF-1 ng/ml (24. saat)	0,53±0,14 ^{A,a}	0,73±0,15 ^{A,b}	1,12±0,13 ^{A,c}	0,79±0,28 ^A
IGF-1 ng/ml (7. gün)	0,58±0,12 ^{B,a}	0,84±0,17 ^{B,b}	1,19±0,15 ^{A,c}	0,87±0,29 ^B
IGF-1 ng/ml (fark)	0,06±0,04 ^a	0,11±0,09 ^a	0,07±0,1 ^a	0,08±0,08

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

SA solüsyonu kullanılan deney gruplarında 24. saat ve 7. gün salınım seviyeleri arasındaki grup içi fark incelendiğinde; ultrasonik aktivasyon uygulanan grup 2B ve konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 2A'da IGF-1 miktarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilirken ($p<0.05$), Er:YAG aktivasyon grubunda (Grup 2C) istatistiksel olarak önemli fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

24. saat ve 7. gün ölçümlerinde aktivasyon şekillerine göre IGF-1 salınım düzeyleri gruplar arası incelendiğinde; SA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C örneklerinde, konvansiyonel şırınga irrigasyon grubu (Grup 2A) ve ultrasonik aktivasyon uygulanan grup 2B örneklerine göre IGF-1 salınım düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Ultrasonik aktivasyon grubunun IGF-1 salınım düzeyleri, konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 2A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$).

24. saat ve 7.gün IGF-1 salınım düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

SA solüsyonu uygulanan gruplarda aktivasyon şekli gözardı edildiğinde; toplam 30 örneğin 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimleri incelendiğinde IGF-1 miktarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

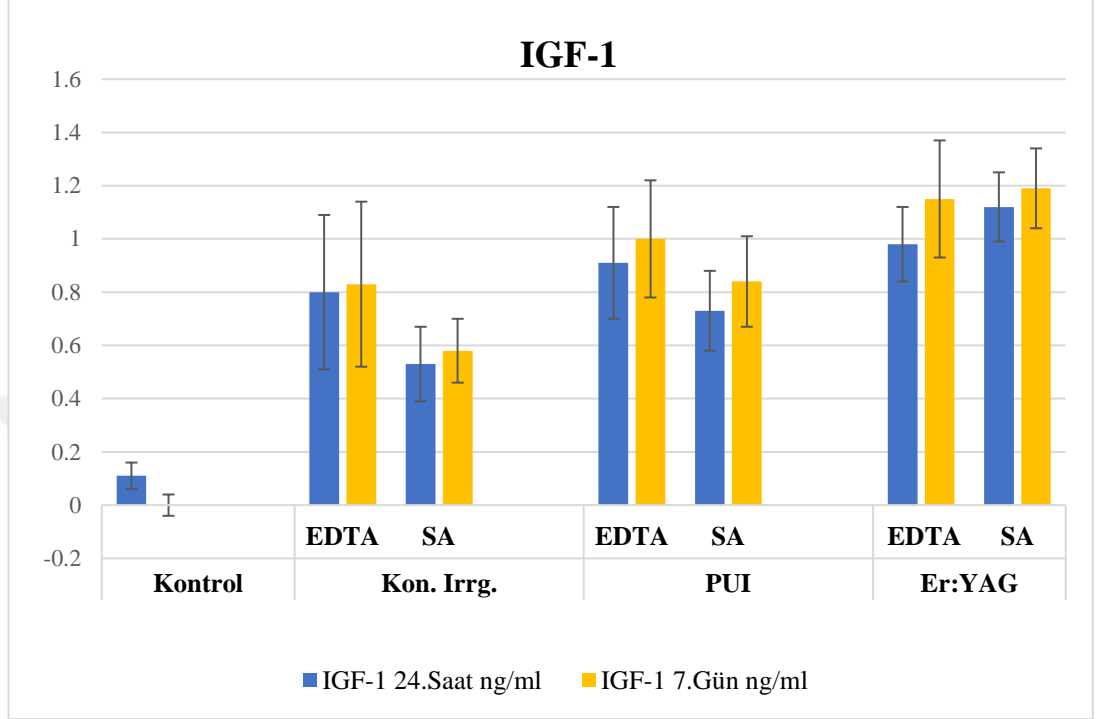
Tablo 3.9 EDTA ve SA solüsyonu uygulanan deney gruplarında IGF-1 salınım düzeylerinin aktivasyon şekillerine göre 24. saat ve 7. günde gruplar arası karşılaştırmalarının ortalama ve standart sapmaları

		IGF-1 (ng/ml) 24. saat	IGF-1 (ng/ml) 7. gün
Aktivasyon Yok	Grup 1A (EDTA)	0,8±0,29 ^A	0,83±0,31 ^A
	Grup 2A (SA)	0,53±0,14 ^B	0,58±0,12 ^B
Ultrasonik Aktivasyon	Grup 1B (EDTA)	0,91±0,21 ^A	1±0,22 ^A
	Grup 2B (SA)	0,73±0,15 ^B	0,84±0,17 ^A
Er:YAG Aktivasyonu	Grup 1C (EDTA)	0,98±0,14 ^A	1,15±0,22 ^A
	Grup 2C (SA)	1,12±0,13 ^B	1,19±0,15 ^A

* Her grup kendi içinde değerlendirildiğinde aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Her aktivasyon grubu kendi içinde değerlendirildiğinde; hem 24. saat hem de 7. günde IGF-1 düzeylerinin, EDTA solüsyonunun konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan örneklerinde, SA solüsyonunun konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). 24. saat ölçümlerinde; EDTA solüsyonunun ultrasonik aktivasyon uygulanan örneklerinde, SA solüsyonunun ultrasonik aktivasyon uygulanan örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). SA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C'de IGF-1 düzeylerinin, EDTA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 1C'ye göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilirken ($p<0.05$), 7. gün ölçümlerinde ise; ultrasonik aktivasyon ve ER:Yag aktivasyonu uygulanan gruplarda istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Grafik 3.2 Tüm gruplardaki örneklerin IGF-1 salınımında gruplar arası 24. saat ve 7. gün ortalama değerlerinin grafiksel görünümü (ng/ml)



3.3 BMP-7 Bulguları

EDTA ve SA solüsyonunun kullanıldığı gruplarda BMP-7'in hem 24. saat hem de 7. gün salınım düzeylerinin aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri tablo 3.10, tablo 3.11'de, kullanılan solüsyona ve aktivasyon şekillerine göre gruplar arası karşılaştırmaları tablo 3.12'de ve tüm gruplardaki örneklerin ortalama değerlerinin grafiksel görünümü ise grafik 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.10 EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan BMP-7 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri

EDTA				
	Aktivasyon Yok (Grup 1A)	Ultrasonik Aktivasyon (Grup 1B)	Er:YAG Aktivasyonu (Grup 1C)	Toplam
BMP-7 ng/ml (24. saat)	6,47±2,88 ^{A,a}	7,52±1,2 ^{A,a}	9,46±1,46 ^{A,b}	7,82±2,29 ^A
BMP-7 ng/ml (7. gün)	7,2±3,23 ^{A,a}	8,41±1,67 ^{B,a}	10,3±1,87 ^{B,b}	8,63±2,62 ^B
BMP-7 ng/ml (fark)	0,72±1,21 ^a	0,89±1,16 ^a	0,84±1,08 ^a	0,82±1,11

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarında 24. saat ve 7. gün salınım seviyeleri arasındaki grup içi fark incelendiğinde; ultrasonik aktivasyon ve Er:YAG aktivasyonu uygulanan gruplarda (Grup 1B, grup 1C) BMP-7 miktarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği gözlenirken ($p<0.05$), konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 1A'da istatistiksel olarak önemli fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

24. saat ve 7. gün ölçümlerinde aktivasyon şekillerine göre BMP-7 salınım düzeyleri gruplar arası incelendiğinde; PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan

grup 1C örneklerinde, ultrasonik aktivasyonun uygulandığı grup 1B ve konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 1A örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Konvansiyonel şırınga irrigasyonu ve ultrasonik aktivasyon uygulanan örneklerdeki BMP-7 seviyeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$).

24. saat ve 7.gün BMP-7 salınım düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

EDTA solüsyonu uygulanan gruplarda aktivasyon şekli gözardı edildiğinde; toplam 30 örneğin 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimleri incelendiğinde BMP-7 miktarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Tablo 3.11 SA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan BMP-7 miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri

SA				
	Aktivasyon Yok (Grup 2A)	Ultrasonik Aktivasyon (Grup 2B)	Er:YAG Aktivasyonu (Grup 2C)	Toplam
BMP-7 ng/ml (24. saat)	4,68±1,17 ^{A,a}	6,79±0,64 ^{A,b}	9,75±1,37 ^{A,c}	7,07±2,37 ^A
BMP-7 ng/ml (7. gün)	5,27±1,04 ^{B,a}	7,8±1,14 ^{B,b}	11,2±1,78 ^{A,c}	8,09±2,8 ^B
BMP-7 ng/ml (fark)	0,59±0,81 ^a	1,02±1,1 ^a	1,45±2,65 ^a	1,02±1,7

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

SA solüsyonu kullanılan deney gruplarında 24. saat ve 7. gün salınım seviyeleri arasındaki grup içi fark incelendiğinde; konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 2A ve ultrasonik aktivasyonun uygulandığı grup 2B'de BMP-7 miktarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilirken ($p<0.05$),

SA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C'de istatistiksel olarak önemli fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

24. saat ve 7. gün ölçümlerinde aktivasyon şekillerine göre BMP-7 salınım düzeyleri gruplar arası incelendiğinde; ultrasonik aktivasyon ve Er:YAG aktivasyonu uygulanan gruplarda (Grup 2B, grup 2C), konvansiyonel şırınga irrigasyonuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). BMP-7 seviyelerinin, SA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C'de; ultrasonik aktivasyon uygulanan grup 2B'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).

24. saat ve 7.gün BMP-7 salınım düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

SA solüsyonu uygulanan gruplarda aktivasyon şekli gözardı edildiğinde; toplam 30 örneğin 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimleri incelendiğinde BMP-7 miktarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

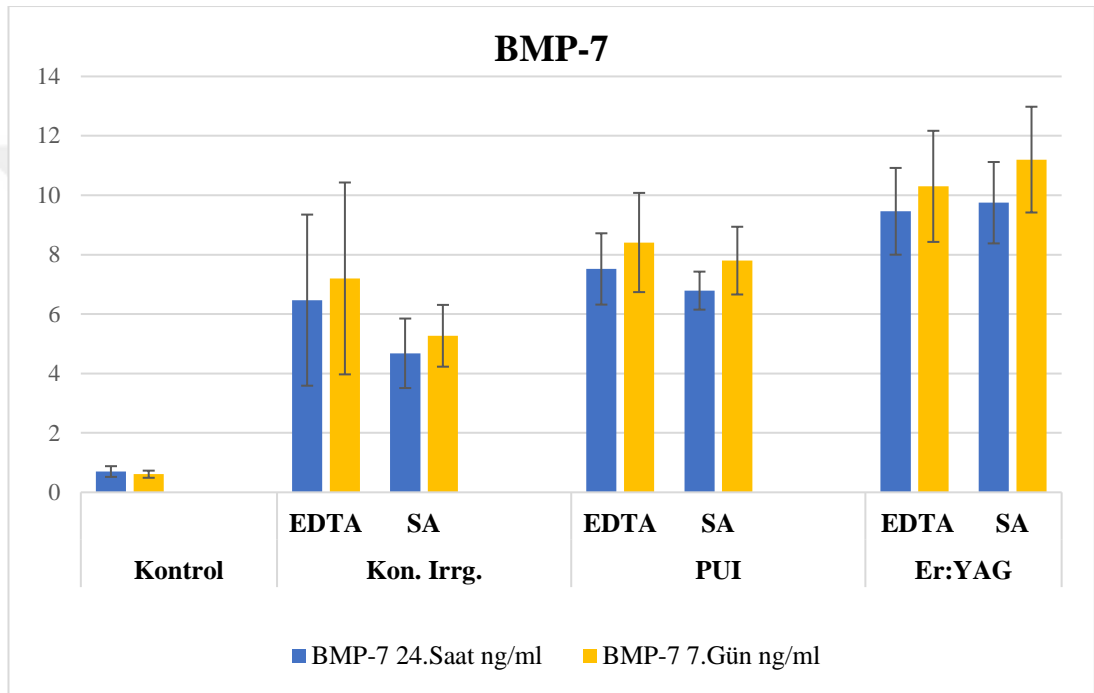
Tablo 3.12 EDTA ve SA solüsyonu uygulanan deney gruplarında BMP-7 salınım düzeylerinin aktivasyon şekillerine göre 24. saat ve 7. günde gruplar arası karşılaştırmalarının ortalama ve standart sapmaları

		BMP-7 (ng/ml) 24. saat	BMP-7 (ng/ml) 7. gün
Aktivasyon Yok	Grup 1A (EDTA)	6,47±2,88 ^A	7,2±3,23 ^A
	Grup 2A (SA)	4,68±1,17 ^A	5,27±1,04 ^A
Ultrasonik Aktivasyon	Grup 1B (EDTA)	7,52±1,2 ^A	8,41±1,67 ^A
	Grup 2B (SA)	6,79±0,64 ^A	7,8±1,14 ^A
Er:YAG Aktivasyonu	Grup 1C (EDTA)	9,46±1,46 ^A	10,3±1,87 ^A
	Grup 2C (SA)	9,75±1,37 ^A	11,2±1,78 ^A

* Her grup kendi içinde değerlendirildiğinde aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Her aktivasyon grubu kendi içinde değerlendirildiğinde; hem 24. saat hem de 7. günde BMP-7 düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

Grafik 3.3 İrrigasyon solüsyonlarının ve aktivasyon şekillerinin BMP-7 salınımında gruplar arası 24. saat ve 7. gün ortalama değerlerinin grafiksel görünümü (ng/ml)



3.4 VEGF-A Bulguları

EDTA ve SA solüsyonunun kullanıldığı gruplarda VEGF-A'nın hem 24. saat hem de 7. gün salınım düzeylerinin aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri tablo 3.13, tablo 3.14'te, kullanılan solüsyona ve aktivasyon şekillerine göre gruplar arası karşılaştırmaları tablo 3.15'de ve tüm gruplardaki örneklerin ortalama değerlerinin grafiksel görünümü ise grafik 3.4'de verilmiştir.

Tablo 3.13 EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan VEGF-A miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri

EDTA				
	Aktivasyon Yok (Grup 1A)	Ultrasonik Aktivasyon (Grup 1B)	Er:YAG Aktivasyonu (Grup 1C)	Toplam
VEGF-A pg/ml (24. saat)	15,22±4,9 ^{A,a}	16,07±3,74 ^{A,a}	20,62±3,99 ^{A,b}	17,3±4,75 ^A
VEGF-A pg/ml (7. gün)	17,1±4,96 ^{B,a}	17,09±3,15 ^{B,a}	21,76±5,47 ^{A,a}	18,65±5 ^B
VEGF-A pg/ml (fark)	1,88±2,24 ^a	1,03±1,38 ^a	1,14±5,18 ^a	1,35±3,26

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

EDTA solüsyonu kullanılan deney gruplarında 24. saat ve 7. gün salınım seviyeleri arasındaki grup içi fark incelendiğinde; konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 1A ve ultrasonik aktivasyonun uygulandığı grup 1B'de VEGF-A miktarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilirken ($p<0.05$), EDTA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 1C'de istatistiksel olarak önemli fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

24. saat aktivasyon şekillerine göre VEGF-A salınım düzeyleri gruplar arası incelendiğinde; EDTA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 1C’de VEGF-A miktarının, ultrasonik aktivasyon uygulanan grup 1B ve konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 1A’dan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ultrasonik aktivasyon uygulanan grup 1B ile konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 1A arasında istatistiksel olarak önemli fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). 7. gün ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

24. saat ve 7.gün VEGF-A salınım düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

EDTA solüsyonu uygulanan gruplarda aktivasyon şekli gözardı edildiğinde; toplam 30 örneğin 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimleri incelendiğinde VEGF-A miktarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Tablo 3.14 SA solüsyonu kullanılan deney gruplarındaki örneklerden salınan VEGF-A miktarlarının aktivasyon şekilleri ve zamana bağlı değişim düzeyleri

SA				
	Aktivasyon Yok (Grup 2A)	Ultrasonik Aktivasyon (Grup 2B)	Er:YAG Aktivasyonu (Grup 2C)	Toplam
VEGF-A pg/ml (24. saat)	12,69±4,08 ^{A,a}	15,93±5,9 ^{A,a}	25±3,18 ^{A,b}	17,87±6,87 ^A
VEGF-A pg/ml (7. gün)	13,44±4,37 ^{B,a}	17,94±7,24 ^{A,a}	27,27±3,48 ^{B,b}	19,55±7,76 ^B
VEGF-A pg/ml (fark)	0,75±1,08 ^a	2,01±5,44 ^{a,b}	2,27±1,99 ^b	1,68±3,35

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

SA solüsyonu kullanılan deney gruplarında 24. saat ve 7. gün salınım seviyeleri arasındaki grup içi fark incelendiğinde; konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 2A ve SA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C'de VEGF-A miktarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilirken ($p<0.05$), ultrasonik aktivasyonun uygulandığı grup 2B'de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

24. saat ve 7. gün ölçümlerinde aktivasyon şekillerine göre VEGF-A salınım düzeyleri gruplar arası incelendiğinde; SA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C örneklerinde; ultrasonik aktivasyon uygulanan grup 2B ve konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 2A örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Ultrasonik aktivasyonun uygulandığı grup 2B ile konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grup 2A arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

24. saat ve 7.gün VEGF-A salınım düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak incelendiğinde; PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C örneklerinde VEGF-A miktarının, konvansiyonel şırınga irrigasyonuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Ultrasonik aktivasyon (Grup 2B) ve konvansiyonel şırınga irrigasyonunu uygulanan grup 2A arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C ve ultrasonik aktivasyon uygulanan grup 2B arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

SA solüsyonu uygulanan gruplarda aktivasyon şekli gözardı edildiğinde; toplam 30 örneğin 24. saat ve 7. gün ölçümlerinin zamana bağlı değişimleri incelendiğinde VEGF-A miktarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

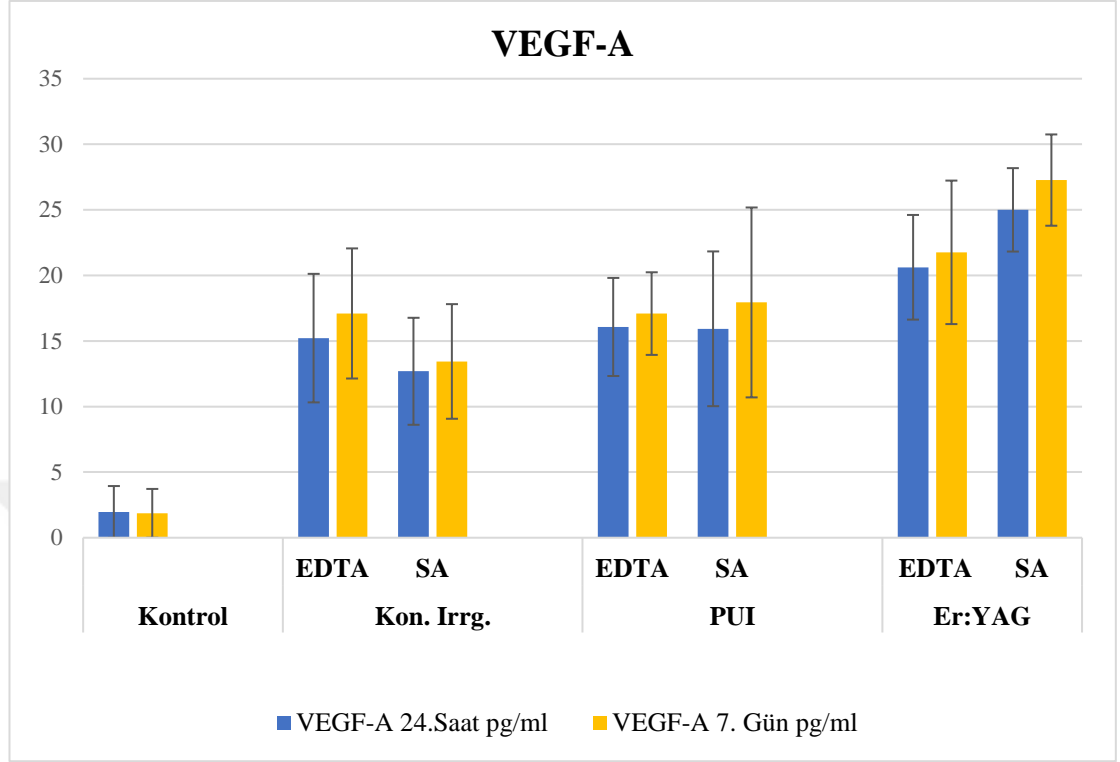
Tablo 3.15 EDTA ve SA solüsyonu uygulanan deney gruplarında VEGF-A salınım düzeylerinin aktivasyon şekillerine göre 24. saat ve 7. günde gruplar arası karşılaştırmalarının ortalama ve standart sapmaları

		VEGF-A (pg/ml) 24. saat	VEGF-A (pg/ml) 7. gün
Aktivasyon Yok	Grup 1A (EDTA)	15,22±4,9 ^A	17,1±4,96 ^A
	Grup 2A (SA)	12,69±4,08 ^A	13,44±4,37 ^B
Ultrasonik Aktivasyon	Grup 1B (EDTA)	16,07±3,74 ^A	17,09±3,15 ^A
	Grup 2B (SA)	15,93±5,9 ^A	17,94±7,24 ^A
Er:YAG Aktivasyonu	Grup 1C (EDTA)	20,62±3,99 ^A	21,76±5,47 ^A
	Grup 2C (SA)	25±3,18 ^B	27,27±3,48 ^B

* Her grup kendi içinde değerlendirildiğinde aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Her aktivasyon grubu kendi içinde değerlendirildiğinde; 24. saat ölçümlerinde SA solüsyonuna PIPS ucuyla Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 2C örneklerinde VEGF-A seviyesinin; EDTA solüsyonuna Er:YAG aktivasyonu uygulanan grup 1C örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirlenirken ($p<0.05$), ultrasonik aktivasyon ve konvasiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). 7. gün ölçümlerinde EDTA solüsyonunun konvasiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grubunda VEGF-A salınım düzeylerinin, SA solüsyonunun konvasiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). SA solüsyonunun Er:YAG aktivasyonu uygulanan örneklerinde VEGF-A miktarının, EDTA solüsyonunun Er:YAG aktivasyonu uygulanan örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edilirken ($p<0.05$), EDTA ve SA solüsyonlarına ultrasonik aktivasyon uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

Grafik 3.4 İrrigasyon solüsyonlarının ve aktivasyon şekillerinin VEGF-A salınımında gruplar arası 24. saat ve 7. gün ortalama değerlerinin grafiksel görünümü



4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Çürük ya da travma nedeniyle gelişimi kesintiye uğramış immatür dişlerin apikal papillasında bakteriyel biyofilm kolonizasyonu sonucu canlı hücre sayısı ve hücre aktivitesinde azalma görülmektedir. Hertwig epitelyal kök kılıfının bütünlüğü bozulmakta veya tamamen yok olmaktadır (Ricucci ve ark. 2017). Kök gelişiminin kesintiye uğradığı bu dişlerde açık apeks ve ince dentin duvarları nedeniyle uzun dönemde kök kırığı riski artmaktadır (Nagata ve ark. 2014). Ca(OH)₂'le uzun süreli apeksifikasyon ve MTA ile yapılan tek seans apeksifikasyonun yerini güncel olarak uygulanmaya başlayan rejeneratif endodontik tedavi almıştır. Bu prosedürde amaç; gelişimi durmuş dentin ve kök yapısının gelişiminin tekrar sağlanmasının yanı sıra, pulpa hücrelerini de içeren pulpa-dentin kompleksinin yerine konulmasıdır (Murray ve ark. 2007).

Dentin-pulpa kompleksinin onarımı ve rejenerasyonu; kök hücrelerinin kemotaksisi, anjiyojenik ve nörojenik hücrel olaylar sonucu mineralizasyonun başlamasıyla görülmektedir. Başarılı bir rejenerasyon tedavisi için kök hücre, uygun iskele ve büyüme faktörlerinin optimal seviyelerde olması gerekmektedir. Gelişmiş damar ve sinir ağı desteği pulpanın yenilenmesi ve fonksiyonunun devamı için gereklidir. Kök hücrelerinin farklılaşma evresinden sonra sekresyon fazı için yeterli besin kaynağının sağlanması ve metabolizma artıklarının uzaklaştırılması için anjiyogenezisin çok önemli olduğu kabul edilmektedir (Begue-Kirn ve ark. 1994). Pulpa nekrozundan sonra dentine kimyasal solüsyonların uygulanması, dentin matriksinde çökelmiş halde bulunan çeşitli proanjiyojenik büyüme faktörlerini serbestleştirebilir (Roberts-Clark ve Smith 2000). Bu faktörlerin lokal artışları ve proanjiyojenik aktiviteleri, rejenerasyonu desteklemektedir. Aynı zamanda dentin matriksindeki, TGF- β ve BMP ailesinin etkisiyle odontoblastların farklılaşması sonucu apikal kapanmanın ve pulpal onarımın sağlandığı bilinmektedir (Butler ve ark. 1977, Bessho ve ark. 1990, Sloan ve ark. 2001). Çeşitli sitokinler, kemokinler,

ECM proteinleri, biyoaktif peptitler ve dentinde durgun halde bulunan büyüme faktörlerinin rejenerasyondaki rolleri üzerine birçok çalışma yapılmaktadır. Bugüne kadar önemli araştırmalarda, dentin-pulpa rejenerasyonundaki moleküllerin tek tek biyolojik etkileri araştırılmıştır. Doku hasarı olan mikroçevrede, çok sayıda biyoaktif molekülün lokal çözünmesi gerekmektedir. Bu nedenle, bu moleküllerin birlikte bulunduğu ortamdaki sinerjistik etkilerinin, araştırmaların yapıldığı gibi ayrı ayrı mevcut oldukları ortamlarda verecekleri reaksiyonlardan önemli ölçüde farklı olabileceği bilinmelidir (Simon ve ark. 2010). Vital dental pulpanın yapısında çok çeşitli biyoaktif moleküller bulunmasına rağmen, bu moleküller nekroze olan pulpada bulunmaz. Bu nedenle dentin matriksi, rejenerasyonda önemli rol oynayan büyüme faktörleri ve diğer biyoaktif moleküllerin rezervuarı olarak düşünülebilir (Smith ve ark. 2016).

Enflamasyonun neden olduğu asidik ortam biyoaktif moleküllerin salınımını artırmaktadır (Smith ve ark. 2016). Aynı zamanda endodontide kullanılan irrigasyon solüsyonları, dezenfektanlar ve medikamentler de büyüme faktörlerinin salınımını etkilemektedir (Zhao ve ark. 2000, Galler ve ark. 2015, Smith ve ark. 2016). NaOCl irrigasyonunun, kollajeni çözme özelliğiyle dentin tabakasında dejenerasyona neden olduğu, dentine bağlanma kuvvetini azalttığı (Frankenberger ve ark. 2000), yüksek konsantrasyonlarının periapikal dokular ve kök hücreler için toksik etkili olduğu bilinmektedir (Essner ve ark. 2011). CHX'nin %0,12'lik ve %2'lik konsantrasyonlarıyla yapılan çalışmalarda; konsantrasyon ve uygulama zamanının artmasının kök hücreler için sitotoksik olduğu (Trevino ve ark. 2011) ve kök hücrelerinin dentine bağlanmasını olumsuz yönde etkilediği gözlenmiştir (Ring ve ark. 2008). EDTA gibi şelasyon ajanlarının kullanımıyla dentin matriksinden çözünen biyoaktif moleküllerin, kök hücrelerin farklılaşmasını sağlayarak dentin duvarlarına migrasyonunu ve adezyonunu artırdığı belirtilmiştir (Galler ve ark. 2016).

Daha önce dentinde durgun halde bulunan büyüme faktörlerinin şelasyon ajanlarının etkisiyle salınım düzeylerini araştıran birçok çalışma olmasına rağmen (Gonçalves ve ark. 2016, Chae ve ark. 2018, Deniz Sungur ve ark. 2019, Ivica ve ark. 2019), birçok faktörün aynı anda araştırıldığı az sayıda çalışma (Galler ve ark. 2015, Zeng ve ark. 2016, Atesci ve ark. 2020) mevcuttur. İrrigasyon aktivasyonunun uygulanarak büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin değerlendirildiği sadece bir

çalışma (Widbiller ve ark. 2017) bulunmaktadır. Bu araştırmada farklı irrigasyon aktivasyon tekniklerinin aynı anda birden fazla büyüme faktörlerinin salınımına etkisinin değerlendirilmesi düşünülmüştür.

EDTA ve SA irrigasyonunun dentin matriksinden büyüme faktörlerinin salınımını artırdığı gösterilmiştir (Chae ve ark. 2018, Deniz Sungur ve ark. 2019, Atesci ve ark. 2020). Yapılan çalışmalarda; 4 farklı şekilde dentin kesiti hazırlanarak şelasyon ajanları uygulanıp büyüme faktörü salınım düzeyleri ölçülmüştür. Bu çalışmalarda; tüm yüzeylerinden salınım gerçekleşebilen standart çaplarda hazırlanmış koronal dentin diskleri (Galler ve ark. 2015, Atesci ve ark. 2020), salınımın en üst düzeyde olabileceği şekliyle dentinin toz hali (Finkelman ve ark. 1990, Roberts-Clark ve Smith 2000), 8-10 mm boyutunda silindirik kök segmentleri (Chae ve ark. 2018) veya kök formuna benzeyen konik kök segmentleri (Zeng ve ark. 2016, Widbiller ve ark. 2017) kullanılmıştır. Dentin diskleri ve dentinin toz haline getirilmesi endodontinin klinik uygulamalarına uygun değildir, çünkü klinik uygulamada salınım sadece kök dentinin iç yüzeyinden gerçekleşmektedir. Silindirik kök segmentleri klinik uygulamaya daha yakın olsa da, kök segmentleri arasındaki hacim farkı büyüme faktörlerinin salınım düzeyini etkilemektedir. Bu çalışmada salınım düzeylerinin değerlendirilmesi için; standart uzunlukta konik kök segmentleri hazırlanıp, tüm dış kök yüzeyleri oje ile kaplanarak sadece iç kök dentini açıkta bırakılmıştır.

Yapılan çalışmalarda; kök segmentlerinin preparasyonu sırasında gates glidden frezleri (Chae ve ark. 2018), döner alet eğeleri (Widbiller ve ark. 2017) ve el eğeleri kullanılmıştır (Zeng ve ark. 2016). Rejeneratif endodonti klinik uygulamalarında döner alet eğeleri zaten ince olan dentin duvarları nedeniyle hiç kullanılmamakta ya da el eğeleriyle minimal preparasyon yapılmaktadır. Ayrıca döner alet eğelerinin kök kanalının şekillendirmesi sırasında el eğelerine göre daha fazla smear tabakası oluşturduğu bilinmektedir (Manjunatha ve ark. 2013, Reddy ve ark. 2014). Bu nedenle bu çalışmada klinik uygulamalara uygun olması nedeniyle el eğeleri kullanılmıştır. Klinik vaka serileri üzerinde yapılan incelemelerde hastanın yaşı, pulpa nekrozunun etiyojisi ve periapikal radyolüsensinin boyutu gibi birçok etkenin yanında apikal çapın boyutunun da önemli olduğu görülmüştür. 0.5-1 mm apikal çaplara sahip dişlerde rejenerasyonun başarı oranının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Fang ve ark. 2018). Bundan dolayı bu çalışmada kritik apikal

açıklık (Huang 2011) göz önüne alınarak #100 nolu el eğesine kadar genişletme yapılmıştır.

Organik dokuyu çözmek için dentin diskleri kullanılan çalışmalardan birinde herhangi bir solüsyon kullanıldığı belirtilmemiş (Ivica ve ark. 2019), diğer bir çalışmada ise %5.25 NaOCl veya %0.12 CHX'de beklettikten sonra şelasyon ajanları uygulandığı tespit edilmiştir (Galler ve ark. 2015). Silindirik kök segmenti kullanılan bir çalışmada 20 ml %1.5 NaOCl irrigasyonu yapılmıştır (Chae ve ark. 2018). Konik kök segmenti kullanılan çalışmada ise; şelasyon ajanlarından önce %1.5 ve %2.5 konsantrasyonlarda NaOCl irrigasyonu yapılmıştır (Zeng ve ark. 2016). Konik kök segmenti kullanılan bir başka çalışmada ise; döner alet eğeleri arasında %0.9 saline solüsyonu kullanılmış, fakat NaOCl'le herhangi bir irrigasyon yapılmamıştır (Widbiller ve ark. 2017). NaOCl'in yüksek dozlarının kök hücreler için oldukça toksik olması nedeniyle çalışmamızda; kritik apikal açıklığın sağlanabilmesi için yapılan preparasyon aşamasında eğeler arası debrisin temizlenmesi amacıyla %0.9 saline solüsyonu ve preparasyon işleminin bitiminde klinik uygulamaya benzetmek için 20 ml %1.5 NaOCl irrigasyonu yapılmıştır.

Çalışmalarda ELISA yöntemiyle değerlendirme yapmak için; EDTA, deiyonize su, PBS, α -MEM gibi farklı solüsyonlar kullanılmıştır (Roberts-Clark ve Smith 2000, Galler ve ark. 2015, Zeng ve ark. 2016, Widbiller ve ark. 2017, Chae ve ark. 2018). Büyüme faktörlerinin protein yapıda olduğu bilinmektedir. Proteinlerin denatürasyonunu minimum seviyede tutabilecek (pH~7.3) dengeli bir ortam olması nedeniyle bu çalışmada kök segmentlerinde büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin değerlendirilmesi için PBS ortamında muhafaza edilmiştir (Solutions 2000).

Çalışmalarda genellikle; büyüme faktörlerinin salınım düzeylerine 3 farklı zaman diliminde bakılmıştır. Şelasyon ajanlarında bekletildikten hemen sonra (Galler ve ark. 2015), irrigasyonu takiben 24. saatte (Chae ve ark. 2018), başka bir çalışmada ise 24. saat ve 3. günde (Zeng ve ark. 2016) elde edilen salınım düzeyleri ölçülmüştür (Widbiller ve ark. 2017). Dentin disklerinin bekletildiği şelasyon ajanlarını içeren solüsyonlardan değerlendirme yapmak klinik uygulamadan farklıdır; çünkü elde edilen sonuç irrigasyon sırasında elde edilen değerlerdir. Klinik uygulamalarda ise irrigasyonunun bitiminde apikal kanamanın uyarılmasıyla

gerçekleşen büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri rejenerasyonun başarısına etki etmektedir. Rejenerasyon sırasında kök hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu, differansiyasyonu ve adezyonu için büyüme faktör salınımının uzun süreli ve optimal seviyelerde kalması önemlidir. Bu çalışmada; 24. saat ve 7. gün gibi uzun zaman aralığı seçilerek büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri ve zamana bağlı olarak değişimleri değerlendirilmiştir. Literatürde büyüme faktörlerinin bu yöntemle değerlendirildiği bir çalışma henüz yoktur.

Yapılan çalışmalarda genellikle; büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri örneklerin bekletildiği çözelti hacmine göre hesaplanmıştır. Büyüme faktörlerinin konsantrasyonları ELISA yöntemi ile hesaplanırken, ELISA için toplanan çözelti hacmi (en az 0.1 ml/= 100 mm³) kullanılmaktadır (Finkelman ve ark. 1990, Roberts-Clark ve Smith 2000, Galler ve ark. 2015), fakat kök kanal boşluğunun hacmi önemli ölçüde daha küçüktür. Salınım seviyelerini kök pulpasının iç hacmi etkilemektedir. Bu durumun dikkate alındığı bir çalışmada; kök segmentlerinin CBCT ile koronal çap, apikal çap ve uzunlukları belirlenip, kesik koni formülü yardımıyla hacimleri hesaplanmıştır. Her kök segmentinin ayrı ayrı hacim hesaplaması yapılarak birim kök hacmindeki büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri tespit edilmiştir (Zeng ve ark. 2016). Bu çalışmada da benzer şekilde kök hacimleri esas alınarak hesaplama yapılmıştır. Kök kanal hacimleri kullanılarak elde edilen konsantrasyonlar önceden rapor edilen çalışmalardan daha yüksektir ve bu sonuçlar klinik uygulamalarla daha uyumlu olabilir.

TGF- β 1, odontoblast farklılaşması ve odontoblastlarda non-kollajen yapıdaki DSPP ve DMP-1 salgılanmasında önemli role sahiptir (Unterbrink ve ark. 2002, Begue-Kirn ve ark. 2004). IGF-1'in ALP aktivitesini artırarak mineralizasyon ve hücre farklılaşmasında etkin rol oynadığı bilinmektedir (Chenu ve ark. 1990, Caviedes-Bucheli ve ark. 2009). BMP-7'nin kalsifiye doku oluşumu sırasında BSP üretimini düzenlediği ve odontoblast benzeri farklılaşmayı indüklediği rapor edilmiştir (Yamashiro ve ark. 2003, Lin ve ark. 2007). VEGF-A ise bilinen en güçlü pro-anjiojenik faktördür, bu etkisini endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu artırarak sağlar (Vural , Mullane ve ark. 2008). Ayrıca IGF-1'in, VEGF-A ve BMP-7 ile sinerjistik etkileşimi olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Senger ve ark. 1983, Reible ve ark. 2018). Rejenerasyondaki bu

önemli etkileri nedeniyle bu çalışmada; kök segmentlerinin iç dentin yüzeyinden TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A'nın salınım düzeyleri araştırılmıştır.

Bu bilgilerin ışığında sunulan bu çalışmada; büyüme faktörleri TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A'nın %17 EDTA ve %10 SA'nın aktivasyon uygulanmadan, ultrasonik ve PIPS ucuyla Er:YAG lazer aktivasyonu uygulanarak 24. saat ve 7. günde salınım düzeylerine bakılmış ve iki ölçüm düzeyleri arasında anlamlı artış olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Zeng ve ark. (2016) çalışmalarında; %17 EDTA, %1,5 NaOCl + %17 EDTA ve %2,5 NaOCl + %17 EDTA kullanmışlar ve kök segmentlerinin CBCT ile birim kök hacimlerini dikkate alarak 24. saat ve 3. günde TGF- β 1 salınım düzeylerini değerlendirmişlerdir. En yüksek düzeyde salınım seviyelerinin %1,5 NaOCl + %17 EDTA irrigasyonu uygulanan deney grubunda olduğu belirtilmiştir. 3. gün değerlendirmelerinde ise TGF- β 1 salınım düzeylerinin belirgin bir şekilde azaldığı ve hücre migrasyonunu indükleyebilen TGF- β 1 doz aralığının 2-90 ng/ml olduğu rapor edilmiştir. NaOCl'in smear tabakasındaki organik dokuyu çözdüğü ve dentin tübüllerini açığa çıkardığı bilindiğinden (Gowda ve Mohan Das 2012) elde edilen bu sonuç, NaOCl ve EDTA'nın art arda uygulanmasından sonra TGF- β 1'in daha yüksek salınımının olası bir nedeni olabilir. Çalışmamızda da tüm kök segmentlerine %1.5 NaOCl irrigasyonu sonrasında, %17 EDTA irrigasyonunun uygulandığı deney grubumuzda TGF- β 1 seviyelerinin yüksek çıkması bu sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Araştırmacıların 3. gün sonuçlarına benzer olarak 7. gün TGF- β 1 salınım düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalsa da elde edilen TGF- β 1 seviyeleri, DPSC'lerin migrasyonu için belirtilen doz aralığındadır.

Bir başka çalışmada; dentin diskleri ilk olarak 5 ve 10 dk. boyunca %5.25 NaOCl veya %0.12 CHX'de, sonrasında da %10, %17 EDTA ve %10 SA solüsyonlarında bekletilmiştir. Bekletilen solüsyonlarda ELISA yöntemiyle TGF- β 1 seviyeleri değerlendirilmiştir (Galler ve ark. 2015). NaOCl'in uygulama süresinin artırılmasının büyüme faktörlerin salınımını olumsuz yönde etkilediği, EDTA irrigasyon süresinin artırılmasının ise salınım düzeylerini artırdığı görülmüştür SA solüsyonu kullanılan gruplarda TGF- β 1'in salınım düzeylerinin EDTA'ya göre düşük olduğu belirtilmiştir. Araştırmacıların sonuçları bu çalışmanın sonuçlarıyla

çelişmektedir. EDTA ve SA solüsyonuna aktivasyon uygulanmayan örneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Chae ve ark.'ları (2018) yaptıkları çalışmada; 8 mm. boyutunda silindirik kök segmentlerinde %17 EDTA, %10 SA, %10 ve %37 fosforik asit solüsyonları kullanarak TGF- β 1 salınım düzeylerini incelemiştir. TGF- β 1 miktarının %10 SA irrigasyonu yapılan kök segmentlerinde diğer tüm solüsyonlardan anlamlı düzeyde yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacıların elde ettikleri sonuçlar bu çalışmanın sonuçlarıyla çelişmektedir. Bunun nedeni Chae ve ark.'larının (2018), salınım düzeylerinin değerlendirilmesi sırasında kök segmentlerinin birim hacimlerini dikkate almaması olabilir.

Rejeneratif endodontide; kök hücrelerinin kök kanalına girdikten sonra, differansiye olmaları, migrasyon göstermeleri ve dentin duvarlarına adezyonları önemli bir aşamadır (Zeng ve ark. 2016). Hücrelerin, özellikle ECM proteinlerinin biyokimyasal özelliklerini algılamak için integrin reseptör aracılı sinyal yollarını kullanarak buldukları ortama göre yanıt verdikleri bilinmektedir (Larsen ve ark. 2006). Biyoaktif moleküllerin DPSC'lerin migrasyonunu nasıl etkilediği tam olarak bilinmemekle birlikte, lamininin odontoblastların farklılaşması için gereken önemli bir ECM proteini olduğu bildirilmiş ve 10 ng/ml TGF- β 1'in DPSC'lerin laminine migrasyonunu etkili bir şekilde indükleyebileceği belirtilmiştir (Howard ve ark. 2010). Bu çalışmada da her iki şelasyon ajanıyla elde edilen TGF- β 1 salınım seviyelerinin kök hücrelerin indüklenebilmesi için yeterli konsantrasyonlarda olduğu gözlenmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada (Atesci ve ark. 2020); %17 EDTA, %10 SA, %1 fitik asit ve %37 fosforik asit kullanılarak dentin disklerinden TGF- β 1, BMP-2, FGF-2 ve VEGF-A salınım düzeyleri değerlendirilmiştir. Dentin diskleri EDTA, SA, fitik asitte 5 dk. fosforik asitte 30 sn. bekletilip, kök hücre içeren ve kök hücre içermeyen iki ana gruba ayrılmıştır. VEGF-A salınım düzeylerinin, TGF- β 1 salınım düzeylerine göre çok düşük olduğu gözlenmiştir. Kök hücre içermeyen deney gruplarında en yüksek TGF- β 1 seviyesi SA grubunda görülürken, kök hücre içeren deney grubunda en yüksek salınım düzeylerinin fosforik asit grubunda olduğu tespit edilmiştir. Kök hücrelerinin de TGF- β 1 seviyelerini yükseltebileceği rapor edilmiştir. Bu çalışmada VEGF-A salınım düzeylerinin düşük seviyelerde olması

araştırmacıların bu sonuçlarıyla benzerlik gösterirken, TGF- β 1 salınım düzeylerinin sonuçları çelişmektedir. Çalışmamızda, EDTA ve SA'nın aktivasyon uygulanmayan gruplarında TGF- β 1 seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Bu çelişkinin sebebi; Atesci ve ark.'larının ELISA yöntemiyle salınım düzeylerini değerlendirirken dentin disklerini toz haline getirmesi olabilir.

Isıya duyarlı hidrojelde DPSC'lerin 3 boyutlu hücre yapı sisteminde üretilip, kök kanalına yerleştirilerek mineralizasyon ve damarlanma süreci incelendiğinde (Itoh ve ark. 2018), odontoblastlar tarafından salgılanan DSPP'nin 5-10. günden itibaren görölmeye, mineralize matrikslerin ise 20. günden itibaren çökelmeye başladığı gözlenmiştir. Pulpa rejenerasyonunda; erken damarlanma evresini sağlamının çok önemli olduğu bilinmektedir. Damarlanmanın en önemli faktörü olan VEGF (Sakai ve ark. 2010) ve vasküler endotel hücrelerinin (Dissanayaka ve ark. 2015) birlikte yerleştirildiği bir çok araştırma yapılmıştır. VEGF'nin rejenerasyondaki rolünün araştırıldığı bir başka çalışmada ise; dentin diskleri %10 EDTA solüsyonunda bekletildikten sonra VEGF ve SHEDs'lerle birlikte farelere implante edilmiştir. Bunu takiben odontoblastik farklılaşmanın gerçekteleştiği ve 21. günde kapiller damarların oluşumunun göröldüğü belirtilmiştir. Rejenerasyon sırasında; hücrelere O₂, besin transportu ve hücrelerdeki metabolizma artıklarının uzaklaştırılması için damarlanmanın önemli olduğu rapor edilmiştir (Itoh ve ark. 2018). Yapılan başka çalışmalarda da ölçülebilir VEGF-A seviyelerinin oldukça düşük olduğu gözlenmiştir (Galler ve ark. 2015, Sadaghiani ve ark. 2016, Zeng ve ark. 2016). Elde edilen bu değerler, yarılanma ömrünün kısa olmasına bağlı olabilir (Roberts-Clark ve Smith 2000, Eppler ve ark. 2002). Çalışmamızda değerlendirdiğimiz büyüme faktörleri arasında 24. saat ve 7. günde en düşük salınım düzeyleri VEGF-A'da ölçölmüştür. Bu sonuç diğer araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Zeng ve ark. (2016); dentinde, TGF- β 1, VEGF-A salınım düzeylerinin ölçölebildiğini, IGF-1'in ise belirlenemediğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda; IGF-1, TGF- β 1'e oranla çok daha düşük seviyede olsa da EDTA ve SA uygulanan tüm deney gruplarında ölçölebilmüştir. Bu farklı sonuçlar kullanılan ELISA kitlerinin duyarlılık farkından kaynaklanabilir.

Finkelman ve ark. (1990), kemik ve dentin dokusunda IGF-1, IGF-2 ve TGF- β 1 seviyelerini araştırmışlar ve IGF-1'in dentin dokusunda kemik dokusuna göre çok düşük konsantrasyonlarda bulunduğunu rapor etmişlerdir. Rejeneratif tıp alanında yapılan bir çalışmada; mezenşimal kök hücrelerinin osteojenik farklılaşmasında IGF-1 ve BMP-7 salınım seviyelerinin etkileri incelenmiştir. IGF-1'in BMP-7'ye göre salınım düzeylerinin daha düşük olduğu, BMP-7'nin uzun süreli salınımının her zaman mümkün olmadığı ve IGF-1'in tamir sürecinin erken döneminde bile lokal olarak retilerildiği gözlenmiştir. IGF-1'in düşük konsantrasyonlarının osteojenik farklılaşmayı gerçekleştirebilmek için yeterli olduğu ve osteojenik potansiyelinin yüksek olmasının BMP-7'ye göre umut verici bir alternatif olabileceği rapor edilmiştir (Reible ve ark. 2018). Bu bilgiler doğrultusunda osteojenik rejenerasyon tedavilerinde IGF-1 ve BMP-7'nin sinerjistik etkileşim içinde olabileceği düşünülebilir. Bu çalışmada da elde edilen BMP-7'ye göre daha düşük IGF-1 seviyeleri araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Rejeneratif endodonti uygulamalarında, irrigasyon solüsyonlarının etkisiyle BMP-7 salınım düzeyleri hakkında elde ettiğimiz değerleri karşılaştırabileceğimiz henüz bir araştırma bulunmamaktadır.

Büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin değerlendirilmesinde; ultrasonik aktivasyon uygulanan sadece bir çalışma mevcuttur. Bu alışmada; %10 EDTA solüsyonu kullanılarak ultrasonik aktivasyon uyguladıkları dentin disklerinde ve kök segmentlerinde ELISA yöntemi ile TGF- β 1 seviyelerinin ölümü yapılmış ve (Widbiller ve ark. 2017) TGF- β 1 salınım düzeylerinin aktivasyonla arttığı belirtilmiştir. Çalışmamızın sonuçları, bu araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

EDTA solüsyonunun ultrasonik aktivasyonu ile elde edilen IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A değerlerini karşılaştırılabileceğimiz herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca literatürde EDTA solüsyonuna Er:YAG lazer aktivasyonu ve SA solüsyonuna aktivasyon teknikleri uygulanarak büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmaya da rastlanmamıştır.

Rejeneratif endodonti uygulamalarında; mümkün olan en yüksek düzeyde kanal dezenfeksiyonu sağlayan, periapikal dokuların biyolojik bütünlüğünü minimum düzeyde etkileyen, dentin yapısında en az biyolojik değişim yapan ve en

yüksek seviyelerde büyüme faktörü salınımı sağlayan bir şelasyon ajanının bulunması başarılı bir rejenerasyon protokolü oluşmasını sağlayacaktır. Çalışmamızda aktivasyon şekilleri göz ardı edildiğinde EDTA ve SA solüsyonu uygulanan örneklerde tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

EDTA ve SA'nın fibroblastlar üzerine sitotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada %17 EDTA ve %10, %15 ve %25 SA çözeltileri; %0.1 ve %0.5 oranına dilüe edilerek hücre canlılığı test edilmiştir. %0,1 oranına dilüe edilmiş %17 EDTA çözeltilisinde hücre sayısının azaldığı, %0,5 oranına dilüe edilmiş EDTA çözeltilisinde ise hücre büyümesinin olmadığı ve canlı hücre kalmadığı görülmüştür. %10, %15 ve %25 SA çözeltilerinin fibroblastlara karşı sitotoksik etkilerinin olmadığı, %17 EDTA çözeltilisinin test edilen tüm SA çözeltilerinden daha yüksek sitotoksik etkilere neden olduğu rapor edilmiştir (Malheiros ve ark. 2005). Bu sonuçları destekleyen başka çalışmalarda bulunmaktadır (Attalla ve Calvert 1969, Koulaouzidou ve ark. 1999). %17 EDTA ve %15 SA'nın enflamatuvar ve immün reaksiyonlarda önemli rol oynayan makrofajlar üzerine sitotoksik etkileri incelendiğinde; şelasyon ajanlarının, hücre membranında bulunan Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonlarına bağlanarak apoptotik süreci hızlandırdığı görülmüştür. EDTA'nın, periapikal immün cevapta rol oynayan makrofaj membranlarına VIP (vasoactive intestinal peptide) bağlanmasını da azalttığı rapor edilmiştir (Segura ve ark. 1996). %17 EDTA'nın %15 SA solüsyonundan daha sitotoksik olduğu ve enflamatuvar cevapta başlangıç makrofaj sayısını EDTA'nın %95 oranında, SA'nın ise %25 oranında azalttığı rapor edilmiştir (Amaral ve ark. 2007).

Aktivasyon şekilleri göz ardı edildiğinde EDTA ve SA solüsyonu uygulanan gruplar arasında anlamlı farklılık görülme de, tüm deney grupları arasında en yüksek salınım düzeylerinin SA solüsyonuna Er:YAG lazer aktivasyonu uygulanan örneklerde olduğu gözlenmiştir. Yukarıda bahsedilen çalışmalarda EDTA'nın SA'ya göre fibroblast hücreleri ve enflamatuvar reaksiyonlarda makrofajlar için toksisitesinin yüksek olduğu düşünülebilir. Rejenerasyon tedavisinin başarısının artırılması bu hücrelerin fizyolojik yapılarının korunmasına ve metabolizmalarının devamlılığına bağlıdır. Tüm bu sonuçlar neticesinde bu çalışmada kullanılan %10 SA'nın rejeneratif endodonti için %17 EDTA'ya göre daha biyomimetik olabileceği ve

Er:YAG lazer aktivasyonu uygulanarak büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin artırılabilceği sonucuna varılabilir.

EDTA solüsyonu kullanılan aktivasyon grupları değerlendirildiğinde; Er:YAG lazer aktivasyonu uygulanan örneklerde TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A salınım seviyelerinin konvansiyonel şırınga irrigasyonuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum EDTA solüsyonuna irrigasyon aktivasyonu uygulanmasıyla, daha yüksek düzeyde büyüme faktör salınımının mümkün olduğu şeklinde yorumlanabilir. İki aktivasyon grubu arasında; TGF- β 1 ve IGF-1 miktarlarında anlamlı farklılık görülmezken, Er:YAG lazer aktivasyonu BMP-7 ve VEGF-A salınım düzeylerini ultrasonik aktivasyona göre belirgin olarak artırmıştır. Grup içi zamana bağlı değişim düzeyleri incelendiğinde; konvansiyonel irrigasyon grubunun BMP-7, IGF-1 ve Er:YAG aktivasyon grubunun VEGF-A salınım düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmezken, diğer ölçümlerin tamamında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Gruplar arası zamana bağlı değişim düzeylerine bakıldığında; IGF-1 düzeylerinin Er:YAG aktivasyon grubunda aktivasyon uygulanmayan gruba göre anlamlı derecede yükseldiği görülürken, diğer ölçümlerin hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

SA solüsyonu kullanılan aktivasyon grupları değerlendirildiğinde; VEGF-A salınım seviyelerinin ultrasonik aktivasyon grubunda konvansiyonel irrigasyon grubuna göre anlamlı farklılık olmasa da, her iki aktivasyon tekniğinin diğer büyüme faktörlerinin salınım düzeylerini konvansiyonel irrigasyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırdığı tespit edilmiştir. Er:YAG lazer aktivasyonu uygulanan örneklerde ultrasonik aktivasyon uygulanan örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek salınım seviyeleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, aktivasyon tekniklerinin büyüme faktörlerinin salınım düzeylerini belirgin bir şekilde yükselttiğini göstermiştir. Grup içi zamana bağlı değişim düzeyleri incelendiğinde; konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulanan deney grubunda IGF-1, BMP-7, VEGF-A, ultrasonik aktivasyon grubunda TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve Er:YAG lazer aktivasyon grubunda ise VEGF-A istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Gruplar arası zamana bağlı değişim düzeyleri değerlendirildiğinde, aktivasyon grupları arasında anlamlı farklılık yoktur. Konvansiyonel irrigasyon grubuna göre; ultrasonik aktivasyon uygulanan örneklerde TGF- β 1, Er:YAG lazer aktivasyonu

uygulanan örneklerde ise TGF- β 1 ve VEGF-A seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür.

Ekim ve Erdemir (2015); NaOCl ve EDTA kullanarak, PUI, EndoVac®, diode, Nd:YAG ve Er:YAG lazer irrigasyon aktivasyon yöntemleriyle smear tabakasının kaldırılmasını incelediklerinde, en etkili sonucu Er:YAG lazerin verdiğini belirtmişlerdir. Yine başka bir çalışmada Özbay ve Erdemir (2018); smear tabakasının kaldırılmasında Er:YAG lazerin kullanılan irrigasyon solüsyonundan bağımsız olarak; smear tabakasının uzaklaştırılmasında en etkili yöntem olduğunu rapor etmişlerdir. Kök segmentlerinde smear tabakasının etkin bir şekilde kaldırılması dentinin demineralizasyonunu artırarak büyüme faktörlerinin salınım düzeylerini olumlu yönde etkileyebilir. Bu çalışmanın ultrasonik aktivasyon uygulanan EDTA ve SA gruplarında IGF-1'in 24. saat salınım düzeylerinin EDTA grubunda yüksek olmasının dışında, yapılan diğer değerlendirmelerde büyüme faktörleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Er:YAG lazer aktivasyonunun uygulandığı EDTA ve SA gruplarında ise; BMP-7 salınım düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlenmezken, diğer büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri SA solüsyonu kullanılan örneklerde anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları dikkate alınarak Er:YAG lazer aktivasyonunun tüm büyüme faktörlerinin salınımında etkili bir yöntem olduğu düşünülebilir.

SONUÇ

Bu *in vitro* çalışmanın sınırları içerisinde;

1. ELISA testinin demineralize dentin matriksinden salınan TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A'nın seviyelerini tespit etmek için etkili bir yöntem olduğu,
2. EDTA ve SA solüsyonlarının dentini demineralize etmek için etkili ajanlar olduğu, büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin 24. saat ölçümlerinde yüksek seviyelere ulaştığı ve zamana bağlı olarak salınım düzeylerinin belirgin olarak düştüğü,
3. Şelasyon ajanlarına uygulanan aktivasyon tekniklerinin konvasiyonel şırınga irrigasyonuna göre büyüme faktörlerinin salınım düzeylerini artırdığı,

4. Her iki şelasyon ajanına uygulanan Er:YAG lazer aktivasyonunun hem konvansiyonel irrigasyondan hem de ultrasonik aktivasyondan daha etkin bir yöntem olduğu,
5. Tüm büyüme faktörlerinin hem 24. saat hem de 7. gün ölçümlerinde en yüksek değerlerin SA solüsyonuna uygulanan PIPS ucuyla Er:YAG lazer aktivasyonundan elde edildiği tespit edilmiştir ve
6. İrrigasyon aktivasyon tekniklerinin, büyüme faktörlerinin salınım seviyelerine etkilerinin araştırıldığı daha kapsamlı başka çalışmalara ihtiyaç vardır.



5. KAYNAKLAR

- AKYUZ EKIM SN, ERDEMİR A. (2015) Comparison of different irrigation activation techniques on smear layer removal: an in vitro study. *Microscopy Research and Technique*, 78,230-239.
- AL-KHAFAJI H, NOER PR, ALKHARABI H, ALHODHODI A, MEADE J, EL-GENDY R, OXVIG C, BEATTIE J. (2018) A characteristic signature of insulin-like growth factor (IGF) axis expression during osteogenic differentiation of human dental pulp cells (hDPCs): Potential co-ordinated regulation of IGF action. *Growth Hormone & IGF Research*,42,14-21.
- ALBUQUERQUE M, VALERA M, NAKASHIMA M, NÖR J, BOTTINO M. (2014) Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics. *Journal of Dental Research*,93,1222-1231.
- ALISON MR. (2005) An introduction to stem and progenitor cell biology. *Stem Cell Repair and Regeneration*,1-23.
- AMARAL K, ROGERO M, FOCK R, BORELLI P, GAVINI G. (2007) Cytotoxicity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture. *International Endodontic Journal*,40,338-343.
- ANDREASEN JO, FARIK B, MUNKSGAARD EC. (2002) Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dental Traumatology*,18,134-137.
- ANITUA E. (1999) Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *International journal of Oral and Maxillofacial Implants*,14,529-535.
- ANITUA E. (2001) The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Practical Procedures & Aesthetic Dentistry*, 13,487-493.

- AOKI A. (1998) A comparison of conventional handpiece versus erbium: YAG laser for caries in vitro. *Journal of Restorative Dentistry*,77.
- ARI H, ERDEMIR A, BELLI S. (2004) Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *Journal of Endodontics*, 30,792-795.
- ARIAS-MOLIZ MT, FERRER-LUQUE CM, ESPIGARES-RODRÍGUEZ E, LIÉBANA-UREÑA J, ESPIGARES-GARCÍA M. (2008) Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid, and EDTA solutions against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*,106, e84-e89.
- ARSLAN H, CAPAR I, SAYGILI G, GOK T, AKCAY M. (2014a) Effect of photon-initiated photoacoustic streaming on removal of apically placed dentinal debris. *International Endodontic Journal*,47,1072-1077.
- ARSLAN H, BARUTCIGIL C, KARATAS E, TOPCUOGLU HS, YETER KY, ERSOY I, AYRANCı LB. (2014b) Effect of citric acid irrigation on the fracture resistance of endodontically treated roots. *European Journal of Dentistry*,8,74.
- ATALA A. (2005) Tissue engineering, stem cells and cloning: current concepts and changing trends. *Expert Opinion on Biological Therapy*,5,879-892.
- ATESCI AA, AVCI CB, TUGLU MI, AY NPO, ERONAT AC. (2020) Effect of Different Dentin Conditioning Agents on Growth Factor Release, Mesenchymal Stem Cell Attachment and Morphology. *Journal of Endodontics*,46,200-208.
- ATTALLA M, CALVERT J. (1969) Irritational properties of root canal medicaments. *Journal of the Canadian Dental Association*,35,76.
- BAKHTIAR H, ESMAEILI S, TABATABAYI SF, ELLINI MR, NEKOOFAR MH, DUMMER PM. (2017) Second-generation platelet concentrate (platelet-rich fibrin) as a scaffold in regenerative endodontics: a case series. *Journal of Endodontics*,43,401-408.
- BALLAL NV, YEGNESWARAN PP, MALA K, BHAT KS. (2011) In vitro antimicrobial activity of maleic acid and ethylenediaminetetracetic acid on

endodontic pathogens. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*,112,696-700.

BANCHS F, TROPE M. (2004) Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *Journal of Endodontics*,30,196-200.

BARRIENTOS S, STOJADINOVIC O, GOLINKO MS, BREM H, TOMIC-CANIC M. (2008) Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*,16,585-601.

BAUMGARTNER JC, FALKLER WA. (1991) Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *Journal of Endodontics*,17,380-383.

BAUMGARTNER JC, WATKINS BJ, BAE K-S, XIA T. (1999) Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *Journal of Endodontics*,25,413-415.

BAUMOTTE K, BOMBANA AC, CAI S. (2011) Microbiologic endodontic status of young traumatized tooth. *Dental Traumatology*, 27,438-441.

BEGUE-KIRN C, SMITH AJ, LORIOT M, KUPFERLE C, RUCH J, LESOT H. (1994) Comparative analysis of TGF β s, BMPs, IGF1, msxs, fibronectin, osteonectin and bone sialoprotein gene expression during normal and in vitro-induced odontoblast differentiation. *International Journal of Developmental Biology*,38,405-405.

BEGUE-KIRN C, SMITH AJ, RUCH JV, WOZNEY JM, 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*,36,491-503.

BELLOMO D, HEADRICK JP, SILINS GU, PATERSON CA, THOMAS PS, GARTSIDE M, MOULD A, CAHILL MM, TONKS ID, GRIMMOND SM. (2000) Mice lacking the vascular endothelial growth factor-B gene (vegfb) have smaller hearts, dysfunctional coronary vasculature, and impaired recovery from cardiac ischemia. *Circulation Research*,86, e29-e35.

- BEPUE-KIRN C. (1994) Comparative analysis of TGF- β s, BMPs, IGF, msxs, fibronectin, osteonectin and bone sialoprotein gene expression during normal and in vitro-induced odontoblast differentiation. *International Journal of Developmental Biology*, 38,405-420.
- BESSHO K, TAGAWA T, MURATA M. (1990) Purification of rabbit bone morphogenetic protein derived from bone, dentin, and wound tissue after tooth extraction. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*,48,162-169.
- BKGUE-KIRN C, SMITH A, RUCH J, WOZNEY J, PURCHIO A, HARTMANN D, LESOT H. (1992) 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*,36,491-503.
- BONTE E, BESLOT A, BOUKPESSI T, LASFARGUES J-J. (2015) MTA versus Ca(OH)₂ in apexification of non-vital immature permanent teeth: a randomized clinical trial comparison. *Clinical Oral Investigations*,19,1381-1388.
- BORMANN K-H, SUAREZ-CUNQUEIRO MM, SINIKOVIC B, KAMPMANN A, VON SEE C, TAVASSOL F, BINGER T, WINKLER M, GELLRICH N-C, RÜCKER M. (2012) Dentin as a suitable bone substitute comparable to ss-TCP-an experimental study in mice. *Microvascular Research*,84,116-122.
- BOTERO TM, MANTELLINI MG, SONG W, HANKS CT, NÖR JE. (2003) Effect of lipopolysaccharides on vascular endothelial growth factor expression in mouse pulp cells and macrophages. *European Journal of Oral Sciences*,111,228-234.
- BRENNAN F, CHANTRY D, TURNER M, FOXWELL B, MAINI R, FELDMANN M. (1990) Detection of transforming growth factor-beta in rheumatoid arthritis synovial tissue: lack of effect on spontaneous cytokine production in joint cell cultures. *Clinical & Experimental Immunology*,81,278-285.
- BURLESON A, NUSSTEIN J, READER A, BECK M. (2007) The in vivo evaluation of hand/rotary/ultrasound instrumentation in necrotic, human mandibular molars. *Journal of Endodontics*,33,782-787.

- BUTLER WT, MIKULSKI A, URIST MR, BRIDGES G, UYENO S. (1977) Noncollagenous proteins of a rat dentin matrix possessing bone morphogenetic activity. *Journal of Dental Research*,56,228-232.
- CALT S, SERPER A. (2002) Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *Journal of Endodontics*,28,17-19.
- CAMERON JA. (1987) The synergistic relationship between ultrasound and sodium hypochlorite: a scanning electron microscope evaluation. *Journal of Endodontics*,13,541-545.
- CAMERON JA. (1988) The effect of ultrasonic endodontics on the temperature of the root canal wall. *Journal of Endodontics*,14,554-559.
- CARREIRA A, LOJUDICE F, HALCSIK E, NAVARRO R, SOGAYAR M, GRANJEIRO J. (2014) Bone morphogenetic proteins: facts, challenges, and future perspectives. *Journal of Dental Research*,93,335-345.
- CARROTTE P. (2004) Endodontics: Part 9 Calcium hydroxide, root resorption, endo-perio lesions. *British Dental Journal*,197,735-743.
- CASSIDY N, FAHEY M, PRIME S, SMITH A. (1997) Comparative analysis of transforming growth factor- β isoforms 1–3 in human and rabbit dentine matrices. *Archives of Oral Biology*,42,219-223.
- CAVIEDES-BUCHELI J, CANALES-SANCHEZ P, CASTRILLON-SARRIA N, JOVEL-GARCIA J, ALVAREZ-VÁSQUEZ J, RIVERO C, AZUERO-HOLGUÍN M, DIAZ E, MUNOZ H. (2009) Expression of insulin-like growth factor-1 and proliferating cell nuclear antigen in human pulp cells of teeth with complete and incomplete root development. *International Endodontic Journal*,42,686-693.
- CHAE Y, YANG M, KIM J. (2018) Release of TGF- β 1 into root canals with various final irrigants in regenerative endodontics: an in vitro analysis. *International Endodontic Journal*,51,1389-1397.
- CHEN D, JI X, HARRIS M, FENG J, KARSENTY G, CELESTE A, ROSEN V, MUNDY G, HARRIS SE. (1998) Differential roles for bone morphogenetic protein (BMP) receptor type IB and IA in differentiation and specification

of mesenchymal precursor cells to osteoblast and adipocyte lineages. *Journal of Cell Biology*,142,295-305.

CHENU C, VALENTIN-OPRAN A, CHAVASSIEUX P, SAEZ S, MEUNIER P, DELMAS P. (1990) Insulin like growth factor I hormonal regulation by growth hormone and by 1, 25 (OH) 2D3 and activity on human osteoblast-like cells in short-term cultures. *Bone*,11,81-86.

CHIU Y-C, FANG H-Y, HSU T-T, LIN C-Y, SHIE M-Y. (2017) The characteristics of mineral trioxide aggregate/polycaprolactone 3-dimensional scaffold with osteogenesis properties for tissue regeneration. *Journal of Endodontics*,43,923-929.

CHOUKROUN J, ADDA F, SCHOEFFLER C, VERVELLE A. (2001) Une opportunité en paro-implantologie: le PRF. *Implantodontie*,42, e62.

CHREPA V, HENRY M, DANIEL B, DIOGENES A. (2015) Delivery of apical mesenchymal stem cells into root canals of mature teeth. *Journal of Dental Research*,94,1653-1659.

CLARKSON R, MOULE A, PODLICH H, KELLAWAY R, MACFARLANE R, LEWIS D, ROWELL J. (2006) Dissolution of porcine incisor pulps in sodium hypochlorite solutions of varying compositions and concentrations. *Australian Dental Journal*,51,245-251.

CLAYMAN L, KUO P. (1997) Physical Considerations of Surgical Lasers, In: Lasers in maxillofacial surgery and dentistry, Thieme Medical Publishers. p: 1-9.

CLEGG M, VERTUCCI F, WALKER C, BELANGER M, BRITTO L. (2006) The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *Journal of Endodontics*,32,434-437.

COLUZZI DJ. (2004) Fundamentals of dental lasers: science and instruments. *Dental Clinics of North America*,48,751-770.

COLUZZI DJ. (2008) An overview of lasers in dentistry. *Alpha Omegan*,101,125.

- CVEK M. (1972) Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. I. Follow-up of periapical repair and apical closure of immature roots. *Odontologisk Revy*,23,27-44.
- CVEK M. (1992) Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study. *Dental Traumatology*,8,45-55.
- ÇÖKÜK N, KARA E, KAKI D, AYDOĞDU M, SARIDAĞ S. (2016) Influence of the ER, CR: YSGG laser and different irrigation methods on push-out bond strength of fiber post. *Journal of Adhesion Science and Technology*,30,1178-1188.
- D'AQUINO R, GRAZIANO A, SAMPAOLESI M, LAINO G, PIROZZI G, DE ROSA A, PAPACCIO G. (2007) Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death & Differentiation*,14,1162-1171.
- D'AQUINO R, PAPACCIO G, LAINO G, GRAZIANO A. (2008) Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration. *Stem Cell Reviews*,4,21-26.
- DAMLE S, BHATTAL H, LOOMBA A. (2012) Apexification of anterior teeth: a comparative evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide paste. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*,36,263-268.
- DAVIDEAU J, CELIO M, HOTTON D, BERDAL A. (1993) Developmental pattern and subcellular localization of parvalbumin in the rat tooth germ. *Archives of Oral Biology*,38,707-715.
- DENHOLM I, MOULE A, BARTOLD P. (1998) The behaviour and proliferation of human dental pulp cell strains in vitro, and their response to the application of platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-1. *International Endodontic Journal*,31,251-258.
- DENİZ SUNGUR D, AKSEL H, OZTURK S, YILMAZ Z, ULUBAYRAM K. (2019) Effect of dentine conditioning with phytic acid or etidronic acid on growth factor release, dental pulp stem cell migration and viability. *International Endodontic Journal*,52,838-846.

- DI LENARDA R, CADENARO M, SBAIZERO O. (2000) Effectiveness of 1 mol L⁻¹ citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. *International Endodontic Journal*,33,46-52.
- DIOGENES A, HENRY MA, TEIXEIRA FB, HARGREAVES KM. (2013) An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontic Topics*,28,2-23.
- DISSANAYAKA WL, ZHU L, HARGREAVES KM, JIN L, ZHANG C. (2015) In vitro analysis of scaffold-free prevascularized microtissue spheroids containing human dental pulp cells and endothelial cells. *Journal of Endodontics*,41,663-670.
- DOMINGUEZ REYES A, MUNOZ MUNOZ L, AZNAR MARTIN T. (2005) Study of calcium hydroxide apexification in 26 young permanent incisors. *Dental Traumatology*,21,141-145.
- DREYFUSS JL, REGATIERI CV, JARROUGE TR, CAVALHEIRO RP, SAMPAIO LO, NADER HB. (2009) Heparan sulfate proteoglycans: structure, protein interactions and cell signaling. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*,81,409-429.
- DUAILIBI MT, DUAILIBI SE, YOUNG CS, BARTLETT JD, VACANTI JP, YELICK PC. (2004) Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. *Journal of Dental Research*,83,523-528.
- EGUSA H, SONOYAMA W, NISHIMURA M, ATSUTA I, AKIYAMA K. (2012) Stem cells in dentistry—part I: stem cell sources. *Journal of Prosthodontic Research*,56,151-165.
- EHRENFEST DD, SAMMARTINO G, SHIBLI JA, WANG H-L, ZOU D-R, BERNARD J-P. (2013) Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, or Platelet-Rich Fibrin-PRF): the international classification of the POSEIDO. *Poseido J*,1,17-28.
- EPPLER SM, COMBS DL, HENRY TD, LOPEZ JJ, ELLIS SG, YI JH, ANNEX BH, MCCLUSKEY ER, ZIONCHECK TF. (2002) A target-mediated model to describe the pharmacokinetics and hemodynamic effects of recombinant human vascular endothelial growth factor in humans. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*,72,20-32.

- ERCAN E, ÖZEKINCI T, ATAKUL F, GÜL K. (2004) Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *Journal of Endodontics*,30,84-87.
- ERDEMIR A, ELDENIZ AU, BELLI S, PASHLEY DH. (2004) Effect of solvents on bonding to root canal dentin. *Journal of Endodontics*,30,589-592.
- ESSNER MD, JAVED A, ELEAZER PD. (2011) Effect of sodium hypochlorite on human pulp cells: an in vitro study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*,112,662-666.
- ESTRELA C, ESTRELA CR, BARBIN EL, SPANÓ JCE, MARCHESAN MA, PÉCORA JD. (2002) Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian Dental Journal*,13,113-117.
- FANG Y, WANG X, ZHU J, SU C, YANG Y, MENG L. (2018) Influence of apical diameter on the outcome of regenerative endodontic treatment in teeth with pulp necrosis: a review. *Journal of Endodontics*,44,414-431.
- FERGUSON J, HATTON J, GILLESPIE MJ. (2002) Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans*. *Journal of Endodontics*,28,68-71.
- FERRACANE JL, COOPER PR, SMITH AJ. (2013) Dentin matrix component solubilization by solutions of pH relevant to self-etching dental adhesives. *Journal of Adhesive Dentistry*,15,407-412.
- FERRARA N, GERBER H-P, LECOUTER J. (2003) The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine*,9,669-676.
- FINKELMAN RD, MOHAN S, JENNINGS JC, TAYLOR AK, JEPSEN S, BAYLINK DJ. (1990) Quantitation of growth factors IGF-I, IGF-II, and TGF- β in human dentin. *Journal of Bone and Mineral Research*,5,717-723.
- FRANK AL. (1966) Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. *The Journal of the American Dental Association*,72,87-93.

FRANKENBERGER R, KRÄMER N, OBERSCHACHTSIEK H, PETSCHOLT A. (2000) Dentin bond strength and marginal adaptation after NaOCl pre-treatment. *Operative Dentistry*,25,40-45.

FRITHJOF R, ÖSTBY BN. (1963) Effect of EDTA and sulfuric acid on root canal dentine. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*,16,199-205.

GALLER K, WIDBILLER M, BUCHALLA W, EIDT A, HILLER KA, HOFFER P, SCHMALZ G. (2016) EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells. *International Endodontic Journal*,49,581-590.

GALLER KM, BUCHALLA W, HILLER K-A, FEDERLIN M, EIDT A, SCHIEFERSTEINER M, SCHMALZ G. (2015) Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *Journal of Endodontics*,41,363-368.

GANDOLFI MG, TADDEI P, PONDRELLI A, ZAMPARINI F, PRATI C, SPAGNUOLO G. (2019) Demineralization, Collagen Modification and Remineralization Degree of Human Dentin after EDTA and Citric Acid Treatments. *Materials*,12,25.

GHANAATI S, BOOMS P, ORLOWSKA A, KUBESCH A, LORENZ J, RUTKOWSKI J, LANDES C, SADER R, KIRKPATRICK C, CHOUKROUN J. (2014) Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *Journal of Oral Implantology*,40,679-689.

GOLDBERG M, ESCAIG F, FEINBERG J, WEINMAN S. (1987) Ultrastructural localization of calmodulin in rat incisor ameloblasts and odontoblasts during the early stages of development. *Advances in Dental Research*,1,227-235.

GOLDBERG M, FEINBERG J, LECOLLE S, KAETZEL MA, RAINTEAU D, LESSARD JL, DEDMAN JR, WEINMAN S. (1991) Co-distribution of annexin VI and actin in secretory ameloblasts and odontoblasts of rat incisor. *Cell and Tissue Research*,263,81-89.

GOMES BP, PINHEIRO ET, SOUSA EL, JACINTO RC, ZAIA AA, FERRAZ CCR, DE SOUZA-FILHO FJ. (2006) Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral*

Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology,102,247-253.

GOMMA M, SAMY IS, FARAG MM, ELINEIN N. (1992) Vibration pattern of different endosonic instruments. *Egyptian Dental Journal*,38,131-137.

GONÇALVES LF, FERNANDES AP, COSME-SILVA L, COLOMBO FA, MARTINS NS, OLIVEIRA TM, ARAUJO TH, SAKAI VT. (2016) Effect of EDTA on TGF-β1 released from the dentin matrix and its influence on dental pulp stem cell migration. *Brazilian Oral Research*,30.

GOWDA L, MOHAN DAS U. (2012) Effect of various concentrations of sodium hypochlorite on primary dentin: an in vitro scanning electron microscopic study. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*,37,37-43.

GRAHAM L, COOPER PR, CASSIDY N, NOR JE, SLOAN AJ, SMITH AJ. (2006) The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials*,27,2865-2873.

GRIGORATOS D, KNOWLES J, NG YL, GULABIVALA K. (2001) Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *International Endodontic Journal*,34,113-119.

GROENEVELD E, BURGER E. (2000) Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration. *European Journal of Endocrinology*,142,9-21.

GRONTHOS S, MANKANI M, BRAHIM J, ROBEY PG, SHI S. (2000) Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,97,13625-13630.

GRONTHOS S, BRAHIM J, LI W, FISHER L, CHERMAN N, BOYDE A, DENBESTEN P, ROBEY PG, SHI S. (2002) Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *Journal of Dental Research*,81,531-535.

GU L-S, KIM JR, LING J, CHOI KK, PASHLEY DH, TAY FR. (2009) Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *Journal of Endodontics*,35,791-804.

- GUO Y, ZHANG S. (2016) Preliminary research of Er: YAG laser used for pulpotomy of Beagle dogs. *Beijing da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Peking University. Health Sciences*,48,714-719.
- GURTNER GC, WERNER S, BARRANDON Y, LONGAKER MT. (2008) Wound repair and regeneration. *Nature*,453,314.
- HAAPASALO M, SHEN Y, QIAN W, GAO Y. (2010) Irrigation in endodontics. *Dental Clinics*,54,291-312.
- HAFEZ AA, COX CF, TARIM B, OTSUKI M, AKIMOTO N. (2002) An in vivo evaluation of hemorrhage control using sodium hypochlorite and direct capping with a one-or two-component adhesive system in exposed nonhuman primate pulps. *Quintessence International*,33.
- HARGREAVES KM, LAW A. (2011) Regenerative endodontics. Pathways of the Pulp,10,602-619.
- HARGREAVES KM, GEISLER T, HENRY M, WANG Y. (2008) Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? *Journal of Endodontics*, 34,51-56.
- HARTSHORNE J, GLUCKMAN H. (2016) A comprehensive clinical review of Platelet Rich Fibrin (PRF) and its role in promoting tissue healing and regeneration in dentistry. Part II: preparation, optimization, handling and application, benefits and limitations of PRF. *International Dental*,6,34-48.
- HAUMAN C, LOVE R. (2003) Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *International Endodontic Journal*,36,75-85.
- HAZNEDAROĞLU F. (2003) Efficacy of various concentrations of citric acid at different pH values for smear layer removal. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*,96,340-344.
- HONG P, BOYD D, BEYEA SD, BEZUHLY M. (2013) Enhancement of bone consolidation in mandibular distraction osteogenesis: a contemporary review of experimental studies involving adjuvant therapies. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*,66,883-895.

- HONG S, CHEN W, JIANG B. (2018) A Comparative Evaluation of Concentrated Growth Factor and Platelet-rich Fibrin on the Proliferation, Migration, and Differentiation of Human Stem Cells of the Apical Papilla. *Journal of Endodontics*,44,977-983.
- HOWARD C, MURRAY PE, NAMEROW KN. (2010) Dental pulp stem cell migration. *Journal of Endodontics*,36,1963-1966.
- HUANG GT-J. (2011) Dental pulp and dentin tissue engineering and regeneration—advancement and challenge. *Frontiers in Bioscience (Elite edition)*,3,788.
- IKEDA E, HIROSE M, KOTOBUKI N, SHIMAOKA H, TADOKORO M, MAEDA M, HAYASHI Y, KIRITA T, OHGUSHI H. (2006) Osteogenic differentiation of human dental papilla mesenchymal cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*,342,1257-1262.
- ITOH Y, SASAKI J, HASHIMOTO M, KATATA C, HAYASHI M, IMAZATO S. (2018) Pulp regeneration by 3-dimensional dental pulp stem cell constructs. *Journal of Dental Research*,97,1137-1143.
- IVICA A, ZEHNDER M, MATEOS JM, GHAYOR C, WEBER FE. (2019) Biomimetic conditioning of human dentin using citric acid. *Journal of Endodontics*,45,45-50.
- IWAYA SI, IKAWA M, KUBOTA M. (2001) Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dental Traumatology*,17,185-187.
- JEERUPHAN T, JANTARAT J, YANPISET K, SUWANNAPAN L, KHEWSAWAI P, HARGREAVES KM. (2012) Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study. *Journal of Endodontics*, 38,1330-1336.
- JEPSEN S, ALBERS H-K, FLEINER B, TUCKER M, RUEGER D. (1997) Recombinant human osteogenic protein-1 induces dentin formation: an experimental study in miniature swine. *Journal of Endodontics*,23,378-382.

- JO Y-Y, LEE H-J, KOOK S-Y, CHOUNG H-W, PARK J-Y, CHUNG J-H, CHOUNG Y-H, KIM E-S, YANG H-C, CHOUNG P-H. (2007) Isolation and characterization of postnatal stem cells from human dental tissues. *Tissue Engineering*,13,767-773.
- JOSEPH B, SAVAGE N, YOUNG W, GUPTA G, BREIER B, WATERS M. (1993) Expression and regulation of insulin-like growth factor-I in the rat incisor. *Growth Factors*,8,267-275.
- KANDASWAMY D, VENKATESHBABU N. (2010) Root canal irrigants. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*,13,256.
- KESSLER E, TAKAHARA K, BINIAMINOV L, BRUSEL M, GREENSPAN DS. (1996) Bone morphogenetic protein-1: the type I procollagen C-proteinase. *Science*,271,360-362.
- KIKUCHI H, SUZUKI K, SAKAI N, YAMADA S. (2004) Odontoblasts induced from mesenchymal cells of murine dental papillae in three-dimensional cell culture. *Cell and Tissue Research*,317,173-185.
- KIM M, KIM B, YOON S. (2001) Effect on the healing of periapical perforations in dogs of the addition of growth factors to calcium hydroxide. *Journal of Endodontics*,27,734-737.
- KIM SG, ZHOU J, SOLOMON C, ZHENG Y, SUZUKI T, CHEN M, SONG S, JIANG N, CHO S, MAO JJ. (2012) Effects of growth factors on dental stem/progenitor cells. *Dental Clinics of North America*,56,563-575.
- KIM Y-K, UM I-W, MURATA M. (2014) Tooth bank system for bone regeneration-Safety report. *Journal of Hard Tissue Biolog*, 23,371-376.
- KIRAN S, PRAKASH S, SIDDHARTH P, SAHA S, GEOJAN N, RAMACHANDRAN M. (2016) Comparative Evaluation of Smear Layer and Debris on the Canal Walls prepared with a Combination of Hand and Rotary ProTaper Technique using Scanning Electron Microscope. *Journal of Contemporary Dental Practice*,17,574-581.
- KOKUZAWA C, EBIHARA A, WATANABE S, ANJO T, BOLORTUYA G, SAEGUSA H, SUDA H. (2012) Shaping of the root canal using Er: YAG laser irradiation. *Photomedicine and Laser Surgery*,30,367-373.

- KORKUT E, TORLAK E, GEZGIN O, ÖZER H, ŞENER Y. (2018) Antibacterial and smear layer removal efficacy of Er:YAG laser irradiation by photon-induced photoacoustic streaming in primary molar root canals: a preliminary study. *Photomedicine and Laser Surgery*,36,480-486.
- KOTULA R, BORDÁCOVÁ J. (1969) The effect of ethylenediaminetetraacetic acid on the oral microflora. *Deutsche Stomatologie*,19,575.
- KOULAOUZIDOU EA, MARGELOS J, BELTES P, KORTSARIS AH. (1999) Cytotoxic effects of different concentrations of neutral and alkaline EDTA solutions used as root canal irrigants. *Journal of Endodontics*,25,21-23.
- LAINO G, D'AQUINO R, GRAZIANO A, LANZA V, CARINCI F, NARO F, PIROZZI G, PAPACCIO G. (2005) A new population of human adult dental pulp stem cells: a useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB). *Journal of Bone and Mineral Research*, 20,1394-1402.
- LANGER R, VACANTI J. (1993) Tissue engineering. *Science* 260: 920-926. *Tissue Engineering: the Union of Biology and Engineering*,98.
- LARSEN M, ARTYM VV, GREEN JA, YAMADA KM. (2006) The matrix reorganized: extracellular matrix remodeling and integrin signaling. *Current Opinion in Cell Biology*,18,463-471.
- LÁZÁR-MOLNÁR E, HEGYESI H, TÓTH S, FALUS A. (2000) Autocrine and paracrine regulation by cytokines and growth factors in melanoma. *Cytokine*,12,547-554.
- LEE H, PARK TG. (2009) Design principles in biomaterials and scaffolds. *Foundations of Regenerative Medicine: Clinical and Therapeutic Applications*,312.
- LEE SJ, WU MK, WESSELINK P. (2004a) The effectiveness of syringe irrigation and ultrasonics to remove debris from simulated irregularities within prepared root canal walls. *International Endodontic Journal*,37,672-678.

- LEE SJ, WU MK, WESSELINK P. (2004b) The efficacy of ultrasonic irrigation to remove artificially placed dentine debris from different-sized simulated plastic root canals. *International Endodontic Journal*,37,607-612.
- LEROITH D, WERNER H, FARIA TN, KATO H, ADAMO M, ROBERTS JR CT. (1993) Insulin-like Growth Factor Receptors: Implications for Nervous System Function. *Annals of the New York Academy of Sciences*,692,22-32.
- LEVY G. (1992) Cleaning and shaping the root canal with a Nd: YAG laser beam: a comparative study. *Journal of Endodontics*,18,123-127.
- LI W-J, TULI R, OKAFOR C, DERFOUL A, DANIELSON KG, HALL DJ, TUAN RS. (2005) A three-dimensional nanofibrous scaffold for cartilage tissue engineering using human mesenchymal stem cells. *Biomaterials*,26,599-609.
- LI X, SUN H, LIU X. (2018) Vascular endothelial growth factor-loaded microspheres promote dental pulp regeneration and vascularization. *Zhonghua kou qiang yi xue za zhi= Zhonghua kouqiang yixue zazhi= Chinese Journal of Stomatology*,53,42-48.
- LIAO J, AL SHAHRANI M, AL-HABIB M, TANAKA T, HUANG GT-J. (2011) Cells isolated from inflamed periapical tissue express mesenchymal stem cell markers and are highly osteogenic. *Journal of Endodontics*,37,1217-1224.
- LIN S, LIU Q, PENG Q, LIN M, ZHAN Z, ZHANG X. (2010) The ablation threshold of Er: YAG laser and Er, Cr: YSGG laser in dental dentin. *Scientific Research and Essays*,5,2128-2135.
- LIN Z-M, QIN W, ZHANG N-H, XIAO L, LING J-Q. (2007) Adenovirus-mediated recombinant human bone morphogenetic protein-7 expression promotes differentiation of human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*,33,930-935.
- LIND M. (1996) Growth factors: possible new clinical tools: a review. *Acta Orthopaedica Scandinavica*,67,407-417.
- LINDEMANN RA, HUME WR, WOLCOTT RB. (1985) Dentin permeability and pulpal response to EDTA. *Journal of Prosthetic Dentistry*,53,341-343.

- LIOLIOS E, ECONOMIDES N, PARISSIS-MESSIMERIS S, BOUTSIUKIS A. (1997) The effectiveness of three irrigating solutions on root canal cleaning after hand and mechanical preparation. *International Endodontic Journal*, 30,51-57.
- LIU G, XU G, GAO Z, LIU Z, XU J, WANG J, ZHANG C, WANG S. (2016) Demineralized dentin matrix induces odontoblastic differentiation of dental pulp stem cells. *Cells Tissues Organs*, 201,65-76.
- LLOYD A, UHLES JP, CLEMENT DJ, GARCIA-GODOY F. (2014) Elimination of intracanal tissue and debris through a novel laser-activated system assessed using high-resolution micro-computed tomography: a pilot study. *Journal of Endodontics*,40,584-587.
- LOHELA M, HELOTERÄ H, HAIKO P, DUMONT DJ, ALITALO K. (2008) Transgenic induction of vascular endothelial growth factor-C is strongly angiogenic in mouse embryos but leads to persistent lymphatic hyperplasia in adult tissues. *American Journal of Pathology*,173,1891-1901.
- LUO D, WOODROW-MUMFORD K, BELCHEVA N, SALTZMAN WM. (1999) Controlled DNA delivery systems. *Pharmaceutical Research*,16,1300-1308.
- LYMPERI S, LIGOUDISTIANOU C, TARASLIA V, KONTAKIOTIS E, ANASTASIADOU E. (2013) Dental Stem Cells and their Applications in Dental Tissue Engineering. *Open Dentistry Journal*,7,76-81.
- M DOHAN EHRENFEST D, BIELECKI T, MISHRA A, BORZINI P, INCHINGOLO F, SAMMARTINO G, RASMUSSEN L, A EVERT P. (2012) In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. *Current Pharmaceutical Biotechnology*,13,1131-1137.
- MACHADO R, GARCIA LDFR, DA SILVA NETO UX, CRUZ FILHO ADMD, SILVA RG, VANSAN LP. (2018) Evaluation of 17% EDTA and 10% citric acid in smear layer removal and tubular dentin sealer penetration. *Microscopy Research and Technique*,81,275-282.

- MACKIE I. (1998) UK National Clinical Guidelines in Paediatric Dentistry. Management and root canal treatment of non-vital immature permanent incisor teeth. Faculty of Dental Surgery, Royal College of Surgeons. *International Journal of Paediatric Dentistry*,8,289-293.
- MAGLOIRE H, JOFFRE A, AZERAD J, LAWSON D. (1988) Localization of 28 kDa calbindin in human odontoblasts. *Cell and Tissue Research*, 254,341-346.
- MALHEIROS C, MARQUES M, GAVINI G. (2005) In vitro evaluation of the cytotoxic effects of acid solutions used as canal irrigants. *Journal of Endodontics*,31,746-748.
- MALHOTRA N, KUNDABALA M, ACHARYA S. (2009) Current Strategies and Applications of Tissue Engineering in Dentistry– A Review Part 1. *Dental Update*,36,577-582.
- MANJUNATHA M, KINI ANNAPURNA VS, KUMAR VS, HIREMATH VK, SHAH A. (2013) Smear layer evaluation on root canal preparation with manual and rotary techniques using EDTA as an irrigant: A Scanning Electron Microscopy Study. *Journal of international oral health: JIOH*,5,66.
- MARTÍN A, UNDA FJ, BÈGUE-KIRN C, RUCH JV, ARÉCHAGA J. (1998) Effects of aFGF, bFGF, TGF β 1 and IGF-I on odontoblast differentiation in vitro. *European Journal of Oral Sciences*,106,117-121.
- MARTIN DE, DE ALMEIDA JFA, HENRY MA, KHAING ZZ, SCHMIDT CE, TEIXEIRA FB, DIOGENES A. (2014) Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *Journal of Endodontics*,40,51-55.
- MARTIN G, RICUCCI D, GIBBS JL, LIN LM. (2013) Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *Journal of Endodontics*,39,138-144.
- MARTIN H, CUNNINGHAM WT, NORRIS JP, COTTON WR. (1980) Ultrasonic versus hand filing of dentin: a quantitative study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*,49,79-81.

- MARTIN P. (1997) Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. *Science*,276,75-81.
- MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM, SCHIMMELE SR, STRAUSS JE, GEORGEFF KR. (1998) Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*,85,638-646.
- MATSUMOTO H, YOSHIMINE Y, AKAMINE A. (2011) Visualization of irrigant flow and cavitation induced by Er: YAG laser within a root canal model. *Journal of Endodontics*,37,839-843.
- MCDONNELL G, RUSSELL AD. (1999) Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*,12,147-179.
- MERYON S, TOBIAS R, JAKEMAN K. (1987) Smear removal agents: a quantitative study in vivo and in vitro. *Journal of Prosthetic Dentistry*,57,174-179.
- METZLER RS, MONTGOMERY S. (1989) The effectiveness of ultrasonics and calcium hydroxide for the debridement of human mandibular molars. *Journal of Endodontics*,15,373-378.
- MITSIADIS T, RAHIOTIS C. (2004) Parallels between tooth development and repair: conserved molecular mechanisms following carious and dental injury. *Journal of Dental Research*, 83,896-902.
- MIURA M, GRONTHOS S, ZHAO M, LU B, FISHER LW, ROBEY PG, SHI S. (2003) SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,100,5807-5812.
- MOHAMMADI Z. (2008) Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *International Dental Journal*,58,329-341.
- MOHAMMADI Z. (2009) Laser applications in endodontics: an update review. *International Dental Journal*,59,35-46.

- MOHAMMADI Z, SHALAVI S, JAFARZADEH H. (2013) Ethylenediaminetetraacetic acid in endodontics. *European Journal of Dentistry*,7, S135-S142.
- MORSCZECK C, GÖTZ W, SCHIERHOLZ J, ZEILHOFER F, KÜHN U, MÖHL C, SIPPEL C, HOFFMANN K. (2005) Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biology*,24,155-165.
- MULLANE EM, DONG Z, SEDGLEY C, HU J-C, BOTERO T, HOLLAND G, NÖR J. (2008) Effects of VEGF and FGF2 on the revascularization of severed human dental pulps. *Journal of Dental Research*,87,1144-1148.
- MURATA M, SATO D, HINO J, AKAZAWA T, TAZAKI J, ITO K, ARISUE M. (2012) Acid-insoluble human dentin as carrier material for recombinant human BMP-2. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*,100,571-577.
- MURRAY PE, GARCIA-GODOY F, HARGREAVES KM. (2007) Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *Journal of Endodontics*,33,377-390.
- MUTA K, KRANTZ SB. (1993) Apoptosis of human erythroid colony-forming cells is decreased by stem cell factor and insulin-like growth factor I as well as erythropoietin. *Journal of Cellular Physiology*,156,264-271.
- NAGATA JY, SOARES AJ, SOUZA-FILHO FJ, ZAIA AA, FERRAZ CC, ALMEIDA JF, GOMES BP. (2014) Microbial evaluation of traumatized teeth treated with triple antibiotic paste or calcium hydroxide with 2% chlorhexidine gel in pulp revascularization. *Journal of Endodontics*,40,778-783.
- NAKASHIMA M. (1994) Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenetic proteins (BMP)-2 and-4. *Journal of Dental Research*,73,1515-1522.
- NAKASHIMA M, REDDI AH. (2003a) The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. *Nature Biotechnology*,21,1025-1032.
- NAKASHIMA M, REDDI AH. (2003b) The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. *Nature Biotechnology*,21,1025-1032.

- NAKASHIMA M, AKAMINE A. (2005) The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of Endodontics*,31,711-718.
- NAKASHIMA M, IOHARA K. (2011) Regeneration of dental pulp by stem cells. *Advances in Dental Research*,23,313-319.
- NIU W, YOSHIOKA T, KOBAYASHI C, SUDA H. (2002) Abstract. *International Endodontic Journal*,35,934-939.
- NIWA T, YAMAKOSHI Y, YAMAZAKI H, KARAKIDA T, CHIBA R, HU JC-C, NAGANO T, YAMAMOTO R, SIMMER JP, MARGOLIS HC. (2018) The dynamics of TGF- β in dental pulp, odontoblasts and dentin. *Scientific Reports*,8,1-14.
- NYGAARD-ÖSTBY B, HJORTDAL O. (1971) Tissue formation in the root canal following pulp removal. *European Journal of Oral Sciences*,79,333-349.
- OLIVI G, DIVITO EE. (2016) Advanced Laser-Activated Irrigation: PIPS™ Technique and Clinical Protocols, In: *Lasers in Endodontics*, Springer, 219-291.
- ORDINOLA-ZAPATA R, BRAMANTE C, CAVENAGO B, GRAEFF M, GOMES DE MORAES I, MARCIANO M, DUARTE M. (2012) Antimicrobial effect of endodontic solutions used as final irrigants on a dentine biofilm model. *International Endodontic Journal*,45,162-168.
- ØRSTAVIK D, QVIST V, STOLTZE K. (2004) A multivariate analysis of the outcome of endodontic treatment. *European Journal of Oral Sciences*,112,224-230.
- OSTBY N. (1957) Chelating in root canal therapy. Ethylene-diamine tetraacetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odontologisk Tidskrift*,65,3-11.
- OZBAY Y, ERDEMIR A. (2018) Effect of several laser systems on removal of smear layer with a variety of irrigation solutions. *Microscopy Research and Technique*,81,1214-1222.

- ÖSTBY BN. (1961) The role of the blood clot in endodontic therapy an experimental histologic study. *Acta Odontologica Scandinavica*,19,323-353.
- ÖZKOÇAK İ, BAYRAM E. (2014) Endodontide Ultrasonik Alet Kullanımı. *Kocatepe Tıp Dergisi*,15,74-78.
- PATTERSON SS. (1963) In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*,16,83-103.
- PAWLICKA H. (1982) The use of chelating agents for widening of the root canals. Determination of microhardness. *Stomatologie der DDR*,32,355-361.
- PETERS OA, PETERS CI, SCHONENBERGER K, BARBAKOW F. (2003) ProTaper rotary root canal preparation: effects of canal anatomy on final shape analysed by micro CT. *International Endodontic Journal*, 36(2).
- PIEK E, HELDIN C-H, TEN DIJKE P. (1999) Specificity, diversity, and regulation in TGF- β superfamily signaling. *The FASEB Journal*,13,2105-2124.
- RAO MS. (2004) Stem sense: a proposal for the classification of stem cells. *Stem Cells and Development*,13,452-455.
- REDDY JR, LATHA P, GOWDA B, MANVIKAR V, VIJAYALAXMI DB, PONANGI KC. (2014) Smear layer and debris removal using manual Ni-Ti files compared with rotary Protaper Ni-Ti files-An In-Vitro SEM study. *Journal of International Oral Health: JIOH*,6,89.
- REIBLE B, SCHMIDMAIER G, MOGHADDAM A, WESTHAUSER F. (2018) Insulin-like growth factor-1 as a possible alternative to bone morphogenetic protein-7 to induce osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells in vitro. *International Journal of Molecular Sciences*,19,1674.
- RETAMOZO B, SHABAHANG S, JOHNSON N, APRECIO RM, TORABINEJAD M. (2010) Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics*,36,520-523.

- RICHMAN MJ. (1957) The use of ultrasonics in root canal therapy and root resection. *Journal of Dental Medicine*,12,12-18.
- RICUCCI D, SIQUEIRA JR JF, LOGHIN S, LIN LM. (2017) Pulp and apical tissue response to deep caries in immature teeth: A histologic and histobacteriologic study. *Journal of Dentistry*,56,19-32.
- RIMONDINI L, MELE S. (2009) Stem cell technologies for tissue regeneration in dentistry. *Minerva Stomatologica*,58,483-500.
- RING KC, MURRAY PE, NAMEROW KN, KUTTLER S, GARCIA-GODOY F. (2008) The comparison of the effect of endodontic irrigation on cell adherence to root canal dentin. *Journal of Endodontics*,34,1474-1479.
- ROBERTS-CLARK D, SMITH A. (2000) Angiogenic growth factors in human dentine matrix. *Archives of Oral Biology*,45,1013-1016.
- RODELLA LF, FAVERO G, BONINSEGNA R, BUFFOLI B, LABANCA M, SCARÌ G, SACCO L, BATANI T, REZZANI R. (2011) Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microscopy Research and Technique*,74,772-777.
- ROSSI-FEDELE G, DOĞRAMACI EJ, GUASTALLI AR, STEIER L, DE FIGUEIREDO JAP. (2012) Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *Journal of Endodontics*,38,426-431.
- ROSSMANN JA, COBB CM. (1995) Lasers in periodontal therapy. *Periodontology* 2000,9,150-164.
- RÖDIG T, SEDGHI M, KONIETSCHKE F, LANGE K, ZIEBOLZ D, HÜLSMANN M. (2010) Efficacy of syringe irrigation, RinsEndo® and passive ultrasonic irrigation in removing debris from irregularities in root canals with different apical sizes. *International Endodontic Journal*,43,581-589.
- RULE D, WINTER G. (1966) Root growth and apical repair subsequent to pulpal necrosis in children. *British Dental Journal*,120,586-590.

- RUPAREL NB, DE ALMEIDA JFA, HENRY MA, DIOGENES A. (2013) Characterization of a stem cell of apical papilla cell line: effect of passage on cellular phenotype. *Journal of Endodontics*,39,357-363.
- RUTHERFORD RB, GU K. (2000) Treatment of inflamed ferret dental pulps with recombinant bone morphogenetic protein-7. *European Journal of Oral Sciences*,108,202-206.
- SADAGHIANI L, GLEESON H, YOUDE S, WADDINGTON R, LYNCH C, SLOAN A. (2016) Growth factor liberation and DPSC response following dentine conditioning. *Journal of Dental Research*,95,1298-1307.
- SAHA SG, SHARMA V, BHARADWAJ A, SHRIVASTAVA P, SAHA MK, DUBEY S, KALA S, GUPTA S. (2017) Effectiveness of various endodontic irrigants on the micro-hardness of the root canal dentin: An in vitro study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*,11, ZC01.
- SAKAI V, ZHANG Z, DONG Z, NEIVA K, MACHADO MADAM, SHI S, SANTOS CFD, NÖR J. (2010) SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. *Journal of Dental Research*,89,791-796.
- SALAMA FS, ABDELMEGID F. (1994) Six percent citric acid better than hydrogen peroxide in removing smear layer: an in vitro pilot study. *Pediatric Dentistry*,16,424-424.
- SASSONE L, FIDEL R, FIGUEIREDO L, FIDEL S, FAVERI M, FERES M. (2007) Evaluation of the microbiota of primary endodontic infections using checkerboard DNA–DNA hybridization. *Oral Microbiology and Immunology*, 22,390-397.
- SCELZA MFZ, DANIEL RLP, SANTOS EM, JAEGER MMM. (2001) Cytotoxic effects of 10% citric acid and EDTA-T used as root canal irrigants: an in vitro analysis. *Journal of Endodontics*, 27,741-743.
- SCHMALZ G, SMITH AJ. (2014) Pulp development, repair, and regeneration: challenges of the transition from traditional dentistry to biologically based therapies. *Journal of Endodontics*,40, 2-5.

- SCHMIDT TF, TEIXEIRA CS, FELIPPE MC, FELIPPE WT, PASHLEY DH, BORTOLUZZI EA. (2015) Effect of ultrasonic activation of irrigants on smear layer removal. *Journal of Endodontics*,41,1359-1363.
- SCHWARTZ-ARAD D, HERZBERG R, LEVIN L. (2005) Evaluation of long-term implant success. *Journal of Periodontology*,76,1623-1628.
- SEGURA JJ, CALVO JR, GUERRERO JM, SAMPEDRO C, JIMENEZ A, LLAMAS R. (1996) The disodium salt of EDTA inhibits the binding of vasoactive intestinal peptide to macrophage membranes: endodontic implications. *Journal of Endodontics*,22,337-340.
- SENGER DR, GALLI SJ, DVORAK AM, PERRUZZI CA, HARVEY VS, DVORAK HF. (1983) Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*,219,983-985.
- SEO B-M, MIURA M, GRONTHOS S, BARTOLD PM, BATOULI S, BRAHIM J, YOUNG M, ROBEY PG, WANG CY, SHI S. (2004) Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *The Lancet*,364,149-155.
- SHEEHY E, ROBERTS G. (1997) Use of calcium hydroxide for apical barrier formation and healing in non-vital immature permanent teeth: a review. *British Dental Journal*,183,241-246.
- SIM T, KNOWLES J, NG YL, SHELTON J, GULABIVALA K. (2001) Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *International Endodontic Journal*,34,120-132.
- SIMON S, SMITH AJ, BERDAL A, LUMLEY PJ, COOPER PR. (2010) The MAP kinase pathway is involved in odontoblast stimulation via p38 phosphorylation. *Journal of Endodontics*,36,256-259.
- SIQUEIRA JR JF, RÔÇAS IN. (2011) Optimising single-visit disinfection with supplementary approaches: A quest for predictability. *Australian Endodontic Journal*,37,92-98.
- SIQUEIRA JR JF, BATISTA MM, FRAGA RC, DE UZEDA M. (1998) Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-

negative anaerobes and facultative bacteria. *Journal of Endodontics*,24,414-416.

SIRTES G, WALTIMO T, SCHAETZLE M, ZEHNDER M. (2005) The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. *Journal of Endodontics*,31,669-671.

SIX N, LASFARGUES J-J, GOLDBERG M. (2002) Differential repair responses in the coronal and radicular areas of the exposed rat molar pulp induced by recombinant human bone morphogenetic protein 7 (osteogenic protein 1). *Archives of Oral Biology*,47,177-187.

SLOAN A, COUBLE M-L, BLEICHER F, MAGLOIRE H, SMITH A, FARGES J-C. (2001) Expression of TGF- β receptors I and II in the human dental pulp by in situ hybridization. *Advances in Dental Research*,15,63-67.

SMITH A, LUMLEY P, TOMSON P, COOPER P. (2008) Dental regeneration and materials-a partnership. *Clinical Oral Investigations*,12,103-108.

SMITH AJ, DUNCAN HF, DIOGENES A, SIMON S, COOPER PR. (2016) Exploiting the bioactive properties of the dentin-pulp complex in regenerative endodontics. *Journal of Endodontics*,42,47-56.

SMITH AJ, CASSIDY N, PERRY H, BEGUE-KIRN C, RUCH J-V, LESOT H. (2003) Reactionary dentinogenesis. *International Journal of Developmental Biology*,39,273-280.

SMITH PC, MARTÍNEZ C, CÁCERES M, MARTÍNEZ J. (2015) Research on growth factors in periodontology. *Periodontology 2000*,67,234-250.

SOLUTIONS S. (2000) Common Buffers, Media, and Stock Solutions.

SOMOGYI E, PETERSSON U, SUGARS R, HULTENBY K, WENDEL M. (2004) Nucleobindin-a Ca²⁺-Binding Protein Present in the Cells and Mineralized Tissues of the Tooth. *Calcified Tissue International*,74,366-376.

SONOYAMA W, LIU Y, YAMAZA T, TUAN RS, WANG S, SHI S, HUANG GT-J. (2008) Characterization of the apical papilla and its residing stem cells

from human immature permanent teeth: a pilot study. *Journal of Endodontics*,34,166-171.

SONOYAMA W, LIU Y, FANG D, YAMAZA T, SEO B-M, ZHANG C, LIU H, GRONTHOS S, WANG C-Y, SHI S. (2006) Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *Plos One*,1.

STOJICIC S, ZIVKOVIC S, QIAN W, ZHANG H, HAAPASALO M. (2010) Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. *Journal of Endodontics*,36,1558-1562.

ŞEN BH, SAFAVI KE, SPÅNGBERG LS. (1999) Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *Journal of Endodontics*,25,235-238.

TAKAHASHI K, YAMANE A, BRINGAS P, CATON J, SLAVKIN HC, ZEICHNER-DAVID M. (1998) Induction of amelogenin and ameloblastin by insulin and insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) during embryonic mouse tooth development in vitro. *Connective Tissue Research*,38,269-278.

TATSUTA CT, MORGAN LA, BAUMGARTNER JC, ADEY JD. (1999) Effect of calcium hydroxide and four irrigation regimens on instrumented and uninstrumented canal wall topography. *Journal of Endodontics*,25,93-98.

TAWIL PZ, DUGGAN DJ, GALICIA JC. (2015) MTA: a clinical review. Compendium of continuing education in dentistry. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*,36,247.

TAWIL PZ, TROPE M, CURRAN AE, CAPLAN DJ, KIRAKOZOVA A, DUGGAN DJ, TEIXEIRA FB. (2009) Periapical microsurgery: an in vivo evaluation of endodontic root-end filling materials. *Journal of Endodontics*,35,357-362.

TOMSON PL, GROVER LM, LUMLEY PJ, SLOAN AJ, SMITH AJ, COOPER PR. (2007) Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate. *Journal of Dentistry*,35,636-642.

- TOPÇUOĞLU HS, KÖSEOĞLU M. (2015) Effect of Er: YAG and Nd: YAG lasers on the mineral content of root canal dentin. *Lasers in Medical Science*,30,809-813.
- TORABINEJAD M, CHIVIAN N. (1999) Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*,25,197-205.
- TORABINEJAD M, WATSON T, FORD TP. (1993) Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *Journal of Endodontics*,19,591-595.
- TORNECK CD, SMITH J. (1970) Biologic effects of endodontic procedures on developing incisor teeth: I. Effect of partial and total pulp removal. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*,30,258-266.
- TORNECK CD, SMITH JS, GRINDALL P. (1973) Biologic effects of endodontic procedures on developing incisor teeth: IV. Effect of débridement procedures and calcium hydroxide—camphorated parachlorophenol paste in the treatment of experimentally induced pulp and periapical disease. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*,35,541-554.
- TREVINO EG, PATWARDHAN AN, HENRY MA, PERRY G, DYBDAL-HARGREAVES N, HARGREAVES KM, DIOGENES A. (2011) Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. *Journal of Endodontics*,37,1109-1115.
- TSUKAMOTO Y, FUKUTANI S, SHIN-IKE T, KUBOTA T, SATO S, SUZUKI Y, MORI M. (1992) Mineralized nodule formation by cultures of human dental pulp-derived fibroblasts. *Archives of Oral Biology*,37,1045-1055.
- TZIAFAS D, ALVANOU A, PANAGIOTAKOPOULOS N, SMITH A, LESOT H, KOMNENOU A, RUCH J. (1995) Induction of odontoblast-like cell differentiation in dog dental pulps after in vivo implantation of dentine matrix components. *Archives of Oral Biology*,40,883-893.
- UM I-W, KIM Y-K, MITSUGI M. (2017) Demineralized dentin matrix scaffolds for alveolar bone engineering. *Journal of Indian Prosthodontic Society*,17,120.

- UNTERBRINK A, O'SULLIVAN M, CHEN S, MACDOUGALL M. (2002) TGF β -1 downregulates DMP-1 and DSPP in odontoblasts. *Connective Tissue Research*,43,354-358.
- URIST MR, DOWELL TA, HAY PH, STARTES BS. (1968) Inductive substrates for bone formation. *Clinical Orthopaedics and Related Research*,59,59-96.
- VAN DER SLUIS L, GAMBARINI G, WU M, WESSELINK P. (2006) The influence of volume, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation. *International Endodontic Journal*,39,472-476.
- VELEGRAKIS A, SFAKIOTAKI M, SIFAKIS S. (2017) Human placental growth hormone in normal and abnormal fetal growth. *Biomedical Reports*,7,115-122.
- VERTUCCI FJ. (1984) Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*,58,589-599.
- VIOLICH D, CHANDLER N. (2010) The smear layer in endodontics—a review. *International Endodontic Journal*,43,2-15.
- VURAL P. Fizyolojik ve Patolojik Anjiogenezde Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörünün Rolü. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 16(1): 53-62.
- WALSH LJ, GEORGE R. (2017) Activation of alkaline irrigation fluids in endodontics. *Materials*,10,1214.
- WATANABE S, SAEGUSA H, ANJO T, EBIHARA A, KOBAYASHI C, SUDA H. (2010) Dentin strain induced by laser irradiation. *Australian Endodontic Journal*,36,74-78.
- WEISSMAN IL. (2000) Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell*,100,157-168.
- WELLER RN, BRADY JM, BERNIER WE. (1980) Efficacy of ultrasonic cleaning. *Journal of Endodontics*,6,740-743.

- WIDBILLER M, EIDT A, HILLER K-A, BUCHALLA W, SCHMALZ G, GALLER K. (2017) Ultrasonic activation of irrigants increases growth factor release from human dentine. *Clinical Oral Investigations*,21,879-888.
- WIESSE P, SILVA-SOUSA Y, PEREIRA RD, ESTRELA C, DOMINGUES L, PÉCORÁ JD, SOUSA-NETO MDD. (2018) Effect of ultrasonic and sonic activation of root canal sealers on the push-out bond strength and interfacial adaptation to root canal dentine. *International Endodontic Journal*,51,102-111.
- YADLAPATI M, BIGUETTI C, CAVALLA F, NIEVES F, BESSEY C, BOHLULI P, GARLET GP, LETRA A, FAKHOURI WD, SILVA RM. (2017) Characterization of a vascular endothelial growth factor-loaded bioresorbable delivery system for pulp regeneration. *Journal of Endodontics*,43,77-83.
- YAMADA RS, ARMAS A, GOLDMAN M, LIN PS. (1983) A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. *Journal of Endodontics*,9,137-142.
- YAMAGUCHI M, YOSHIDA K, SUZUKI R, NAKAMURA H. (1996) Root canal irrigation with citric acid solution. *Journal of Endodontics*,22,27-29.
- YAMAMURA M, UYEMURA K, DEANS RJ, WEINBERG K, REA TH, BLOOM BR, MODLIN RL. (1991) Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science*,254,277-279.
- YAMASHIRO T, TUMMERS M, THESLEFF I. (2003) Expression of bone morphogenetic proteins and Msx genes during root formation. *Journal of Dental Research*,82,172-176.
- YASUDA Y, KAWAMORITA T, YAMAGUCHI H, SAITO T. (2010) Bactericidal effect of Nd: YAG and Er: YAG lasers in experimentally infected curved root canals. *Photomedicine and Laser Surgery*,28, 75-78.
- YOUNG CS, TERADA S, VACANTI JP, HONDA M, BARTLETT JD, YELICK PC. (2002) Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds. *Journal of Dental Research*,81,695-700.

- YU Q, STAMENKOVIC I. (2000) Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF- β and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes & Development*,14,163-176.
- ZENG Q, NGUYEN S, ZHANG H, CHEBROLU HP, ALZEBDEH D, BADI MA, KIM JR, LING J, YANG M. (2016) Release of growth factors into root canal by irrigations in regenerative endodontics. *Journal of Endodontics*,42,1760-1766.
- ZHANG W, WALBOOMERS XF, SHI S, FAN M, JANSEN JA. (2006) Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. *Tissue Engineering*,12,2813-2823.
- ZHAO S, SLOAN A, MURRAY P, LUMLEY P, SMITH A. (2000) Ultrastructural localisation of TGF- β exposure in dentine by chemical treatment. *Histochemical Journal*,32,489-494.
- ZHU X, YIN X, CHANG JW, WANG Y, CHEUNG GS, ZHANG C. (2013) Comparison of the antibacterial effect and smear layer removal using photon-initiated photoacoustic streaming aided irrigation versus a conventional irrigation in single-rooted canals: an in vitro study. *Photomedicine and Laser Surgery*,31,371-377.

ÖZGEÇMİŞ

Dilek Hançerlioğulları, 17.03.1976 tarihinde Ankara'da doğdu. İlköğrenimi, Kozluk İlkokulu ve Eskipazar İlkokulu'nda bitirdi. Orta ve lise eğitimini Çankırı Anadolu Lisesi'nde 1994 yılında tamamladı. 1994-1995 yıllarında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde ve 1995-2000 yılları arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde eğitim gördü. Nallıhan Devlet Hastanesi, Etlik Sağlık Ocağı ve Tepebaşı Ağız Diş Sağlığı Merkezi'nde görev aldı. 2017 yılından bu yana, Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır. Evli ve iki çocuk annesidir.

EKLER

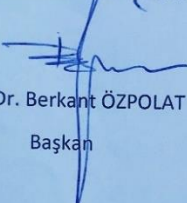
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi:15.05.2019
Toplantı Sayısı: 19/09
Karar No: 2019.05.18

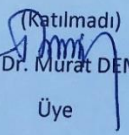
Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu 15.05.2019 Çarşamba günü saat 11:00'de Prof.Dr. Berkant ÖZPOLAT başkanlığında toplanarak Kırıkkale Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti AD. Prof. Dr. Ali ERDEMİR'in "Farklı İrrigasyon ve Aktivasyon Tekniklerinin Dentinden Büyüme Faktörlerinin Salınımına Etkisi" isimli başvurusunu görüştü.

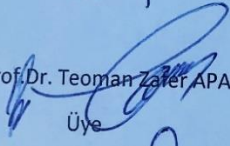
KARAR:

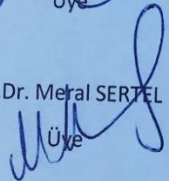
Kırıkkale Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti AD. Prof. Dr. Ali ERDEMİR'in "Farklı İrrigasyon ve Aktivasyon Tekniklerinin Dentinden Büyüme Faktörlerinin Salınımına Etkisi" isimli başvurusu Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkelere uygun bulunmuştur.



Prof.Dr. Berkant ÖZPOLAT
Başkan

Prof.Dr. Ali Ahmet DOĞAN
Başkan Vekili

(Katılmadı)

Prof.Dr. Murat DEMİRBAŞ
Üye

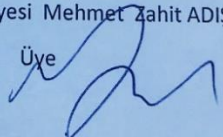

Prof.Dr. Teoman Zafar APAN
Üye


Doç.Dr. Meral SERTEL
Üye


Dr.Öğr. Üyesi Funda ERDUGAN
Üye

Dr.Öğr. Üyesi Oktay AYDIN
Üye

(Katılmadı)


Dr.Öğr. Üyesi Mehmet Zahit ADIŞEN
Üye

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ETİK KURUL BAŞKANLIĞINA,

Girişimsel olmayan Etik Kurul Başkanlığından 15.05.2019 tarihli ve 2019.05.18 karar numarası ile onayı alınan "Farklı İrrigasyon ve Aktivasyon Tekniklerinin Dentinden Büyüme Faktörlerinin Salınımına Etkisi" isimli çalışmanın sonuçlarında istatistiksel değerlendirilmenin daha dengeli olması amacıyla kontrol grubundaki diş sayısının 5'ten 10'a çıkarılmasına karar verilmiştir. Konunun etik açıdan değerlendirilerek tarafıma bilgi verilmesi için gereğinin yapılmasını;

Bilgilerinize arz ederim. 29.07.2020

Prof.Dr.Ali ERDEMİR

Proje Yürütücüsü

Girişimsel Olmayan Etik Kurul
Onay Verilmiştir

26.08.2020

Ali

