



**T.C.**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI ŞELASYON AJANLARININ FARKLI SÜRELERDE  
UYGULANMASININ KÖK DENTİNİNDEN BÜYÜME  
FAKTÖRLERİNİN SALINIMINA ETKİSİ**

**DENİZ ERDOĞAN**

**ENDODONTİ ANABİLİM DALI**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Ali ERDEMİR**

**KIRIKKALE 2022**





**T.C.**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI ŞELASYON AJANLARININ FARKLI SÜRELERDE  
UYGULANMASININ KÖK DENTİNİNDEN BÜYÜME  
FAKTÖRLERİNİN SALINIMINA ETKİSİ**

**DENİZ ERDOĞAN**

**ENDODONTİ ANABİLİM DALI**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Ali ERDEMİR**

**KIRIKKALE 2022**

## TEZ KABUL VE ONAYI

Deniz ERDOĞAN tarafından hazırlanan “FARKLI ŞELASYON AJANLARININ FARKLI SÜRELERDE UYGULANMASININ KÖK DENTİNİNDE BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN SALINIMINA ETKİSİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman/Başkan: Prof. Dr. Ali ERDEMİR

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı İmza:

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Doç. Dr. Volkan ARIKAN

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı İmza:

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ali TÜRKYILMAZ

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı İmza:

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Yağız ÖZBAY

Karabük Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı İmza:

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Gözde AKBAL DİNÇER

Okan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı İmza:

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 14/02/2022

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet Akif KARSLI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Deniz ERDOĞAN

13.02.2022

## ÖZET

### FARKLI ŞELASYON AJANLARININ FARKLI SÜRELERDE UYGULANMASININ KÖK DENTİNİNDEN BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN SALINIMINA ETKİSİ

Bu çalışmanın amacı, farklı şelatlama ajanlarının ve uygulama süresinin çekilmiş insan dişlerinin dentinlerinden transforme edici büyüme faktörü (TGF- $\beta$ 1), vasküler endotelial büyüme faktörü-A (VEGF-A) ve insülin büyüme faktörü-1 (IGF-1) salınımı üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

Bu çalışmada; 75 adet tek kanallı premolar dişler kullanıldı. Dişler dekorone edildikten sonra 8 mm uzunluğunda kök segmentleri hazırlandı. #1-4 nolu Gates Glidden frezlerle preparasyon yapıldı. Tüm kök segmentlerine %1,5 NaOCl irrigasyonunun ardından kullanılan irrigasyon solüsyonuna (%17 EDTA, %9 HEBP, %6 BA, NSS) göre 4 ana gruba ve uygulama sürelerine (5, 10 ve 20 dk) göre 3 alt gruba ayrıldı. Ardından örnekler; fosfat tamponlu salin solüsyonunda 37°C'de saklanarak 1. ve 7. günlerde ELISA yöntemiyle TGF- $\beta$ 1, VEGF-A ve IGF-1 salınım düzeyleri ölçüldü ve kök kanalı hacmine göre hesaplamalar yapıldı. Normal dağılan verilerde tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi, normal dağılmayan verilerde Kruskal Wallis ve Wilcoxon testi kullanıldı.

Tüm büyüme faktörlerinde EDTA grubu NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek salınım gerçekleştirmiştir ( $p<0,001$ ). EDTA'nın farklı sürelerde uygulanmasıyla büyüme faktörlerinin salınımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

Bu çalışmanın sınırları içerisinde; tüm irrigasyon solüsyonlarının büyüme faktörlerinin salınım seviyelerini zamana bağlı olarak belirgin düzeyde arttırdığı izlenmiştir. EDTA ve HEBP'nin 10 dk uygulanmasının tüm büyüme faktörlerinde en yüksek miktarda salınımına neden olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Büyüme Faktörleri, Borik asit, EDTA, Etidronik asit, Rejeneratif Endodonti

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF THE APPLICATION OF DIFFERENT CHELATING AGENTS IN DIFFERENT APPLICATION TIME ON THE RELEASE OF GROWTH FACTORS FROM THE ROOT DENTINE

The aim of this study was to evaluate the effect of different chelating agents and application time on transforming growth factor (TGF- $\beta$ 1), vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) and insulin growth factor-1 (IGF-1) release levels from the dentin of extracted human teeth.

In this study; after 75 single canal premolars were decorated, 8 mm long root segments were prepared. Preparations were made with Gates Glidden burs #1-4. After irrigation of 1.5% NaOCl to all root segments, they were divided into 4 main groups according to the irrigation solution used (17% EDTA, 9% HEBP, 6% BA, NSS) and 3 subgroups according to the application times (5, 10 and 20 minutes). Then, the samples were stored in phosphate buffered saline solution at 37°C. TGF- $\beta$ 1, VEGF-A and IGF-1 release levels were measured on the 1st and 7th days by ELISA and calculations were made according to the root canal volume. One-way analysis of variance and Tukey test were used for normally distributed data, Kruskal Wallis and Wilcoxon test was used for data not normally distributed.

In all growth factors, the EDTA group had a significantly higher release than the NSS group ( $p < 0.001$ ). No significant difference was observed in the release of growth factors with the application of EDTA at different times ( $p > 0.05$ ).

Within the limits of this study; it was determined that all irrigation solutions significantly increased the release levels of growth factors over time and 10 min application of EDTA and HEBP caused the highest amount of release in all growth factors.

**Keywords:** Boric acid, EDTA, Etidronic acid, Growth Factors, Regenerative Endodontics

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösterip destekleyen, yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam, Ana Bilim Dalı başkanı ve dekanımız Prof. Dr. Ali ERDEMİR'e,

Biyokimyasal değerlendirme aşamalarında desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Üçler KISA ve Arş. Gör. Dr. Ercan TEKİN'e,

İstatistiksel analizler konusunda değerli yardımları için Prof. Dr. Serkan ERAT'a,

Doktora sürecinin özellikle son zamanlarında dönüşümüne katkıda bulunan ve bana aynalık yapan Nihan BERKDEMİR, Gülşen ERMİŞ ve bölümdeki diğer çalışma arkadaşlarıma,

Mekan olarak uzakta gibi görünen ama varlıklarını yakınımda hissettiğim ve iyi ki tanıdığım dediğim değerli meslektaşlarım Gözde AKBAL DİNÇER ve Yağız ÖZBAY'a,

Bu süreçte hem maddi hem manevi destekleriyle yanımda olup bana güç verdikleri için annem Tülay ERDOĞAN ve babam Nurettin ERDOĞAN'a,

İnsanın varoluşunun onurlandırılması gerektiğine inandığım için kendi varlığıma,

Saygı, sevgi ve şükranlarımı sunuyorum.



# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>viii</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Genel Bilgiler</b> .....	<b>4</b>
<b>1.2. Dış Gelişimi</b> .....	<b>5</b>
<b>1.3. İmmatür Nekrotik Daimi Dişlerin Tedavisi</b> .....	<b>7</b>
1.3.1. Apeksogenez .....	8
1.3.2. Apeksifikasyon .....	9
1.3.3. Revaskularizasyon .....	10
<b>1.4. Rejeneratif Endodonti</b> .....	<b>10</b>
1.4.1. Kök Hücreler.....	12
1.4.2. Doku İskeleleri.....	14
1.4.2.1. Doğal İskeleler .....	15
1.4.2.2 Doğal Olmayan İskeleler.....	18
1.4.3. Büyüme Faktörleri .....	19
1.4.3.1. TGF- $\beta$ .....	20
1.4.3.2. VEGF .....	22
1.4.3.3. IGF .....	23
<b>1.5. İrrigasyon Solüsyonları</b> .....	<b>25</b>
1.5.1. NaOCl .....	26
1.5.2. EDTA.....	28

1.5.3. HEBP .....	30
1.5.4. BA.....	32
1.5.5. NSS .....	33
1.6. İrrigasyon Solüsyonlarının Uygulama Süreleri.....	34
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>37</b>
2.1. Etik Kurul Onayı.....	37
2.2. Dişlerin Çalışmaya Dâhil Edilme Kriterleri .....	37
2.3. Kök Segmentlerinin Hazırlanması.....	38
2.4. İrrigasyon Solüsyonlarının Hazırlanması .....	41
2.5. İrrigasyon Solüsyonlarının Uygulanması.....	42
2.6. Örneklerin Toplanması ve Saklanması .....	43
2.7. ELISA Ölçümlerinin Yapılması.....	44
2.8. Büyüme Faktörlerinin Birim Konsantrasyonlarının Hesaplanması ....	47
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>49</b>
<b>4. TARTIŞMA .....</b>	<b>59</b>
<b>5. SONUÇ.....</b>	<b>77</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>78</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>98</b>
<b>EK-1: Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul Kararı .....</b>	<b>99</b>
<b>EK-2: Akademik Kurul Kararı.....</b>	<b>100</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>101</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Dişlerden elde edilen radyografi örnekleri.....	37
2.2. Kullanılan PBS solüsyonu.....	38
2.3. Çekilen premolar dişlerin temizlendikten sonra steril cam kavanozlarda saklanması .....	38
2.4. Kök segmentlerinin 8 mm boyutunda hazırlanması.....	39
2.5. Kök segmentlerinin dış kök yüzeylerinin tırnak cilası ile kapatılması .....	39
2.6. NaOCl solüsyonu ve tek kullanımlık plastik enjektör .....	40
2.7. Kök segmentlerinin eppendorf tüplerine yerleştirilmesi.....	40
2.8. %17 EDTA ve NSS solüsyonları .....	41
2.9. HEBP %60 sıvı formu ve %6 konsantrasyonda HEBP çözeltisi hazırlanması .....	41
2.10. Toz BA'nın %6 konsantrasyonda hazırlanması .....	42
2.11. İrrigasyon solüsyonlarının uygulanması .....	42
2.12. Örneklerin saklandığı etüv .....	43
2.13. Otomatik pipet ve örneklerden PBS toplanması .....	43
2.14. Örneklerin 37° C'de etüvde inkübe edilmesi .....	44
2.15. ELISA Bio Tek EL×50 otomatik yıkayıcısı .....	45
2.16. ELISA kitlerinde inkübasyondan sonraki renk değişimi .....	45
2.17. ELISA kitlerine stop solüsyonu eklendikten sonraki renk değişimi.....	46
2.18. BioTek Uquant MQ×200 ELISA okuyucusu.....	46
2.19. Tomografik ölçümlerin yapılması (D=1.2 mm d=1.1 mm L=8 mm) .....	47

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

<b>3.1.</b>	Uygulama süreleri ve irrigasyon solüsyonları gözardı edildiğinde, tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları.....	49
<b>3.2.</b>	Uygulama süreleri ve örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, tüm büyüme faktörlerinin irrigasyon solüsyonlarına göre salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları.....	50
<b>3.3.</b>	Örnek alma zamanı ve irrigasyon solüsyonları gözardı edildiğinde, tüm büyüme faktörlerinin 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları .....	50
<b>3.4.</b>	İrrigasyon solüsyonları gözardı edildiğinde, 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları.....	51
<b>3.5.</b>	Örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, irrigasyon solüsyonlarının 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları .....	53
<b>3.6.</b>	Uygulama süreleri gözardı edildiğinde, irrigasyon solüsyonlarının tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları .....	55
<b>3.7.</b>	EDTA grubunda 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları ..	55
<b>3.8.</b>	HEBP gruplarında 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları ..	56
<b>3.9.</b>	BA grubunda 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları ..	57
<b>3.10.</b>	NSS grubunda 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları ..	58

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>BA</b>	: Borik asit
<b>BMP</b>	: Kemik morfogenetik protein
<b>Ca(OH)<sub>2</sub></b>	: Kalsiyum hidroksit
<b>CBCT</b>	: Konik ışınli bilgisayarlı tomografi
<b>CHX</b>	: Klorheksidin diğlukonat
<b>DFSC</b>	: Dental folikül kök hücreleri
<b>DPSC</b>	: Dental pulpa kök hücresi
<b>dk</b>	: Dakika
<b>EDTA</b>	: Etilen diamin tetraasetik asit
<b>ELISA</b>	: Enzime bağı immunosorban yöntem
<b>FGF</b>	: Fibroblast büyüme faktörü
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>HEKK</b>	: Hertwig'in epitel kök kılıfı
<b>HEBP</b>	: Etidronik asit
<b>IGF-1</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>µm</b>	: Mikrometre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>MTA</b>	: Mineral Trioksit Agregat
<b>NaOCI</b>	: Sodyum hipoklorit
<b>NSS</b>	: Normal salin solüsyonu
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>PBS</b>	: Fosfat tamponlu salin solüsyonu
<b>PDGF</b>	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü

- PDLSC** : Periodontal ligament kök hücreleri  
 **$\pi$**  : Pi sayısı  
**pg** : Pikogram  
**PRF** : Plateletten zengin fibrin  
**PRP** : Plateletten zengin plazma  
**SA** : Sitrik asit  
**SCAP** : Apikal papilla kök hücresi  
**SHED** : Eksfoliyeye olmuş insan süt dişi kök hücreleri  
**TGF- $\beta$ 1** : Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$ 1  
**VEGF-A** : Vasküler endotelial büyüme faktörü-A  
 **$^{\circ}$  C** : Santigrad derece

# 1. GİRİŞ

Doku mühendisliği; dokuların yapılarının, hastalık veya travma sonucu hasar görmüş ya da bozulmuş fizyolojilerinin fonksiyonel restorasyonu ile ilgilenen bilim dalı olup, rejeneratif tıp ve diş hekimliği alanlarındaki gelişmelere öncülük etmektedir [1]. Rejeneratif endodonti ise; hasar görmüş, hastalıklı veya eksik dentin-pulpa kompleksi hücrelerini benzer orijine sahip canlı hücrelerle fizyolojik fonksiyonlarını devam ettirebilmesi amacıyla biyolojik replasmanı kapsar [2]. Rejeneratif endodontinin gelişimi, biyolojik rejenerasyonu uyaran veya hızlandıran büyüme ve farklılaşma faktörlerinden faydalanan biyolojik tedavideki ilerlemelere bağlıdır [3].

Endodontide nekrotik pulpalı immatür dişlerin tedavisi sorun olmaya devam etmektedir. Pulpa nekrotik hale geldiğinde kök gelişimi durur ve uzun vadede yüksek kök kırığı riski ile diş nispeten zayıf bırakır. Rejeneratif endodontik prosedürler, pulpa-dentin kompleksi hücrelerinin yerini almak üzere tasarlanmış biyolojik bazlı prosedürler olarak kullanılmaktadır [4]. Pulpa-dentin kompleksinin başarılı bir şekilde yenilenmesi için doku mühendisliğinin üçlü triadı olan kök hücre, büyüme faktörleri ve iskeleye ihtiyaç vardır [3]. Rejeneratif endodonti için güncel klinik protokollere göre revaskülarizasyon ile kök kanallarının dezenfektanlarla yıkanmasının ardından, periapikal dokulardan kanamayı indükleyerek kanal boşluğunun kanla doldurulması hedeflenir [5]. Kan, kök kanal boşluğunda yeni doku oluşumunu destekleyecek ve devam eden kök oluşumunu teşvik ederek kök hücreler, iskele ve büyüme faktörlerini sağlayacaktır [6].

Rejeneratif endodontide büyüme faktörleri, dental pulpa kök hücre (DPSC) göçünde, proliferasyonunda ve farklılaşmasında kritik bir rol oynamaktadır [7, 8]. Büyüme faktörleri, DPSC migrasyonunu, çoğalmasını ve farklılaşmasını içeren hücresel aktiviteleri etkilerler. Büyüme faktörleri ve sitokinler; intrasellüler iletişime aracılık ederler. Dentin matriksinin büyüme faktörlerinin bir rezervuarı olduğu gösterilmiştir [9]. Diş gelişimi sırasında, çeşitli biyoaktif moleküller odontoblastlar tarafından salgılanır ve dentin matriksinden inaktif bir formda sekrete edilir ve bunların birçoğu dentin mineral bileşeni ile bağlanır [10]. Bu büyüme faktörleri daha sonra tekrar aktif

hale getirilebilir ve demineralizasyon yoluyla dentin matriksinden salınabilirler. Dentin matriksi; transforme edici büyüme faktörü (TGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), kemik morfogenezik protein (BMP), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi molekülleri bünyesinde bulundurur [11, 12]. Bu biyoaktif moleküller, dental materyallerin, asitlerin veya şelasyon ajanlarının dentin matriksine uygulanmasıyla salınabilirler [13, 14].

TGF- $\beta$ 1 hücre göçü, çoğalması, farklılaşması ve hücre dışı matriks sentezi gibi çok çeşitli hücresel aktiviteleri düzenler. TGF- $\beta$ 1'in dental pulpa doku kültüründe hücre proliferasyonunu, hücre dışı matriks üretimini [15] ve odontoblastik farklılaşmayı arttırdığı gösterilmiştir [16]. TGF- $\beta$ 1 aynı zamanda dental pulpa yaralanmalarında immün cevapta önemli bir rol oynar [17].

IGF ailesi, hücre çoğalması ve farklılaşması ile odontogeneze ve onarıma katkıda bulunur [18]. IGF-1'in mineralizasyon ve hücre farklılaşmasını uyardığı düşünülmektedir [19].

VEGF'nin fonksiyonları; endotelial hücrelerin proliferasyonunu sağlamak ve yara bölgesinde vaskülarizasyonu uyarmaktır [20]. Vasküler geçirgenlik faktörü olarak da bilinen VEGF-A; hücre göçünü, çoğalmasını ve damar geçirgenliğini artırır [21]. VEGF'nin, osteojenik koşullar altında DPSC'nin proliferasyonunu ve farklılaşmasını artırarak etki ettiği gösterilmiştir [22].

Günümüzde birçok irrigasyon solüsyonu rejeneratif endodontide kullanılmaktadır. Irrigasyon solüsyonunun tipi, büyüme faktörü salınımı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [23]. Sodyum hipoklorit (NaOCl), rejeneratif endodontik prosedürler sırasında olgunlaşmamış dişlerin dezenfeksiyonu için kök kanal yıkama solüsyonu olarak kullanılmıştır [24]. NaOCl, nekrotik dokuyu eritmek ve kök kanal boşluğunda bulunan biyofilmleri etkisiz hale getirmek için yaygın olarak %0,5 ile %6 arasındaki konsantrasyonlarda kullanılır [25, 26]. NaOCl'nin rejeneratif endodontik tedavilerdeki dezavantajları, smear tabakasını tek başına kaldıramaması ve kök hücrelere toksik olmasıdır [23].

Endodontide şelasyon ajanı olarak birçok farklı solüsyon kullanılmaktadır. Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA), Etidronik asit (HEBP), Borik asit (BA), sitrik asit (SA), fitik asit ve fosforik asit bunlardan bazılarıdır. Şelasyon ajanları, smear



tabakasının mineralize kısmını uzaklaştırması sebebiyle endodontide kullanılmaktadır.

NaOCl'nin apikal papilla kök hücreleri (SCAP) üzerindeki negatif etkileri son irrigasyonda EDTA kullanımı ile minimale indirgenmektedir [27]. EDTA gibi şelasyon ajanları, kalsiyumun inorganik kısmının, kalsiyum fosfat kristal yapısından ayrılmasına neden olarak yüzeysel dentin tabakasının demineralizasyonuna sebep olur [28]. EDTA sıklıkla %17 konsantrasyonda kullanılır. Rejeneratif endodontide EDTA, açık dentin tübüllerinde organik matriksin kollajen fibrillerinin açığa çıkmasına neden olur ve böylece integrin reseptörleri yoluyla hücreler arası bağlantı kurulabilir [28, 29]. Ayrıca, EDTA uygulamasının, dentin matriksinde sıkışan büyüme faktörlerini ortaya çıkardığı, kök hücrelerin çoğalmasını ve göçünü arttırdığı bildirilmiştir [30, 31]. Bu nedenle, EDTA'nın uzun süreli uygulanması, yeterli miktarda büyüme faktörünün salınımı için uygun olabilir [32].

HEBP'nin, mineralize kemik matriksindeki hidroksiapatit kristallerine absorbe olabilmesi bu bileşiğin anti-rezorptif özelliklerinden sorumlu olduğunu düşündürmektedir [33]. Bugüne kadar NaOCl ile uyumlu olduğu tespit edilen dekalsifikasyon kapasitesine sahip tek kimyasal, HEBP'dir [34, 35]. HEBP'nin, NaOCl ile karıştırıldığında NaOCl'nin antimikrobiyal özelliklerini değiştirmedığı gözlenmiştir. Bu kombinasyonun, hidroklorik asitten daha iyi bir doku eritme kapasitesine sahip olduğu ve daha az sitotoksikite gösterdiği bildirilmiştir [36]. Güncel bir *in vitro* çalışmada; HEBP'nin EDTA'ya göre dentin disklerinden daha fazla miktarda TGF- $\beta$  salınımına neden olduğu gösterilmiştir [37].

BA, çok sayıda klinik ve endüstriyel uygulamaya sahip zayıf bir asittir. Tıpta; kulak-burun-boğaz, kadın hastalıkları, onkoloji gibi farklı branşlarda hastalıkların tedavisi için kullanılmış olup diş hekimliğinde de çeşitli araştırmalara konu olmuştur [38-40]. Periodontolojide; klorheksidine (CHX) alternatif olabileceği bildirilmiş [41], endodontide ise; %5 BA'nın kök dentininden smear tabakayı sınırlı da olsa kaldırabildiği gösterilmiştir [42]. Farklı konsantrasyonlardaki (%2, %4, %6) BA'nın *E. faecalis* biyofilmi üzerinde antibakteriyel etkinliğini araştıran bir çalışmada, artan konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinliğinin de arttığı bildirilmiştir [43]. BA ile ilgili yeterli sayıda endodontik çalışma bulunmamaktadır. BA'nın hem smear tabaka kaldırma yeteneği hem de antibakteriyel özelliği göz önüne alındığında, rejeneratif endodontide kullanımı düşünülebilir.

Rejeneratif endodontide EDTA ile ilgili birçok çalışma olmakla beraber, şelasyon ajanlarının optimum uygulama süreleri hala belirsizliğini korumaktadır. Literatürde EDTA'nın farklı sürelerde kök dentinine uygulanmasının büyüme faktörlerine etkisini araştıran çalışmalar çok sınırlıdır. Bir çalışmada, 10 dk fosfat tampon solüsyonu (PBS) ve 1, 3 ve 10 dk sürelerde EDTA kullanarak kök dentininden TGF- $\beta$ 1 salınımını araştırılmıştır [44]. Başka bir çalışmada ise, EDTA ve SA'nın farklı pH'larda ve konsantrasyonlarda dentin disklerinden TGF- $\beta$ 1 salınımı irrigasyon solüsyonlarını 5, 10 ve 20 dk sürelerde uygulanarak değerlendirilmiştir [32]. Bu çalışmada ise farklı olarak; 5, 10 ve 20 dk sürelerle uygulanacak olan 4 farklı irrigasyon solüsyonunun, 3 farklı büyüme faktörünün kök dentininden salınımına etkisi 2 farklı zaman aralığında değerlendirilmiştir. Rejeneratif endodontide HEBP ile ilgili çok az sayıda çalışma yapılmış olup, BA ile ilgili çalışma mevcut değildir. Yaptığımız araştırmalar doğrultusunda, farklı şelasyon ajanlarının farklı sürelerde uygulanmasının kök dentinindeki büyüme faktörlerine etkisini kök segmentlerinde ve farklı zaman aralıklarında araştıran bir çalışma rejeneratif endodonti literatüründe bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı; EDTA, HEBP, BA ve NSS'nin farklı sürelerde kök dentinine uygulanarak dentin matriksinde sıkışmış olarak bulunan büyüme faktörlerinin salınımına etkisini kök segmentlerinde araştırmak ve şelasyon ajanlarının daha uzun süre uygulanmasıyla salınan büyüme faktörleri miktarının uygulanan asitin cinsine göre değişkenlik gösterip göstermediğini karşılaştırmaktır.

## 1.1. Genel Bilgiler

Günümüzde insanoğlunun en büyük gayelerinden biri, insan ömrünü ve hayat kalitesini uzatmak olmuştur. Aynı nedenle hastalar, doğal dişlerini olabildiğince uzun süre kullanmayı talep etmektedirler. Bu talepleri karşılayabilmek için bir diş hekimliği alt dalı olan "Endodonti" branşı öne çıkmaktadır. Endodonti, insan diş pulpası ve periapikal dokuların morfolojisi, fizyolojisi ve patolojisiyle ilgilenen diş hekimliği dalıdır [45]. Endodontik tedavi; enfekte pulpa dokusunun mekanik ve kimyasal yöntemlerle uzaklaştırılması, temizlenmesi ve biyouyumlu materyallerle doldurulması işlemidir. Ancak, gelişmekte olan güncel materyallere ve tekniklere rağmen, geleneksel endodontik yaklaşımlar dokulardaki biyolojik canlılığı teşvik edememekte,

fizyolojik savunmayı ve sinir iletimini engellemektedir. Bu nedenle geleneksel yöntemlerle %100 başarı elde edilememekte ve diş kaybedilebilmektedir. Bu durum kök gelişimini tamamlamamış dişlerde daha fazla görülmektedir [46, 47]. Tüm bunların nasıl işlediğini anlamak için, öncelikle dişin ve kök kanal sisteminin gelişimini iyi bilmek gerekir.

## 1.2. Diş Gelişimi

Birçok ektodermal organda olduğu gibi diş gelişimi de epitel ve mezenkimal hücreler arasındaki bir dizi karşılıklı etkileşim yoluyla gerçekleşir. Diş gelişiminin ilk belirtisi, intrauterin 6. haftada maksilla ve mandibula uzantılarının laterallerinde ağız epitelin kalınlaşması olarak ortaya çıkar. Bu dönemde ağız boşluğunu döşeyen ektodermin mezoderm içerisine proliferasyonu ile proliferasyon dönemi başlar. Ardından, her bir epitel çizgiden iki uzantı ayrılarak dental ve vestibüler laminalar meydana gelir. Epitelin, mezenkim içine çoğalması ile oluşan yapıya “diş tomurcuğu” adı verilmektedir [48]. Tomurcuğun periferik kısımlarında artmış hücre bölünmesine altta bulunan mezenkim dokusunun hücre bölünmesinin de katılmasıyla “takke” evresine geçilmiş olur. Zamanla diş germi hücreleri morfolojik olarak büyür ve “çan” şeklini alır [49]. Dentini oluşturan odontoblastlar ve mineyi oluşturan ameloblastlar dişlere özgüdür ve diş gelişiminin çan aşamasında son olarak farklılaşırlar. Bu, epitel ve mezenşimin arayüzünde gerçekleşerek iki doku arasındaki etkileşimlerle düzenlenir [50]. Odontoblastları, daha sonra kemik benzeri sert bir doku olan dentin içine mineralleşecek olan kollajenöz hücre dışı bir matriks salgılar. Ameloblastlar ise, mine matriksini biriktirir. Kron morfogenezinden sonra dişlerin kökleri gelişir ve ardından dişler ağız boşluğuna sürerler [49, 51].

Diş kökleri, dişleri çene kemiklerine bağladığı için önemli bir unsurdur. Buna göre, köklerin kaybı kemik desteğinin azalmasına ve dolayısıyla diş fonksiyonunun bozulmasına neden olur. Ayrıca, çiğneme ve dinlenme durumlarında kök, oklüzal kuvvetlerin periodontal ligamentler aracılığıyla çene kemiklerine iletilmesine ve dengelenmesine yardımcı olur. Kök diş kan akışı, beslenme ve his sağlayan nörovasküler demet için bir geçiş yolu görevi görür [52]. Bu yüzden endodontik prosedürleri uygulamadan önce kök kanal gelişimi hakkında yeterli bilgiye sahip olmak gerekir.

Kök gelişimi, mine ve dentin oluşumunun, mine-sement birleşim noktasına ulaşmasıyla başlar. Hertwig'in epitel kök kılıfı (HEKK), kökün veya köklerin şeklinin belirlenmesinden sorumludur. Epitelyal diyafram, apikal açıklığı pulpaya çevirir ve sonunda apikal foramen haline gelir [53, 54]. Kök oluşumu embriyolojik gelişimin çan safhasında, iç ve dış mine epiteli, odontoblastların farklılaşmasında kilit rol oynayan HEKK'yi oluşturmak için iki katmanlı bir epitel duvar olarak gelişir. Dental papil hücrelerinin bir kısmı HEKK'nın iç kısmını oluşturan epitel hücrelerinin mezenşimal hücreleri organize etmesi ile odontoblastlara farklılaşır. Bu farklılaşma sonrası bölgede kök dentini oluşumu başlar ve HEKK kök tamamen oluşana kadar apikal yönde ilerler. İlk dentin tabakası oluştuğunda, HEKK parçalanmaya başlar ve periodontal ligamentte sadece kökün dış kısmında kalıntıları kalır [55, 56]. HEKK devamlılığı, epitelin bölgesel dejenerasyonu ve bağ dokusundaki proliferatif aktivite ile bozulması sonucunda kök dentini ile bağ dokusu birbirleriyle etkileşime geçer. Böylece HEKK kök yüzeyinde artık olarak kalmakta ve "Malassez Epitel Artıkları" olarak isimlendirilmektedir. Epitelin kök dentin yüzeyinden ayrışmasının tamamlanması ile periodontal bağ dokusu hücreleri, kök yüzeyi ile temas ederek sementoblastları, sementoblastlar da sement dokusunu oluşturmaktadır [57].

Kök ucunun gelişimi, dişin oklüzyona gelmesinden sonra da devam eder. Daimi dişler apeks gelişimlerini, sürdükten sonraki 2-3 sene içerisinde tamamlarlar ve bu süreç boyunca açık apekslidirler. Dişin apikal bölgesi bu dönemde periapikal dokularla geniş bir alanda ilişki içerisindedir [58-60].

Çocukluk döneminde immatür daimi dişlerin çürük, travma veya çeşitli anomaliler nedeniyle kök gelişimi durabilmektedir. Pulpal enflamasyonun oluşmasına neden olan en temel mikrobiyal kaynak diş çürüğüdür. Dentin çürüğü ile bakteri toksinleri dentin tübülleri boyunca ilerleyip pulpa dokusunda enflamatuar reaksiyonlar oluşmasına neden olabilir. Çürük sebebiyle oluşan irritasyon, farklı süre ve şiddetlerde pulpada farklı cevaplar oluşmasına sebep olur [61]. Hafif bir irritasyonda, pulpa mevcut duruma cevaben tersiyer dentin yapımını başlatır. Ancak uzun süreli veya şiddetli irritasyonlar karşısında, pulpa kendini yeterince savunamaz. Böylece pulpada enflamatuar süreç başlar. Enflamasyonun ilerlemesiyle, pulpa dokusuna ulaşan bakteriler pulpa boyunca yayılarak nekroza ve periapikal enfeksiyona sebep olabilir [61, 62].

Travmatik yaralanmaların yaklaşık %30'u kalıcı dişlerde ve sıklıkla 8-12 yaş arası çocuklarda gözlenmektedir [63]. HEKK'nin kısmen zarar gördüğü durumlarda apikal bölgenin damarlanması ve hücresel içeriğine bağlı olarak pulpal enflamasyon veya nekroz gelişse bile kök gelişimi devam edebilmektedir [58]. Ancak, şiddetli travma nedeniyle HEKK'nin tamamen hasara uğradığı durumlarda ise fizyolojik kök gelişimi ve odontoblast farklılaşması durmaktadır. Bu sebeple, HEKK'nin sert doku oluşumuna neden olabilecek farklılaşmamış hücrelerin kaynağı olabileceği düşünülmektedir [58, 64]. Bununla birlikte, sert doku normalde apikal bölgede bulunan sementoblastlar ve yaralanma sonrası sert doku üreten hücrelere dönüşen dental folikül ve periodontal ligamentin fibroblastları tarafından oluşturulabilir [65]. Diş pulpası istenmeyen iritanlara karşı yanıt oluşturabilen immun hücreler ve dentin formu oluşturmak üzere özelleşmiş odontoblastik hücreler içermektedir [66]. Travmalarda pulpal canlılığın kaybolması kök gelişimini durdurarak apeksin açık ve kök dentin duvarlarının ince kalmasına neden olmaktadır [67, 68].

İmmatür dişlerde pulpa nekrozuna neden olan dental anomalilerin başında ise dens evaginatus ve dens invaginatus geldiği belirtilmiştir [69]. Dens invaginatus, morfofodifersiyasyon sırasında anormal diş gelişiminden kaynaklanır. Sert doku mineralleşmeden önce yumuşak doku gelişim aşamasında mine dokusunun arasına yayılması sonucu oluşur [70]. Dens invaginatus vakalarında, genellikle sadece ince bir mine tabakası pulpayı korur ve diş sürmesinden kısa süre sonra genellikle çürüklerin bir sonucu olarak nekroz oluşabilir [71]. Dens evaginatus ise, morfolojisi çeşitli şekillerde "talon tüberkülü" olarak da tanımlanan bir aksesuar tüberkülün oluşumuyla sonuçlanan dişin gelişimsel anormalisidir [72]. Dens evaginatus, etkilenen dişin oklüzal yüzeyinden veya singulumundan sert bir doku çıkıntısı ile kendini gösterir. Vakaların %43'ünde tüberkül içine uzanan pulpa dokusu bulunmaktadır ve oklüzal travma nedeniyle pulpanın açığa çıkması ve nekroze olması muhtemeldir [71].

### **1.3. İmmatür Nekrotik Daimi Dişlerin Tedavisi**

Çocukluk döneminde immatür dişlerde çeşitli nedenlerle endodontik tedavi ihtiyacı ortaya çıkabilir. Travmaya uğramış immatür bir dişte pulpa canlılığı kaybolursa, uygulanması gereken endodontik tedavi komplike bir durum olabilmektedir [73].

İmmatür daimi dişlerin tedavisinde istenen ideal sonuçlar; apikal patolojileri iyileştirmek, kök gelişimini devam ettirerek apeksin kapanmasını sağlamak ve pulpa dokusunun fonksiyonel yeterliliğini yeniden kazandırmaktır [4]. Kök kırığı riskini azalttığı ve dişin kuron-kök oranını iyileştirdiği için kök gelişiminin devam etmesi arzu edilir. Ayrıca, cerrahi implantların genellikle kraniyofasiyal büyüme tamamlanana kadar kontrendike olması sebebiyle bu dişleri fonksiyonel ve estetik nedenlerle ağızda tutmaya çalışmak önemlidir [4].

Endodontik tedavinin başarılı olabilmesi, kök kanallarının dezenfeksiyonunu takiben kanal dolgu materyalleriyle hermetik bir şekilde tıkanmasına bağlıdır. Bu durum kök ucunun tamamen kapandığı dişlerde mümkün olabilir. Ancak, açık apeksli dişlerde ince olan kök kanal duvarlarını daha da kırılğan hale getireceğinden mekanik enstrümantasyondan kaçınılmalıdır. Kök kanal dolgu materyalinin periapikal bölgeye taşırılmadan kök kanalının doldurulması klinik açıdan oldukça zordur [74]. Bu sebeple, immatür açık apeksli dişlerde hermetik tıkama mümkün olmadığından, öncelikle kök gelişimini devam ettirebilen ve apeks oluşumunu sağlayan uygulamalar denenmelidir [75].

Bu tür dişlerde üç farklı tedavi seçeneği bulunmaktadır. Bunlar; apeksogenezis, apeksifikasyon ve revaskülarizasyon tedavileridir [74, 76].

### **1.3.1. Apeksogenezis**

Apeksogenezis; enflame pulpa dokusunun çıkarılması ve kalan sağlıklı pulpa dokusunun üzerine sıklıkla kalsiyum hidroksit ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) veya mineral trioksid agregat (MTA) gibi trikalsiyum silikat türevleri ile kapatılması işlemidir. Geleneksel olarak koronal pulpanın çıkarılmasını içerir ancak enflame dokunun derinliği değişebilmektedir. Buradaki amaç; sadece enflame pulpa dokusunun uzaklaştırmasını ve kalan pulpa dokusunun canlılığını sürdürmek için konservatif bir tedavi yaklaşımı olan “Cvek” olarak adlandırılan pulpatomidir [58]. Apeksogenezis işlemlerinin başarılı olabilmesi için 1-2 yıl gibi süreye ihtiyaç vardır. Pulpanın canlılığı ve apikal gelişimin takibi için hasta 3 aylık periyotlarla tekrar görülmelidir. Bu süreçte pulpanın geri dönüşümsüz olarak enflame olduğu ya da internal rezorpsiyon tespit edilirse, pulpa tamamen çıkarılmalı ve apeksifikasyon işlemlerine başlanmalıdır [58].

### 1.3.2. Apeksifikasyon

Apeksifikasyon; immatür nekrotik daimi dişlerde apekte mineralize bir doku oluşturulup apikal kapanmanın sağlandığı bir tedavi yöntemidir [77]. 1966'da Frank ve arkadaşlarının yayınladığı bir çalışmada; 3 ile 6 aylık bir süre boyunca tekrarlanan Ca(OH)<sub>2</sub> pansumanlarının, apikal lezyonun iyileşmesini sağlamakla kalmayıp aynı zamanda kalsifiye doku ile apeksin kapanmasının mümkün olduğunu bildirmişlerdir [78]. Geleneksel apeksifikasyon olarak adlandırılan bu uygulamada, düzenli aralıklarla Ca(OH)<sub>2</sub> pansumanı uygulanarak açık apeksli kök kanal sisteminin apikal 2-4 mm'lik kısmında kanal dolumuna izin verecek kalsifiye bir bariyer oluşturulması hedeflenmiştir [58, 79, 80]. Bu yöntemde Ca(OH)<sub>2</sub>'in; kanal içi medikament olarak uygulanabilir olmasından, antibakteriyel ve remineralizasyon etkisinden yararlanılmaktadır [81]. Ca(OH)<sub>2</sub> pH'ının yüksek olması sebebiyle osteoklastların sebep olduğu laktik asiti nötralize ederek ve alkalin fosfatazları aktive ederek sert doku oluşumunda etki gösterir [82]. Oluşan sert doku bariyeri; sement, dentin ve kemik benzeri dokular veya osteodentinden oluşabilir [83]. Bu yöntemle periapikal iyileşme ve sert doku oluşum oranının %79 ile %96 arasında olduğu gösterilmiştir [84].

Geleneksel apeksifikasyon yöntemi yüksek başarı oranına sahip olsa da, birtakım dezavantajları vardır [80]. Bazı araştırmacılar Ca(OH)<sub>2</sub>'in yüksek pH'ı sebebiyle, pulpanın rejenerasyon potansiyeline sahip hücreleri yok edebileceğini varsaymaktadırlar [85]. Yapılan birçok çalışmada; uzun süreli Ca(OH)<sub>2</sub> kullanımının dentini zayıflattığı ve dişlerin kırılma riskini arttırdığı gösterilmiş, ayrıca yaklaşık 6-24 ay süren uzun süreli bir tedavi olduğu ve çok seans gerektirdiği de belirtilmiştir [82, 86-88]. Bununla birlikte, seanslar arasında uygulanan geçici dolguların mikrosızıntı oluşturma ihtimali ve kök kanalının yeniden enfekte olma riski artmaktadır [89, 90]. Bu sebeplerden dolayı apeksifikasyon tedavilerinde çok seansta Ca(OH)<sub>2</sub> uygulanması yerini büyük ölçüde tek seansta uygulanan MTA'ya bırakmıştır [76].

Morse ve arkadaşları tek seans apeksifikasyonu, biyoyumlu bir materyalin kök kanalının apikaline cerrahi olmayan yöntemle uygulanması olarak tanımlamışlardır [91]. Amaç, biyoyumlu olduğu bilinen MTA ile tek seansta apikal bölgede yapay bir bariyer oluşturmaktır [56]. MTA kullanımının avantajları; tedavi süresini kısaltması, Ca(OH)<sub>2</sub> tedavilerine kıyasla dişin restorasyonunun kısa sürede yapılabilmesi ve dentinin mekanik özelliklerini koruyabilmesi olarak sayılabilir. Ancak, MTA ile

yapılan tek seans apeksifikasyon tedavisi ile apikaldeki dentin duvarlarının kalınlaşmamasından dolayı kök kırığı oluşması riskinin devam etmesi göz önünde bulundurulmalıdır [79]. Ek olarak, endodontik tedavinin yenilenmesi gerektiğinde MTA'nın sökülmesinin zor olması, materyalin yüksek alkali özelliğinin kök dentininin sertliğini zamanla etkilemesi, klinik uygulamasının zor olması ve maliyetinin yüksek olması gibi dezavantajları vardır [92-94]. Bu nedenlerle apeksifikasyon uygulamalarına alternatif bir yöntem olan revaskülarizasyon uygulamaları üzerinde durulmaktadır.

### **1.3.3. Revaskülarizasyon**

İmmatür nekrotik pulpalı daimi dişlerde kök gelişiminin sağlanması ve dentin duvarlarının gelişebilmesi için ideal tedavi yöntemi; pulpa dentin kompleksinin rejenerasyonuna ve tamirine izin vermek üzere pulpa vitalitesini yerine koyan revaskülarizasyon işlemidir. Revaskülarizasyon terimi yerine indüklenmiş veya yönlendirilmiş doku jenerasyonu terimi önerilmiştir. Bazı araştırmacılar, bu tedavinin amacının apikal periodontitis iyileşirken, pulpa-dentin kompleksinin fonksiyonel özelliklerini koruyarak kök gelişiminin devamlılığı olduğunu bildirmişler ve revaskülarizasyon teriminin kullanılmasına karşı çıkmışlardır [95]. Bu tedavi prosedüründe indüklenmiş ya da yönlendirilmiş doku rejenerasyonundan faydalandığı için rejeneratif endodontik tedavi terimini kullanmayı tercih etmişlerdir. Günümüzde de en çok kabul gören terim rejeneratif endodontik tedavi terimi olmuştur [96].

### **1.4. Rejeneratif Endodonti**

1952 yılında Hermann'ın Ca(OH)<sub>2</sub> materyali kullanarak yaptığı vital amputasyon tedavisi diş hekimliğinde uygulanan rejeneratif tedavilerin başlangıcı olarak kabul edilmektedir [97]. Nygaard-Östby rejeneratif endodontik tedavilere öncülük eden bir diğer isimdir. 1961 yılında yaptığı çalışmada, endodontik tedavi görmüş, nekrotik pulpalı ve apikal lezyonlu matür dişlerin kök apikal üçlüsünde yeni vaskülarize doku oluşumunun indüklenebildiğini histolojik olarak göstermiştir [98]. 1966 yılında yapılan bir çalışmada, nekrotik pulpalı immatür dişlerin dezenfeksiyonu ve kök gelişiminin uyarılması için çoklu antibiyotik patı ilk kez kullanılmış ve kök gelişiminin devam ettiği gösterilmiştir [99]. 1971 yılına gelindiğinde yapılan bir çalışmada, kanal



dezenfeksiyonunun ardından apikal bölgede kanama meydana getirilmiş ve histolojik olarak incelenmiştir. Bunun sonucunda, dişlerin kök uçlarında fibröz bağ doku ile hücreli sement oluşumu gösterilmiş ve böylece güncel rejeneratif tedavilerin temelleri atılmıştır [100].

2000'li yıllara gelindiğinde, rejeneratif endodontik prosedürleri içeren vakalar yayınlanmıştır. Iwayaka ve arkadaşları yaptığı bir uygulamada, immatür nekrotik pulpalı bir diş %5 NaOCl ve %3 hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile dezenfekte edilmiş, ardından dişe kanal içi medikament olarak ikili antibiyotik patı yerleştirilmiş ve 2,5 yıl takip edilmiştir. Takip sürecinde kök gelişiminin sağlandığı ve vitalite testine pozitif yanıt verdiği gösterilmiştir [101]. Yayınlanan başka bir vaka raporunda, immatür nekrotik pulpalı diş %5,25 NaOCl ile dezenfekte edilmiş ve ardından üçlü antibiyotik patı kök kanalında 1 ay bekletilmiştir. İkinci seansta antibiyotik karışımı salin solüsyonu ile uzaklaştırılmış ve apikalden kanama sağlanmıştır. Oluşan kan pıhtısının üzerine, MTA yerleştirildikten sonra, kavite nemli bir pamuk pelet ve geçici bir restorasyonla kapatılmıştır. Hastaya 14 gün sonra daimi restorasyon yapılmış ve dişin semptomsuz olduğu gözlenmiştir. Hasta 2 yıl takip edilmiş ve bu süreçte kök gelişiminin devam ettiği, dişin vitalite testlerine pozitif yanıt verdiği ve klinik semptomu olmadığı bildirilmiştir [102].

MTA ve Ca(OH)<sub>2</sub> ile apeksifikasyon uygulanan ve rejeneratif endodonti prosedürleriyle tedavi edilen dişler arasında; kökün kalınlaşması, uzaması ve dişlerin ağızda kalma sürelerini karşılaştıran bir çalışma yapılmıştır [103]. Sonucunda, revaskularizasyon protokolünün uygulandığı dişlerde kök kalınlığında yaklaşık %28, kök uzunluğunda yaklaşık %15 artış gözlenirken; Ca(OH)<sub>2</sub> ile uzun süreli apeksifikasyon uygulanan dişlerde kök kalınlığında %1,5 ve kök uzunluğunda %0,4 artış, MTA ile tek seans apeksifikasyon uygulanan dişlerde ise kök kalınlığında artış gözlenmemiş ve kök uzunluğunda %6 artış olduğu belirtilmiştir. Ek olarak, dişlerin hayatta kalma oranları karşılaştırıldığında; rejeneratif endodontik tedavi prosedürlerinin uygulandığı gruptaki oran %100 iken, MTA ile tek seans apeksifikasyon uygulanan grupta %95 ve Ca(OH)<sub>2</sub> ile uzun süreli apeksifikasyon uygulanan grupta ise %77 olarak tespit edilmiştir [103].

Rejeneratif endodonti, klasik tedavi stratejilerine alternatif seçenekler sunmayı amaçlayan doku mühendisliği olup, rejeneratif tıbbın nispeten yeni bir bileşenidir [104]. Amerikan Endodonti Derneği rejeneratif endodontik prosedürleri; kök

dentindeki hasarlı yapıların yanı sıra pulpa-dentin kompleksi hücrelerinin yerini alacak şekilde tasarlanmış biyolojik tabanlı prosedürler olarak tanımlamıştır [105]. Rejeneratif endodontik prosedürlerin asıl amacı; pulpa benzeri dokuyu, hasar görmüş kök dentin gelişimini devam ettirerek ideal olarak pulpa-dentin kompleksini yeniden oluşturmaktır [2]. Rejeneratif endodontik uygulamaların temeli; kök hücreler, iskele ve büyüme faktörlerinden oluşan üç temel bileşenden oluşur [3].

#### **1.4.1. Kök Hücreler**

Kök hücreler; kendi kendine bölünebilme, kendini yenileyebilme ve çeşitli hücrelere farklılaşabilme yetenekleri olan özelleşmemiş hücreler olarak tanımlanır [106, 107]. Vücuttaki bütün dokuların kökeni kök hücrelerdir [108].

Kök hücreler farklılaşma yeteneklerine göre; totipotent, pluripotent, multipotent ve unipotent olarak 4 gruba ayrılırlar [2]. Totipotent hücre tipi, döllenmeyi takiben ilk 4-5 günlük embriyolarda bulunur ve vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilme potansiyeline sahiptir [109]. Pluripotent hücreler, zigot oluştuktan sonra 5-15 gün arasında gelişen ve embriyoda blastosistin iç tabakasında bulunan embriyoblastlardır. Bu hücreler endoderm, ektoderm ve mezodermden köken alan hücrelere farklılaşabilmektedir [110]. Multipotent hücreler, erişkin dokularda kısmi farklılaşma gösterebilir ve tek bir germ tabakasına dönüşebilme yeteneğine sahiptir [111]. Unipotent hücreler ise, farklılaşmanın son evresinde ortaya çıkan ve tek bir hücre tipini oluşturabilen hücrelerdir [112].

Kök hücreler elde edilme dönemlerine göre; embriyonik ve yetişkin kök hücreler olarak 2 gruba ayrılırlar. Embriyonik kök hücreler, erişkin kök hücrelerle karşılaştırıldığında; plastisitesinin daha fazla olması sebebiyle daha değerli kabul edilmektedir [113]. Ancak embriyonik kök hücrelerin elde edilmesi konusunda etik ve yasal sorunlar olması, ayrıca teratom oluşma ihtimalinden dolayı erişkin kök hücreleri üzerine odaklanılmıştır [2, 114, 115].

Yetişkin kök hücreler; beyin, deri, saç folikülleri, iskelet kası, kemik iliği ve diş dokusu dahil olmak üzere çeşitli dokulardan izole edilmiştir [116]. Yetişkin kök hücrelere; mezenşimal kök hücre, somatik kök hücre veya postnatal kök hücreler de denilir [117]. Yetişkin kök hücreler, dental dokulardan izole edilebilir. Bunlar; DPSC [118], SCAP [110], periodontal ligament kök hücreleri (PDLSC) [119], eksfoliyeye olmuş insan süt dişi kök hücreleri (SHED) [120], dental folikül kök hücreleri (DFSC)

[121] ve diş germi progenitör hücreleri olarak sıralanabilir [122]. Rejeneratif endodontik prosedürlerde sıklıkla kullanılan kök hücreler; DPSC, SHED, SCAP ve PDLSC'lerdir.

DPSC, insan üçüncü büyükakazı dişlerinden elde edilen, multipotent özellikte kök hücrelerdir [118]. DPSC'nin odontoblast benzeri veya endotel hücrelerine farklılaşabildiği gösterilmiştir. İskelelere nakledildiğinde, bu hücreler pulpa benzeri bir doku oluşturarak fonksiyonel odontoblastlara ve vasküler endotel hücrelerine farklılaşabilir [123, 124]. Yapılan bazı çalışmalarda; insan diş pulpası kök hücresi, *in vivo* şartlarda trikalsiyumfosfat ve hidroksiapatitle beraber fareye transplante edildiğinde, hücrelerin kendi kendini yenileyebilmeleri ve odontoblastlara farklılaşabilmeleri sayesinde tübüler dentin sentezleyebildikleri gösterilmiştir [118, 125].

SHED, fizyolojik düşme zamanı gelmiş süt dişlerinin pulpasından izole edilmektedir. Bu hücreler yüksek derecede plastisite göstermektedirler ve aynı zamanda proliferatifirler. Nöral hücreler, adipozitler ve odontoblastlar gibi farklı hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahip multipotent kök hücrelerdir [120]. Bu hücreler ayrıca osteoblastik/odontoblastik belirteçleri ve diş pulpasının nöral krest kökeniyle ilişkili olabilecek nöronal ve glial hücre belirteçlerini de eksprese edebilmektedirler [126]. Ancak SHED, ideal bir pulpa-dentin kompleksi oluşturma konusunda DPSC'ler kadar başarılı değildir [120].

Gelişmekte olan insan daimi dişinin apeksinde yer alan dental papilla 'apikal papilla' olarak isimlendirilmiş ve buradan elde edilen kök hücrelere SCAP adı verilmiştir [110]. SCAP, yüksek proliferasyon yeteneği ve odontojenik diferensiyasyon kapasitesi olan mezenkimal kök hücrelerden zengin olup HEKK tarafından oluşturulur [127, 128]. SCAP'lerin *in vivo* ortamda osteoblast ve odontoblastlara, *in vitro* ortamda osteoblast, odontoblast ve adipozitlere farklılaşabildiği gösterilmiştir [129, 130]. SCAP, rejeneratif endodontik tedaviler için kullanılabilir olan kök hücre rezervuarı olarak görülmektedir. Rejeneratif endodontik bir çalışmada, apikal bölgenin stimüle edilip kanama sağlandıktan sonra, bu bölgedeki mezenkimal kök hücrelerin varlığı değerlendirilmiş ve yüksek miktarda mezenkimal kök hücrenin kök kanal boşluğu içerisine doğru ilerlediği gözlemlenmiştir. Ayrıca, mezenkimal kök hücre yüzey belirteç ekspresyonunda 700 kat artışa sebep olduğu bildirilmiştir [6].

Periodontal ligament, sementum ve alveolar kemiği bağlayan vaskülerize bağ dokusudur. Hayvan modelleri üzerinde yapılan bazı çalışmalarda PDLSC'nin periodontal ligament, sement, alveolar kemik gibi periodontal dokuları rejenere etme yeteneği olduğu gösterilmiştir [119, 131]. Yayınlanan bir insan vaka raporunda ise; kök kanalı içinde yeni oluşan dokunun, periodontal ligamentteki kök hücrelerden farklılaşan sementoblast ve osteoblastların sentezlediği semento-osteoid doku olabileceği bildirilmiştir [132].

#### **1.4.2. Doku İskeleleri**

Rejeneratif endodontik tedavilerin amacı; sadece kök gelişimi sekteye uğramış dişlerin kök-kanal gelişimlerinin devam etmesini değil, aynı zamanda pulpa-dentin kompleksinin de devamlılığını sağlamayı içermektedir [2]. Bu tedavilerin olmazsa olmaz üçlü triadından biri olan iskeleler önemli biyomateryallerdir.

Klinik olarak etkili bir rejeneratif protokol, fonksiyonel biyomateryaller kullanarak daha fazla kök gelişimini teşvik ederek, hem kök kalınlığını hem de uzunluğunu artırmak için kalsifiye dokunun birikmesi ve yeni dentin oluşmasıyla sağlanır [133].

Doku iskeleleri; hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi ve hücrelere mekanik destek olması için kullanılan 3 boyutlu, geçici yapılardır [134]. İdeal bir iskele, SCAP'nin hayatta kalmasını ve farklılaşmasını destekleyebilmeli, kök kanalının fiziksel ve biyokimyasal mikro ortamını taklit edebilmelidir. Ayrıca, SCAP'nin yapışmasını ve göçünü destekleyen uygun hücre dışı matriksi içermeli, böylece doku rejenerasyonu için bir şablon görevi görmelidir [135]. TGF- $\beta$ 1, VEGF ve PDGF gibi büyüme faktörlerini içeren iskeleler odontojenik farklılaşmayı destekleyerek pulpal revaskülarizasyonu yönlendirebilirler [136].

SCAP'nin hayatta kalmasını ve çoğalmasını desteklemek için uygun bir yapı iskelesi seçerken çok sayıda gereksinim göz önünde bulundurulmalıdır [137, 138]:

- (1) Biyolojik uyumluluk; materyal SCAP canlılığını ve odontojenik farklılaşmayı sağlarken, konakçıya zarar vermeyecek şekilde biyolojik bozunmayı desteklemeli,
- (2) Hücre göçüne, damarlanmaya, besinlerin ve atığın difüzyonuna izin vermek için yeterli ve kontrol edilebilir gözenekliliğe sahip yapıda olmalı,
- (3) Etkilenen dişin yeri ve anatomisine uygun mekanik direnç gösterebilmeli,
- (4) Biyolojik olarak parçalanabilir olmalıdır.

Bu gereksinimleri karşılamak için laboratuvarlarda çeşitli biyomateryaller geliştirilmiştir. Bunların en önemli görevi; doku rejenerasyonunu kontrol eden progenitör hücrelerin yerleşimini ve farklılaşmasını sağlamaktır [139]. Bu amaçla, hücre dışı matrisin bileşenleri, diğer proteinler, polisakkaritler, peptitler, doğal veya sentetik polimerler, biyoseramikler ve son zamanlarda çeşitli yenilikçi kompozitler dahil olmak üzere birçok yeni malzeme araştırılmıştır. İskelenin rolü; pasif bir taşıyıcı olmaktan çıkmış, belirli dokuları yenilemek üzere özel ve biyoaktif bir ortama dönüşmüştür [138].

Rejenerasyon için kullanılan doku iskeleleri doğal ve doğal olmayan iskeleler olarak elde edilmektedir. Doğal iskeleler; kan pıhtısı, plateletten zengin plazma (PRP), plateletten zengin fibrin (PRF), doğal dentin matriksi, kollajen, kitosan, hyaluronik asit ve deriden oluşur. Doğal olmayan iskeleler ise; polilaktikasit, poliglikolik asit, polilaktik-ko-glikolik asit ve biyoseramik olarak sıralanabilir [140].

#### **1.4.2.1. Doğal İskeleler**

**Kan Pıhtısı:** Kanamanın indüksiyonu ve kanal içi kan pıhtısı oluşumu, pulpa-dentin rejenerasyonunda bir iskele sağlamak için rejeneratif endodontide kullanılan güncel bir prosedürdür [5]. Kök ucu açık immatür dişlerde, kanal aletiyle apikal bölgeden indüklenen kanama, SCAP'nin dişin periradiküler dokularından apikal foramen yoluyla kök kanal boşluğuna dolmasına neden olarak yabancı kök hücreleri enjekte etme ihtiyacını ortadan kaldırır [23]. İndüklenen kanama ayrıca endojen hemostatik faktörlerin kanal boşluğuna girmesine, SCAP'nin hayatta kalması ve büyümesi için gerekli süreçleri destekleyen bir fibrin pıhtısı oluşturmaya izin verir. Kanal içi kan pıhtısının avantajları; SCAP göçünü, farklılaşmasını, vaskülarizasyonunu ve doku rejenerasyonunu desteklemek için gerekli büyüme faktörlerini içeren çapraz bağlı fibrinden oluşan otolog bir yapı iskelesi sağlaması ve yabancı cisim tepkisine neden olmamasıdır [5, 141, 142]. Bu uygulamanın; maliyetinin düşük, klinik uygulamasının kolay olması ve hemen ardından MTA ile servikal sızdırmazlık sağlanabilmesi gibi avantajlarından dolayı, hem hastalar hem de diş hekimleri için tercih edilen bir tedavi seçeneği olmuştur [133].

Bir çalışmada; rejeneratif prosedürlerin başarısızlık sebeplerinden biri olarak, kanal içerisinde yeterli kanama sağlanamaması nedeniyle pıhtı oluşmadığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada, kök kanalı içerisinde oluşturulan kanamanın mine-sement sınırının

yaklaşık 3 mm alt seviyesine kadar ulaşması gerektiği, ek olarak, kan pıhtısının oluşabilmesi için 15 dakika beklenmesi gerektiği rapor edilmiştir. Ayrıca, kök kanalı içerisinde yeterli kan pıhtısı oluşturulamayan durumlarda PRP kullanımının düşünülebileceği vurgulanmıştır [143].

PRP; büyüme faktörleri açısından zengin, hem rejeneratif endodonti hem de diğer cerrahi doku rejenerasyon prosedürlerinde çok sayıda *in vitro* ve klinik çalışmada kullanılan otolog enjekte edilebilir bir iskeledir [23, 141, 144].

Rejeneratif endodontik tedavi sırasında, hastadan bir miktar periferik kan alınır ve bir test tüpü içinde antikoagülanlarla karıştırılır. Tüp daha sonra, trombositleri ve lökositleri, yüksek yoğunlukları nedeniyle altta daha hızlı toplanan eritrositlerden ayırmak için bir santrifüjde döndürülür. Daha sonra trombosit açısından fakir plazmadan ayrılır ve trombosit konsantrasyonunu fizyolojik trombosit konsantrasyonundan yaklaşık 5 kat daha yüksek olan 1 milyon/ $\mu$ l'ye çıkarmak için işlenir. Pıhtılaşma, PRP'nin salın solüsyonu, kalsiyum klorür ve sığır trombinini ile birleştirilmesi, ardından karışımın kanal boşluğuna enjekte edilerek pıhtı oluşumu için 10 dakika beklenmesi ile sağlanabilir [23].

PRP, başarılı bir rejeneratif endodontik tedavi için temel olan yüksek anjiyogenezi ve revaskülarizasyonu sağlarken, sentetik iskelelere göre maliyetinin uygun olması ve servikal sızdırmazlığı sağlayabilmesi gibi özellikleri nedeniyle tercih edilen bir iskele çeşididir [141, 145].

Yakın zamanda yapılan bir klinik çalışmada; kan pıhtıları, PRP, trombosit açısından zengin fibrin ve bir trombosit peleti kullanılarak yapılan tedaviyi takiben 88 nekrotik insan kesici dişte kök boyutlarındaki radyografik değişiklikler değerlendirilmiştir. Ortalama 28 ay sonra periapikal iyileşme, radyografik kök gelişimi ve duyarlılık testlerine pozitif yanıtlarda tüm dişlerde yüksek başarı skoru ile tüm tedavi grupları arasında benzer sonuçlar bulunmuştur. Takip süresi gözardı edildiğinde, radyografik olarak kök kanalının alanı lineer ölçümlerinde küçük farklılıklar göstermiştir. Bu çalışmadaki önemli bir bulgu; kök kanalı içerisine PRP enjeksiyonunun, kan pıhtısı oluşturulmasıyla benzer klinik sonuçlar verdiği ancak apikal kanamanın indüksiyonundan kaçınıldığı için kök kanal obliterasyon riskinin daha az olabileceği belirtilmiştir [146].

PRF; PRP hazırlama sürecini basitleştirmek ve sıgır trombini gibi yabancı hücreleri ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilmiş olup, fibrin, platelet, büyüme faktörleri ve kök hücreler de dahil çeşitli hücre türlerinden oluşan otolog biyomateryaldır. PRF'nin lökosit bakımından zenginleştirilmiş tipi olan A-PRF ve enjekte edilebilir formu olan i-PRF geliştirilmiştir [147, 148].

Açık apeksli immatür dişe sahip 4 vakada PRF iskele uygulanmış ve hastalar 1, 3, 6, 12 ve 18. aylarda kontrollere çağırılmıştır. Tüm kontrollerde, kök gelişimlerinin devam ederek apikal kapanmanın gerçekleştiği ve dişlerin asemptomatik olduğu bildirilmiştir [149].

Doğal dentin matriksi; kemik ve dentin dokusu benzer kimyasal bileşime sahip mineralize dokular olup, %70 hidroksiapatit, %18 kollajen, %10 su ve %2 non-kollajen içeriğiyle birbirine oldukça benzer yapıda oldukları gösterilmiştir. Dentin matriksleri, BMP, TGF- $\beta$  ve IGF gibi büyüme faktörleri için bir depodur. Osteokalsin ve osteopontin gibi çeşitli non-kollajen yapılar kemik ve dentinde ortak olarak bulunurken, dentinfosfoprotein özellikle dentin dokusunda bulunur [150].

Dentinin kemik indükleyici özellikleri üzerine araştırmalar 1967'de bir raporla başlamıştır. Urist'in dentin ve kemikteki BMP'lerin osteoindüktif özelliklere sahip başlıca uyarıcılar olabileceğini önermesinin ardından, otojen demineralize dentin matriksin rejeneratif özelliklerini ilk gösteren kişi Yeomans olmuştur [151]. Başka bir çalışmada, kemik matriksine benzer kollajenöz dentin matriksinin kemik oluşumunu indükleyebileceği rapor edilmiştir [152]. *In vivo* bir çalışmada, demineralize dentin matriksinin kalsifiye dentin matriksinden daha etkili bir kemik indükleyici olduğu gösterilmiştir [153]. Bir çalışmada; BMP insan dentin matriksinden başarıyla izole edilmiş ve insan dentini ile insan kemiğinden izole edilen BMP'lerin farklı olmasına rağmen, her iki BMP tipinin de vücutta benzer işlevlere sahip olduğu bildirilmiştir [154].

İnsan demineralize dentin matriksi, mineral faza ek olarak kollajen bir matriks ve osteoindüktif büyüme faktörleri içeren yapı iskelelerinden biridir. Demineralize dentin matriks tabanlı iskeleler; yeniden işlenebilir, hücresiz ve nano-gözenekli olması sebebiyle günümüzde klinik olarak önem taşımaktadır [150].

Kollajen; birçok dokunun hücre dışı matrisine yapı benzerliği ve hedefin morfolojisine uyum sağlama yeteneği nedeniyle, doku rejenerasyon uygulamalarında yaygın olarak

kullanılan doğal bir biyomateryaldir [155]. Tip I kollajen, rejeneratif çalışmalarda en çok kullanılan çeşididir ve diğer kollajen tiplerine kıyasla DPSC proliferasyon ve mineralizasyon kapasitesini en iyi şekilde destekler [156]. Kollajenin; biyoyumlu ve biyoaktif olması, porözlü yapısı sayesinde kök hücre kolonizasyonunu kolaylaştırması gibi avantajlarının yanında, mekanik direncinin düşük ve biyolojik bozunmasının düzensiz olması gibi dezavantajları da bulunmaktadır [155, 157, 158].

Kitosan; glukozaminden oluşan bir polisakkarittir. Karides, yengeç gibi hayvanların dış iskeletinden ve mantarların hücre duvarından üretilir [159]. Kitosanın; biyoyumlu, biyobozunur ve mekanik direncinin yüksek olması, düşük sitotoksikite ve immünojenik potansiyel göstermesi, ek olarak geniş spektrumlu antibakteriyel özellikte olması gibi avantajları vardır. Ancak, kristal yapısından kaynaklanan jelleşme ve bozunmasının düzensiz olması sebebiyle enjekte etmenin zor olması gibi dezavantajlarından dolayı kullanımı sınırlıdır [137, 160].

Hyaluronik asit; bağ dokularının hücre dışı matrisinde bulunan glikozaminoglikanlardan oluşur ve doku rejenerasyonu uygulamaları için önemli potansiyele sahiptir. Hyaluronik asit hidrojellerinin enjekte edilebilir, biyoyumlu ve düşük immünojenik potansiyele sahip olması nedeniyle doku rejenerasyonundaki uygulamalar için geniş çapta araştırılmış, ancak mekanik direncinin zayıf olması ve *in vivo* bozunmasının hızlı olması gibi sebeplerden dolayı dental pulpa rejenerasyonundaki uygulamaların sınırlı olduğu belirtilmiştir [161-163].

#### **1.4.2.2 Doğal Olmayan İskeleler**

Sentetik polimerik iskeleler; polilaktik asit, poliglikolik asit ve polilaktoglikolik asit sentetik polyester polimerleridir. Bu polimerler; sırasıyla laktik asit, glikolik asit ve bu asitlerin ikisinin birden monomerlerinin farklı oranlarda karışımlarının polimerizasyonu ile elde edilir. Tendon ve ligamentlerin onarımı için mikrodamarlar oluşturmak, sert ve yumuşak doku mühendisliğinde biyolojik olarak parçalanabilen iskeleler meydana getirmek amacıyla çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmışlardır [138, 164]. Biyoyumlu, biyobozunur, hafif enflamatuvar cevap oluşturma, ucuz ve yeniden üretilebilir olmaları gibi birçok arzu edilen özelliğe sahiptirler [165]. Ek olarak, güçlü mekanik özellikleri, gözenekli yapıları ve bozunma hızlarının uygun hale getirilebilir oluşu bu polimerleri çekici hale getirmiştir [138].



Tüm bu polimerlerden yapılan iskelelerin; SHED, DPSC'ler ve dental pulpa fibroblastları gibi kök hücrelerin tutunması için elverişli olduğu gösterilmiştir. Bu iskelelerde kök hücrelerin, odontoblast benzeri hücrelere, diş pulpası ve dentin benzeri endotelial hücrelere farklılaşma gösterdiği bildirilmiştir [166]. Bununla birlikte, bu polimerler sentetik oldukları için, hücre dışı matriksi oluşturan biyopolimerlerin fizyolojik ve biyokimyasal bilgilerinden yoksundurlar. Ayrıca dokularda asidik bozunma ürünlerinin lokal olarak birikmesi hala endişe kaynağıdır [167].

Seramikler; biyoaktif camlar, cam veya kalsiyum fosfat içeren seramiklerden oluşur. Bu seramikler biyoaktiftir, çünkü bir kez implante edildiklerinde yüzeylerinde hidroksiapatit tabakasının oluşumuna aracılık ederler. Böylece, hidroksiapatit kaplı seramik ile etkileşime giren hücreler farklılaşarak osteoblastik aktivitenin artmasına neden olur [168, 169]. Ancak, istenen geçirgenliğe, kontrollü çözünme oranına ve spesifik yüzey özelliklerine sahip yapılar elde etmek için hala bazı modifikasyonlara ihtiyaç vardır [170].

### **1.4.3. Büyüme Faktörleri**

Büyüme faktörleri; hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanabilen ve hücrelerin farklılaşması ve çoğalmasını sağlayan sinyaller oluşturabilen protein yapılarıdır. Hücre içi iletişimde aracılık ederek hücrelerin davranışını düzenlerler [2]. Büyüme faktörleri; hücrelerin çoğalmasını teşvik etmek, başka bir doku tipine farklılaşmalarını sağlamak gibi etkilerinin yanında, kök hücreleri mineralize matriks sentezi için uyararak kök hücre aktivitesinin kontrolünde de görev alırlar [171].

Morfogenez ve hücre farklılaşması, odontogenez sırasında meydana gelen olaylardır. Morfogenez, epitel ve mezenkimal hücreler dahil olmak üzere farklı hücre popülasyon katmanlarının çoğalması, göçü ve organizasyonunun bir sonucu olarak koronal ve radiküler modellerin gelişimiyle oluşur. Hücre farklılaşması, diş dokularını oluşturacak olan hücrelerin; mine, dentin, sement ve pulpa dokusuna spesifik farklılaşmasından meydana gelir. Dolayısıyla, hücre çoğalması ve farklılaşması diş gelişimi sırasında iki önemli süreçtir [172, 173]. Hücre çoğalması, odontogenezin erken evrelerinde (tomurcuk ve çan evreleri) gözlenir. Epitel ve mezenkimal hücrelerin yüksek mitotik aktivitesi ile karakterizedir. Bu süreç, büyüme faktörleri de dahil olmak üzere çok sayıda faktör tarafından kontrol edilir. Öte yandan hücre farklılaşması, hücrelerin sentez ve mineralizasyon işlevlerini yerine getirmek için

nihai gelişimlerine ulaştıktan sonra yapısal ve işlevsel organizasyonunun bir sonucudur [173, 174].

Diş gelişimi sırasında, çeşitli biyoaktif moleküller odontoblastlar tarafından salgılanır ve aktif olmayan bir formda dentin matriksinde tutulur, bunların çoğu dentin mineral bileşeni ile bağlanır [10]. Bu büyüme faktörleri daha sonra yeniden aktif hale getirilebilir ve demineralizasyon yoluyla dentin matriksinden serbest bırakılabilir. Dentin matriksinin büyüme faktörleri için bir rezervuar olduğu gösterilmiştir [10]. Dentin dokusunun üzerine organik asitler veya şelasyon ajanları gibi dental materyallerin uygulanmasının, matrikse bağlı büyüme faktörlerinin açığa çıkmasında ve yeniden salınmasında etkili olduğu bildirilmiştir [175]. Bu faktörler arasında; TGF- $\beta$ , VEGF, IGF, BMP, PDGF, FGF, epidermal büyüme faktörü, sinir büyüme faktörü gibi büyüme faktörleri bulunurlar [2, 10, 176]. Bu moleküller düşük konsantrasyonlarda bulunur ve mineralizasyon, proliferasyon, migrasyon, diferansiyasyon, anjiyogenez ve immün cevap oluşturma gibi etkilerinden dolayı hücrel yanıtı uyarıcıdır [177].

#### **1.4.3.1. TGF- $\beta$**

TGF- $\beta$ ; kemik morfojenetik protein, aktivinler/inhibinler, büyüme ve farklılaşma faktörleri, Anti-Mullerian hormonu gibi çeşitli büyüme faktörlerinden oluşan sitokin ailesidir [178]. TGF- $\beta$  ailesi yaklaşık 390-412 aminoasitten oluşmaktadır. Bu moleküller çoğunlukla plateletlerden, makrofajlardan ve kemikten salınırlar [179]. TGF- $\beta$  ilk sentezlendiğinde propeptid yapıda olup, özel bir peptid ile etkileşimi sonucunda latent TGF- $\beta$  kompleksini oluşturur [180]. Aktif TGF- $\beta$  Tip II reseptörlerine bağlanarak Tip I reseptöre dimer oluşturması için yardım eder. TGF- $\beta$  Tip I reseptörleri; hücre içi SMAD (Caernohabdit elegans proteini içeren drosophila protein homologları, SMA, ve mothers against decapentaplegic, MAD) proteinlerinin fosforile edilmesinden sorumludur. Aktive SMAD kompleksi, nükleusa yer değiştirerek TGF- $\beta$  gen transkripsiyonunun aktive olmasını sağlar [181, 182].

TGF- $\beta$  süper ailesi; hücre çoğalması, farklılaşması, monositler, epitelyal, mezenşimal ve nöronal hücreler gibi çeşitli hücre tiplerinin fonksiyonlarında önemli bir rol almaktadır [183]. Bu ailenin, nötrofiller ve T lenfositler üzerinde kemotaktik aktivite gösterdiği, enflamasyon ve yaralanma durumlarında sentezlendiği bildirilmiştir [184].

1990 yılında yapılan bir çalışmada çözülmüş dentinde TGF- $\beta$  tespit edilmiş ve dentin çürüğüne yanıt olarak büyüme faktörlerinin salınımının gerçekleşmiş olabileceği raporlanmıştır [11]. Başka çalışmalarda insan dentininde tespit edilen üç izoformu; TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3 olduğu ve TGF- $\beta$ 1'in insan dentininde yüksek oranda saptanan başlıca izoform olduğu gösterilmiştir [185, 186].

TGF- $\beta$ 1'in ekspresyonu diş germinde, odontoblastlarda, dental pulpada ve dentin matriksinde bulunmuştur [183]. Başka bir çalışmada, TGF- $\beta$ 1'in SCAP'lerin kollajen içeriğini artırdığı ve çoğalmalarını teşvik ettiği bildirilmiştir [187]. Ayrıca, TGF- $\beta$ 1'in, odontoblastlarda non-kollajen yapıdaki dentin sialofosfoprotein ve dentin matriks protein-1'in salgılanmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir [188]. Büyüme faktörleri arasında TGF- $\beta$ 1, kök formasyonuna, dentinogenezise, odontoblast farklılaşması ve mineralizasyonunun sinyalizasyonuna aracılık eden önemli bir düzenleyici gibi görünmektedir [189].

Fare dişleri üzerinde makrofajların iyileşme sürecini araştıran güncel bir çalışmada, makrofajlar tarafından üretilen TGF- $\beta$ 1'in, kemik oluşum sürecinin erken aşamalarında yer aldığı ve kırık iyileşmesinde rol alan osteoprogenitör hücreleri aktive etmiş olabileceği bildirilmiştir [190].

TGF- $\beta$ 1'in insan sementoblast hücre hattının proliferasyonu ve farklılaşması üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada; hücreler farklı konsantrasyonlardaki TGF- $\beta$ 1 ile stimule edilmiş ve sonuçta, TGF- $\beta$ 1'in hücre proliferasyonunu tek başına etkilemediği, ancak hücre farklılaşması ve sementoblast hücrelerinin mineralizasyonunu desteklediği rapor edilmiştir [191].

Kök kanal tedavisinin son irrigasyon aşamasında kullanılan şelasyon ajanlarının smear tabakasını kaldırma kabiliyetleri sebebiyle, TGF- $\beta$ 1 gibi dentinde bulunan sinyal moleküllerinin salınmasına neden olduğu bilinmektedir [32].

Zeng ve arkadaşlarının yaptığı *in vitro* rejeneratif endodontik bir çalışmada; çeşitli solüsyonlarla kök segmentlerinde dentinden büyüme faktörlerinin salınımı ve DPSC'lerin göçü araştırılmış ve sonucunda, TGF- $\beta$ 1 dahil 11 farklı büyüme faktörü tespit edilmiş ve en yüksek konsantrasyonda TGF- $\beta$ 1'in salındığı rapor edilmiştir. Ayrıca, kök segmentlerine DPSC'lerin migrasyon deneyinde göç etmelerinin, salınan büyüme faktörleri sebebiyle olduğu vurgulanmıştır [9].

Chae ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; kök kanal segmentlerine farklı irrigasyon solüsyonlarının uygulanmasıyla TGF- $\beta$ 1 salınım miktarları ve SCAP'e sitotoksik etkileri araştırılmıştır. %10'luk SA'in %17'lik EDTA'ya göre anlamlı miktarda daha fazla TGF- $\beta$ 1 salınımına sebep olduğu, ayrıca SCAP üzerindeki sitotoksik etkilerinin benzer olduğu bildirilmiştir [192].

Kök kanal irrigasyon solüsyonlarının ve kanal patlarının servikal kök dentininden büyüme faktörü salınımına etkisinin değerlendirildiği çalışmada, VEGF ve TGF- $\beta$ 1 karşılaştırıldığında, servikal kök dentininden TGF- $\beta$ 1'in daha fazla salındığı rapor edilmiştir. Ek olarak, %2 CHX irrigasyonunun ardından üçlü antibiyotik patı uygulanması ve son irrigasyon solüsyonu olarak %10 EDTA solüsyonu uygulanmasıyla en yüksek TGF- $\beta$ 1 konsantrasyonuna ulaşılmıştır [193].

2021 yılında yayınlanan güncel bir çalışmada; EDTA'ya benzalkonyum klorür ilavesinin dental pulpa kök hücrelerinin dentin üzerindeki tutunması, proliferasyonu ve TGF- $\beta$ 1 salınımı üzerindeki etkisini araştırıldığında; tüm EDTA solüsyonlarının DPSC'lerin dentin disklerine bağlanmasını ve çoğalmasını artırdığı, ayrıca dentin disklerinden TGF- $\beta$ 1 salınımına sebep oldukları belirtilmiştir [194].

Organotipik kök kanal modelinde, dentinde kalan biyofilmin TGF- $\beta$ 1 salınımına etkisini araştıran güncel bir araştırma yapılmıştır. Irrigasyon solüsyonu olarak %1,5 NaOCl ve %17 EDTA, medikament olarak üçlü antibiyotik patı ve Ca(OH)<sub>2</sub> uygulanmıştır. En yüksek TGF- $\beta$ 1 miktarları, EDTA irrigasyonu yapılan gruplarda ve medikament uygulanan steril kök segmentlerinde gözlenirken, biofilm içeren kök segmentlerinde anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur [195].

#### **1.4.3.2. VEGF**

VEGF; heparin bağlayan bir glikoprotein olup, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F ve plasental büyüme faktöründen oluşan bir ailedir [21, 196]. 1983 yılında, derideki bir tümör hücre hattında vasküler sızıntıyı indükleyebilen bir proteinden saflaştırılmış ve "tümör vasküler geçirgenlik faktörü" olarak ilk defa tanımlanmıştır [197]. 1989 yılına gelindiğinde Ferrara ve Henzel sığır hücrelerinde yaptıkları bir çalışmada, bu molekülü endotelial hücreye özgü bir mitojenden izole edildiği ve sınırlı hedef hücre özgüllüğünden dolayı "vasküler endotelial büyüme faktörü" olarak adlandırdılar [196].

VEGF ailesi, tersiyer dentin oluşumunda rol oynayan en güçlü anjiyojenik ve vaskülojenik faktördür [198]. VEGF'lerin insan diş pulpasından eksprese edildiği, lokal kan damarlarında ve bağışıklık hücrelerinde otokrin ve parakrin rolleri olduğu rapor edilmiştir [199, 200]. Çalışmalarda, VEGF'nin insan pulpa hücrelerinin proliferasyonunu, odontoblastlara farklılaşmasını indüklediği belirlenmiştir [201, 202]. VEGF; doku rejenerasyonu, onarımı ve iyileşmesinin önemli bir yönü olan anjiyogenezi uyarması nedeniyle revaskülarizasyon prosedürlerinde önemli olduğu belirlenen bir büyüme faktörüdür [203, 204].

VEGF-A insan vücudunda; endotel hücreler, makrofajlar, aktiflenmiş T-lenfositler gibi birçok hücrede sentezlenebilir. VEGF-A, anjiyogenezden sorumlu olan en önemli izoformu olup, hücrelerin migrasyonu ve proliferasyonunda, vazodilatasyon ve vasküler geçirgenlikte görev almaktadır. Bu işlevleri, damar endotel hücrelerindeki VEGFR-1 ve VEGFR-2 diye bilinen tirozin kinaz reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirir [21]. Vasküler ve anjiyojenik belirteçler olan VEGF ve VEGFR-2'nin immatür ve matür dişlerin pulpalarında değişen iyileşme yanıtları potansiyelini gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca, immatür dişlerin, matür dişlerden daha fazla VEGF/VEGFR-2 ekspresyonuna sahip olduğu ve bu belirteçlerin her iki diş tipinin koronal bölgesinde artan ekspresyonunun, pulpa iyileşmesi için önemli olduğu bildirilmiştir [205]. Rekombinant olan hVEGF'nin *in vitro* ve *in vivo* olarak dental pulpa dokusunun proliferasyon, farklılaşma, mineralizasyon, neovaskülarizasyon ve tamir dentin oluşumu üzerinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir [206]. Bazı bakterilerin VEGF-A'yı arttırdığı gözlemlenmiş, ancak şiddetli enflamasyonda kan damarı sayısı ve VEGF-A ekspresyonunda azalma olabileceği bildirilmiştir [199, 207].

Yapılan çalışmalarda, dentine şelasyon ajanlarının uygulanmasıyla VEGF salınımı gerçekleştiği bildirilmiştir [7, 32, 208]. 2021 yılında yapılan güncel bir çalışmada; dentin disklerinde ve silindir modellerinde %17 EDTA, %9 HEBP, %1 fitik asit ve distile su uygulanarak VEGF salınım miktarları karşılaştırıldığında; HEBP'nin hem dentin disklerinde hem de silindir modellerinde daha fazla VEGF salınımına neden olduğu gösterilmiştir [209].

#### **1.4.3.3. IGF**

İnsülin benzeri büyüme faktörleri insan proinsülinine benzeyen tek zincirli polipeptid yapıda moleküller olup, somatomedinler adıyla da bilinmektedirler [210]. IGF ailesi;

IGF-1 ve IGF-2 olmak üzere ikiye ayrılmakta, IGF-1R ve IGF-2R olarak bilinen reseptörlere sahiptir [18]. IGF'ler; adipoz ve kas dokusunda insülin benzeri etkiler sergiledikleri ve yapılarının proinsülininkine benzer olmasından dolayı bu ismi almıştır. IGF-1'ler büyüme hormonu bağımlıyken, IGF-2'ler ise büyüme hormonundan bağımsızdır. IGF'lerin, embriyonik dönemde mineye özgü amelogenin ve ameloblastin genlerini etkileyerek minenin mineralizasyonunu indükledikleri gösterilmiştir [211].

IGF-1'ler; kemik dokusunda önemli miktarda bulunmakta olup, bu dokunun gelişiminde osteoblast ve osteoklast farklılaşmasını, apozisyon-rezorpsiyon dengesini de düzenlerler [212]. Tükürükte de tespit edilebilen IGF-1'lerin seviyeleri plazma büyüme hormonu seviyeleri ile ilişkilidir [18]. IGF-1'in mezenkimal kök hücreler üzerinde önemli mitojenik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir [213]. Çalışmalarda IGF-1'lerin; eritropoez, granülopoez, lenfopoez gibi bağışıklık sistemine aracılık etmede rol oynadıkları rapor edilmiştir [214-216]. IGF-1'in, tümör nekroz faktörü-alfa ve interlökin-1 beta gibi temel enflamatuvar araçları aşağı regüle ettiği bilinmekte ve IGF-1'in hızlı doku rejenerasyonunu desteklediğini düşündürmektedir [217]. IGF-1 düşük konsantrasyonda, kondrositik farklılaşmayı indükleme yeteneğine sahiptir [218]. Bir çalışmada; tek taraflı ön çapraz kapanışa maruz kalan sıçanların mandibular kondiler kırıkta IGF-1 ekspresyonunda sürekli bir artış gözlenmiştir [219]. Ayrıca, IGF-1'in nöronal hücrelerin *in vitro* farklılaşmasını indüklediği bildirilmiştir. Bu durum pulpayı oluşturan nörovasküler dokularında çürük ve endodontik hastalık süreçlerinden etkilendiğinden önemlidir [220].

IGF-1'in diş pulpası üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada; IGF-1'in, serum içermeyen kültür ortamında köpek diş pulpa hücrelerinin çoğalmasını ve odontoblast benzeri hücrelere farklılaşmasını indüklediği gösterilmiştir [221]. Başka bir çalışmada; IGF-1 ve PDGF-BB ile birlikte, *in vitro* ortamda diş pulpa hücrelerinin çoğalmasında sinerjistik etki gösterdikleri rapor edilmiştir [222]. IGF-1 ve TGF- $\beta$ 'nın diş pulpa hücrelerinde sistin/glutamat değişim aktivitesini araştıran *in vitro* bir çalışmada, IGF-1 ve TGF- $\beta$ 'nın, diş pulpasında hücre içi glutatyonun korunmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Büyüme faktörlerinin diş pulpa hücreleri üzerindeki bu etkisi, dental materyallerin toksisitesini önlemek açısından umut vericidir [223].

Bir çalışmada; kök gelişimi tamamlanmış ve tamamlanmamış insan diş pulpasındaki IGF-1 ekspresyonundaki farklılıklar araştırıldığında; kök gelişimi tamamlanmış dişlerde tamamlanmamış dişlere göre anlamlı düzeyde daha yüksek IGF-1 tespit edildiği bildirilmiştir [19].

VEGF ve IGF-1'in çürük insan dişlerinden toplanan DPSC'lerinin *in vitro* ortamda çoğalması, göçü ve farklılaşması üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada; kültür ortamına, tek başına VEGF veya IGF-1 eklenerek DPSC'lerin proliferasyonunun uyarılabilir olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, iki büyüme faktörünün birlikte eklenmesi DPSC'lerin proliferasyon hızında daha fazla artışa yol açmıştır [224].

Fonksiyonel biyomühendislik alanında yapılan, farelerden elde edilen diş kök hücreleri ve dokuları kullanılarak üretilmiş kültürler üzerinde IGF-1'in etkilerini araştıran bir çalışmada; IGF-1'in, diş köklerinin boyutunda ve tüberkül sayısında artışa sebep olduğu ve hem mezenkimal hem de epitel hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasını uyardığı gözlenmiştir [225].

Dental implant uygulamalarında IGF-1 ve PDGF-BB'nin birlikte uygulamasının implantın etrafındaki kemik oluşumuna etkisini araştıran bir hayvan çalışmasında; IGF-1 ve PDGF-BB'nin ayrı ayrı uygulanmasıyla kısa dönemde granülasyon dokusu, az miktarda kalsiyum depozitleri ve kemik dokusu oluşumu gözlenmiştir. IGF-1 ve PDGF-BB'nin birlikte uygulandığı grupta ise, granülasyon dokusunun fibröz bağ dokuya, kalsiyum depozitlerinin de kemik dokuya dönüştüğü ve kollajen fibrillerinin daha erken oluştuğu gösterilmiştir [226].

Literatürde IGF'nin, şelatör uygulanan dentinden salınımı ile ilgili bir çalışma bulunmaktadır. Hançerlioğulları ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; farklı irrigasyon aktivasyon tekniklerinin uygulandığı EDTA ve SA uygulanan kök segmentlerinden salınan TGF- $\beta$ 1, IGF-1, BMP-7 ve VEGF-A düzeyleri ölçülmüştür. Sonuçta 1. ve 7. günlerde tüm büyüme faktörlerinin salındığı ve irrigasyon aktivasyonu ile salınım miktarlarının artabildiği tespit edilmiştir [227].

## 1.5. Irrigasyon Solüsyonları

Başarılı bir kök kanal tedavisi, kök kanal sisteminin uygun biyomekanik temizliğine, şekillendirilmesine, kanal dezenfeksiyonuna ve ardından hermetik olarak tıkanmasına

bağlıdır. Kimyasal dezenfeksiyon için bakterisidal ve bakteriyostatik etkilerinden yararlanmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda NaOCl, EDTA, SA, HEBP, BA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tannik asit, sülfürik asit, poliakrilik asit, fosforik asit, katyonik özellikte olan CHX ve NSS gibi birçok solüsyon kullanılmaktadır.

### 1.5.1. NaOCl

NaOCl; antiseptik olması, organik artıkları çözebilmesi ve düşük yüzey gerilimi sayesinde dentine kolayca diffüze olabilmesi gibi nedenlerle endodontide yaygın olarak kullanılmaktadır. NaOCl, suda sodyum ve hipoklorit iyonlarına ayrışır ve denge hipoklorik asit oluşumuyla sağlanır. Hipoklorik asit, antibakteriyel etkinin kaynağı olmasına rağmen, hücresel fonksiyonları etkileyerek hücrenin ölümüne neden olabilir [228]. NaOCl'nin etkinliği; organik doku ile reaksiyona girerek sabunlaşma, aminoasit nötralizasyonu ve kloramin reaksiyonları ile sonuçlanır. Nekrotik dokular üzerindeki solvent etkisinin, vital dokuya göre daha fazla olduğu bilinen NaOCl, endodontide en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonu haline gelmiştir [229]. NaOCl'nin etkinliğinin; çözeltinin konsantrasyonu, hacmi, sıcaklığı, doku ile temas süresi ve irrigasyon aktivasyonu uygulanması ile değişebildiği bilinmektedir [24, 230].

Kök kanallarındaki organik madde (inflamatuar eksüda, doku kalıntısı ve mikrobiyal tabaka) NaOCl'nin etkisini azaltır. Yüksek konsantrasyonlarda NaOCl daha iyi doku çözücü etkilere sahiptir. Yüksek hacimlerde kullanılan düşük konsantrasyonlar, yüksek konsantrasyonlar ile eşdeğer etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [230]. Optimal bir süre için tüm kanal yüzeylerinin NaOCl ile temasının sağlanması, NaOCl konsantrasyonundan çok daha önemlidir [231]. Ek olarak, NaOCl'nin yüksek konsantrasyonları, düşük konsantrasyonlarından daha toksiktir [232].

Endodontide NaOCl irrigasyon solüsyonu olarak; %0,5 ile %6 arasındaki konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Bir çalışmada; %0,5 ve %5,25 konsantrasyonlardaki NaOCl karşılaştırıldığında, aynı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu, ancak %0,5'lik NaOCl'nin doku çözme yeteneğinin daha az olduğu gösterilmiştir [233]. Bazı çalışmalarda NaOCl'nin, düşük konsantrasyonlarda bile hedef mikroorganizmaları sanjeler içinde öldürdüğü bildirilse de, başka çalışmalarda önemli ölçüde daha uzun süreler uygulanması gerektiği bildirilmiştir [234-236]. Byström ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda; nekrotik olan ve anaerobik bakteri karışımı içeren kök kanallarının irrigasyonu için %0,5 veya %5 NaOCl kullanmış,



ayrıca EDTA kullanılan ve kullanılmayan gruplar da incelenmiştir. Her iki konsantrasyondaki NaOCl'nin, NSS ile irrigasyona kıyasla kanaldaki bakteri sayısında önemli miktarda azalmaya yol açtığı gösterilmiştir [237, 238].

Bir çalışmada; art arda kullanılan %2,5 NaOCl ve %0,2 CHX'in antimikrobiyal etkisinin, ayrı ayrı kullanılan her iki ajandan daha yüksek olduğu öne sürülmüştür [239]. Ancak, NaOCl ve CHX arasındaki reaksiyon kanserojen bir ürün olan parakloroanalin üretir. Bu çökeltinin, kök kanallarının yüzeyini kaplayarak dentin tübüllerini bloke etmesi ve kök kanal sızdırmazlığını olumsuz etkilemesinin yanı sıra [240], fareler üzerinde sitotoksik olduğu ve insanlar üzerinde potansiyel karsinojenik olabileceği bildirilmiştir [241, 242].

Kök kanal enstrümantasyonu sırasında oluşan pıhtılaşmış proteinler, kan hücreleri, sinir lifleri, kollajen, doku sıvısı, mikroorganizmalar ve bunların yan ürünlerini içeren tabakaya "smear tabakası" denilmektedir [243, 244]. Bu tabakanın 2-5 µm kalınlığında olduğu ve bir kaç µm kadar dentin tübülleri içine uzandığı gösterilmiştir [245]. Smear tabakası inorganik ve organik içeriğe sahip olduğundan mevcut herhangi bir irrigasyon solüsyonunun tek başına kullanımıyla uzaklaştırılmamaktadır. NaOCl'nin organik dokuları etkin olarak çözebilmesine ve kök kanallarının preparasyonu sonucu meydana gelen dentin debrisini uzaklaştırabilmesine rağmen, smear tabakayı tek başına uzaklaştırıp için şelasyon ajanları ile birlikte kullanılması önerilmektedir [246, 247].

NaOCl'nin tek başına, HEBP ve tetrasodyum EDTA ile karıştırıldığındaki, ayrıca farklı sıcaklıklardaki serbest kullanılabilir klor konsantrasyonu, organik doku çözünmesi ve smear tabaka kaldırma kapasitesini değerlendiren güncel bir çalışma yapılmıştır [248]. Sonucunda; organik doku çözünmesinin sıcaklıkla ve HEBP eklenmesiyle arttığı, ancak NaOCl'nin tek başına ısıtılmasıyla klor konsantrasyonunda değişiklik olmadığı rapor edilmiştir. Ek olarak, smear tabaka kaldırma etkinliğinin, sıcaklık artışıyla paralellik gösterdiği ve şelatörlerin eklendikleri gruplarda daha hızlı gerçekleştiği gösterilmiştir.

Bakteriyel biyofilm varlığının dentinden biyoaktif moleküllerin salınımını araştıran bir çalışmada, steril ve enfekte kök segmentleri karşılaştırılmıştır. Steril kök segmentlerinin, enfekte olanlara göre; tek başına %17 EDTA veya %1,5 NaOCl ve %17 EDTA kombinasyonu ile irrigasyonunda daha fazla miktarda TGF-β1 salınmıştır.

Bununla birlikte, aynı sonuçlar kanal içi üçlü antibiyotik patı veya Ca(OH)<sub>2</sub> uygulanmasıyla da tespit edilmiştir. Bu çalışma, rejeneratif prosedürler için kritik olan kök dentininden büyüme faktörlerinin salınımını bakteriyel biyofilm varlığında gösteren ilk çalışmadır [195].

### 1.5.2. EDTA

EDTA, (HO<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N (CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub> formülüne sahip bir şelasyon ajanıdır. EDTA ilk kez, bileşimi etilen diamin ve kloroasetik asit ile hazırlayan, Ferdinand Munz tarafından 1935'te tanımlanmış olup, diş sert dokuları üzerindeki demineralize edici etkisi ilk kez 1951'de bildirilmiş ve endodontik tedavilerde kullanımı ilk kez 1957'de Ostby tarafından önerilmiştir [249-251].

Dentin tabakasının mineral içeriği çoğunlukla suda çözünebilen kalsiyum ve fosfattan oluşur. Ortama EDTA eklendiğinde dentin içindeki kalsiyum iyonları ile reaksiyona girerek çözünür, böylece kalsiyum şelatları oluşturarak dentinde demineralizasyona sebep olur. EDTA'nın demineralizasyon etkisinin kendi kendisini sınırladığı bilinmektedir [252]. EDTA'nın dentine 5 dakika (dk) uygulanmasıyla, 20-30 µm derinliğe kadar dekalsifiye edebildiği gösterilmiştir [252]. Bununla birlikte, birçok şelasyon ajanı gibi EDTA'nın kök dentininin mikro sertliğini azaltabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır [246, 253, 254].

EDTA en yaygın olarak %17 nötrale solüsyon olarak kullanılır (disodyum EDTA, pH 7), ancak daha düşük konsantrasyonlu solüsyonların (%10, %5 ve %1) NaOCl irrigasyonundan sonra uygulandığında smear tabakasını önemli miktarda kaldırdıkları gösterilmiştir. Bir çalışmada; dentinden smear tabaka uzaklaştırmada NaOCl ve EDTA'nın art arda kullanımının distile su kullanımına göre belirgin derecede daha etkili olduğu bildirilmiştir [255]. Smear tabakasının EDTA gibi şelasyon ajanları tarafından kaldırılması, daha derin dentin katmanlarında NaOCl'nin antibakteriyel etkinliğini arttırdığı da bilinmektedir [256, 257]. EDTA, bakterilerin dış membranındaki katyonların şelasyonuna neden olarak antibakteriyel etkinlik göstermektedir [258]. EDTA'nın *E. faecalis* üzerindeki etkinliğinin maleik asitin etkisine eşdeğer olduğu bildirilmiştir [259]. EDTA ile %5 NaOCl kombinasyonunun, sadece NaOCl uygulanmasına göre daha iyi antibakteriyel etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [238]. Bununla birlikte, %17 EDTA ve %10 SA ile 5 dk süreyle

irrigasyon yapmanın biyofilm tabakası üzerine %1 NaOCl kadar etkisinin olmadığı da rapor edilmiştir [26].

EDTA ve NaOCl karıştırıldığında karışımdaki klor miktarı anında azalarak NaOCl aktivitesinin kaybına neden olduğundan, bu çözeltilerin birbirine karıştırılmadan kullanılması önerilmektedir [35]. EDTA ve CHX karıştırıldığında ise, içerisinde klorheksidin degredasyonu olan beyaz bir çökelti oluşturduğu tespit edilmiştir [260].

EDTA'yı rejeneratif endodonti alanında araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Bir çalışmada; %6 NaOCl'nin kök hücrelerin canlılığını azalttığı, bu etkinin %1,5 NaOCl ve ardından %17 EDTA kullanımı ile önlenebileceği bildirilmiştir [30]. Başka bir çalışmada; %5,25 NaOCl, %17 EDTA, MTAD, %2 CHX ve QMix'in insan periapikal ve periodontal dokuları üzerindeki potansiyel sitotoksik etkileri araştırılmış, sonucunda en düşük sitotoksik etkiyi MTAD'nin ve en yüksek etkiyi EDTA'nın gösterdiği belirtilmiştir [261].

Hashimoto ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada; sıgır dentin disklerinde kültüre edilmiş fare diş papilla hücrelerinin, NaOCl (%0, %1,5 veya %6) ve ardından EDTA (%0, %3 veya %17) ile muamele edildiğinde, hücre farklılaşmasını ve canlılığını araştırmışlardır. %1,5 NaOCl uygulanmasının 10 dk süreyle disklere bağlı fare diş papilla hücrelerini önemli ölçüde azalttığı, ancak NaOCl ile ön işleme tabi tutulmuş dentine EDTA uygulanmasıyla (%3 ve %17, 10 dakika) hücrelerde önemli bir artışa neden olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, EDTA uygulanmış dentin üzerindeki fare diş papilla hücreleri, açığa çıkan kollajen liflerine tutunma göstermiş, ayrıca alkalen fosfataz, dentin matris protein-1 ve dentin sialofosfoprotein haberci RNA'da önemli derecede artış olduğu rapor edilmiştir [31]. EDTA'nın dental pulpa mineralizasyonu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı güncel bir çalışmada; %12 EDTA'nın alkalen fosfataz aktivitesini arttırdığı, mineralize nodüllerin oluşumunu ve DPSC'nin mineralizasyonla ilgili belirteçleri ve protein ifadelerini desteklediği gösterilmiştir [262].

Rejeneratif endodontik tedavi uygulanan fare dişlerinde EDTA irrigasyonunun immün-enflamatuvar yanıt üzerine etkisini araştıran bir çalışmada; kanal boşluklarına sadece kan pıhtısı, %17 EDTA irrigasyonunun ardından kan pıhtısı uygulanmış ve hiç birşey uygulanmayan boş kanallar karşılaştırılmıştır. TGF- $\beta$  mRNA ve IGF mRNA

miktarlarının EDTA uygulanan grupta diğer gruplara kıyasla belirgin derecede artış gösterdiği bildirilmiştir [263].

EDTA'nın, dentinden büyüme faktörlerinin salınımını uyardığı ve dentin tabakasının dezenfeksiyonuyla kök hücrelerinin adezyonunu artırdığı gösterilmiştir [30]. %10 EDTA irrigasyonunun yüksek düzeyde TGF- $\beta$ 1 salınımını sağladığı bildirilen bir çalışmada; VEGF ve FGF-2 salınımının TGF- $\beta$ 1'den daha düşük olduğu tespit edilmiştir [32]. %17 EDTA ve %10 SA'in 60 sn. uygulanmasının karşılaştırıldığı bir başka çalışmada; EDTA grubunun daha yüksek düzeyde TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olduğu gösterilmiştir [264].

### **1.5.3. HEBP**

1-hidroksietidilen-1, 1-bifosfonat olarak adlandırılan, kısaca etidronik asit olarak bilinen, proteolitik ve antimikrobiyal özellik gösteren zayıf bir şelatördür [265]. HEBP'nin sistemik olarak osteoporoz ve Paget hastalığında kullanıldığı bilinmektedir [266]. Bifosfonatlar, kalsiyum şelatlama özelliğine sahiptir ve doğal pirofosfat ile benzer bir yapıya sahiptir [267]. İçerdikleri iki fosfonat grubu, pirofosfatta oksijenin yerini alan merkezi bir karbona bağlıdır. Pirofosfatın üç boyutlu yapısı, iki değerlikli katyonları şelatlayabilir [268]. Diş taşı oluşumunu kontrol etmek için diş macunlarında kullanılabileceği gösterilmiştir [269].

HEBP'nin şelatör olmasının yanında antimikrobiyal etkinlik de gösterdiği ve NaOCl ile karıştırıldığında NaOCl'nin antimikrobiyal özelliklerini değiştirmediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. EDTA, SA ve HEBP'nin NaOCl ile karıştırıldığında antimikrobiyal kapasiteleri değerlendirilmiş; EDTA ve SA, NaOCl ile negatif etkileşime girerken HEBP olumlu sonuç vermiştir [35]. Başka bir çalışmada; %2,5 NaOCl ile %9 HEBP'nin birlikte kullanıldığı ve %2,5 NaOCl ardından %17 EDTA irrigasyonunun, dentin tübüllerindeki bakterilere karşı önemli bir antimikrobiyal aktivite sergileyerek bakteri biyohacmini azalttığı, ayrıca NaOCl/HEBP grubunda yüksek miktarda smear tabakasının ortadan kaldırıldığı da gösterilmiştir [270]. NaOCl/HEBP kombinasyonunun avantajları; çözeltinin hidroklorik asitten daha iyi bir doku çözme kapasitesine sahip olması ve daha az sitotoksik olması, oluşan hipokloröz asidi dengede tutabilmesi ve rezilon kök kanal dolgularına bağlanmayı optimize edebilmesi olarak sayılabilir [36, 271, 272]. Bunlara ek olarak, döner sistemlerle çalışma sırasında kök kanalında dentin artıkları birikimini azaltabileceği bildirilmiştir

[273]. Bir çalışmada, %2,5 NaOCl ve %9 HEBP'nin dentin tübüllerindeki *E. faecalis* biyofilmi üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri ayrı ayrı incelenmiş, NaOCl'nin HEBP'ye kıyasla önemli derecede antimikrobiyal etkinlik gösterdiği, HEBP'nin bu etkisinin zayıf olduğu bildirilmiştir [274].

Bir çalışmada; %17 EDTA, %9 HEBP ve %2 perasetik asitin tek başlarına ve NaOCl ile birlikte uygulanmasının, kök kanal dentinindeki nanosertlik ve erozyona etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçta; HEBP ve NaOCl + HEBP gruplarında peritübüler ve intertübüler erozyon gözlenmiş, ayrıca diğer gruplara kıyasla nanosertlik değerlerini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir [275]. Farklı irrigasyon solüsyonlarının kök dentinin yüzey pürüzlülüğüne etkisini araştıran başka bir çalışmada; NaOCl, EDTA, SA ve HEBP'nin birlikte kullanıldığı gruplar karşılaştırılmıştır. Sonuçta, tüm şelasyon ajanlarının dentinde yüzey pürüzlülüğünü arttırmada rolü olduğu bildirilmiş olup, en çok yüzey pürüzlülüğü artışı SA ve HEBP'nin NaOCl ile karıştırıldığı gruplarda gözlenirken, en az değişim HEBP'nin tek başına ve daha kısa süreler uygulandığı gruplarda gözlenmiştir [276]. %18 HEBP'nin jel formunun kullanıldığı başka bir çalışmada; jel formunda olan %15 EDTA, %10 üre peroksit, RC-Prep, %2 aljinat ve %10 Tween 80'le kıyaslandığında, HEBP'nin NaOCl ile en uyumlu jel olduğu, daha iyi kalsiyum bağlama kapasitesi gösterdiği, ancak apikal kök kanal duvarlarından smear tabakasını uzaklaştırmada yeterli olmadığı bildirilmiştir [34].

İnsan dentininde %18 HEBP, %9 HEBP ve %17 EDTA'nın smear tabakası çözünme kinetiği incelendiğinde; hem %9 HEBP hem de %18 HEBP'nin demineralizasyon kinetiğinin %17 EDTA'nınkinden önemli ölçüde daha yavaş olduğu sonucuna varılmıştır [274]. Bu çalışmada; EDTA'nın, smear tabakasını hızlı bir şekilde ortadan kaldırırken alt tabakalardaki sağlam dentini de olumsuz etkileyebilen güçlü bir şelatör olduğu, ancak HEBP'nin, tüm enstrümantasyon süreci boyunca NaOCl ile birlikte uygulanabilen daha zayıf bir şelatör olduğu rapor edilmiştir.

HEBP'nin rejeneratif endodontide kullanımı ile ilgili literatürde birkaç çalışma bulunmaktadır. Sungur ve arkadaşlarını yaptığı insan dentininden büyüme faktörü salınımı ve hücre göçünü araştırdığı bir çalışmada; %17 EDTA, %9 HEBP, %1 fitik asit ve distile su kullanılmıştır. Solüsyonlar arasında en çok miktarda TGF- $\beta$  salınımı yapan ve hücre göçünde en etkili grup HEBP bulunmuştur. Ancak, hücre proliferasyonu diğer tüm gruplarda önemli ölçüde artarken sadece HEBP grubunda artmadığı bildirilmiştir [37]. Başka bir çalışmada ise; %17 EDTA, %9 HEBP, %1 fitik

asit ve distile su uygulanmasıyla dentin disklerinden ve silindirlerinden VEGF salınımları değerlendirilmiştir. Dentin silindirlerinden salınan VEGF miktarları HEBP grubunda diğer gruplardan önemli ölçüde daha fazla bulunmuştur [209].

#### 1.5.4. BA

Bor, periyodik tablonun 13. grubundaki 5. element olup, yer kabuğunda yaygın olarak bulunmaktadır [277, 278]. Doğada oksijen ve diğer elementlerle birlikte bulunur ve borat bileşikleri oluşturabilir [279]. Boraks pentahidrat, boraks, sodyum perborat, kolemanit ve üleksit en önemli ticari borat ürünleri ve mineralleri olarak kabul edilmektedir [280].  $H_3BO_3$  formülü ile ifade edilen BA, boraksın hidroklorik asit gibi bir mineral asit ile reaksiyona sokulmasıyla, borat tuzlarının sulu çözeltilerinin asitleştirilmesiyle hazırlanır ve ticari olarak kokusuz, beyaz, granüler ve suda çözünebilen bir tozudur. BA, bazı volkanik bölgelerde doğal olarak serbest halde bulunur [279]. Bor, stratejik öneme sahiptir ve dünya rezervleri başlıca Türkiye, Amerika Birleşik Devletleri, Arjantin, Peru, Rusya ve Çin'de bulunmaktadır. Türkiye, toplam dünya rezervlerinin %72'si olan, en büyük bor rezervine sahiplik yapmaktadır [281, 282].

İnorganik borat bileşikleri, özellikle BA ve boraks; çeşitli endüstriyel ve tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır [283]. Bor; bitkiler, hayvanlar ve insanlar için iz mineraldir [284]. Bulgular, hayvan ve insan beslenmesinde fizyolojik miktarlarda bor takviyesinin organizmanın çeşitli metabolik ve fizyolojik sistemleri üzerinde önemli etkilere sahip olabileceğini düşündürmektedir [285]. Çalışmalar borun; kemik, beyin fonksiyonları, üreme sistemi, bağışıklık sistemi, kan hücrelerinin kompozisyonunda, kanser ve diş hastalıklarının tedavisinde rol aldığını göstermektedir [286-288]. Bunlara ek olarak, BA'nın mantarlara, gram negatif ve pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal özellik gösterebildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır [289, 290].

Diş hekimliğinde de BA ile ilgili olarak en çok periodontal ve endodontik çalışmalar yapılmıştır. BA'nın endodonti alanında kullanımıyla ilgili birkaç çalışma mevcuttur. Akman ve arkadaşları % 10 BA, % 17 EDTA ve % 10 SA'in, kök dentin mineral içeriği ve AH Plus'ın bağlanma kuvveti üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve sonuçta; AH Plus'ın makaslama bağlanma dayanım değerinin SA grubunda değişmezken, BA ve EDTA gruplarında azaldığını göstermişlerdir. Ayrıca, tüm grupların kök dentininin mineral içeriğini değiştirdiği bildirilmiştir [291]. Başka bir çalışmada; %5 EDTA, %5

BA, %2,5 SA ve %5 Desy Clean solüsyonlarının kök dentininden smear tabaka kaldırılması ve dentin üzerindeki eroziv etkileri araştırılmıştır. En yüksek değerler SA grubundan elde edilirken, en düşük değerler BA grubundan elde edilmiştir [42]. Literatürde, BA solüsyonunun kök kanal patlarının bağlanma gücü üzerindeki etkisini araştıran bir çalışma bulunmaktadır. 2021 yılında yayınlanan çalışmada; son irrigasyon solüsyonu olarak %17 EDTA ve %10 BA solüsyonlarının AH Plus, EndoSequence BC Sealer ve MTA Fillapex'in bağlanma dayanımına etkisi araştırılmıştır. Sonucunda; her iki şelasyon ajanı da EndoSequence BC Sealer'in bağlanma dayanımını etkilememişken, AH Plus ve MTA Fillapex'in bağlanma dayanımlarını arttırmıştır [292].

BA'nın antimikrobiyal etkinliğini araştıran bir çalışmada; %2, %4 ve %6 konsantrasyonlardaki BA'nın 2 dk süreyle uygulanmasının kök kanallarındaki *E. faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta; tüm grupların antibakteriyel etkinlik gösterdiği ve BA'nın konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etkinliğinin doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. En yüksek etkinlik gösteren %6 BA grubunun NaOCl kadar etkili olmadığı, ancak kök kanallarının dezenfeksiyonu için yüksek konsantrasyonlarda ve uzun irrigasyon sürelerinde BA kullanımı önerilmiştir [43]. BA solüsyonunun rejeneratif endodontide kullanımına dair bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

### 1.5.5. NSS

Normal salin solüsyonunu, %0,9 sodyum klorür olarak bilinir ve yaygın olarak kullanılır [293]. NSS tıpta sıklıkla; acil durumlarda intravenöz olarak [294], cerrahi [295] ve kulak burun boğaz işlemlerinde [296] kullanılmaktadır. Ek olarak, son yıllarda pandemi haline gelmiş olan SARS-CoV-2 enfeksiyonunun erken dönem semptomatik tedavisinde nasal ve oral yıkama solüsyonu olarak kullanılabileceği gösterilmiştir [297].

Endodontide ise, NSS ile ilgili araştırmalar bulunmaktadır. Bir çalışmada, *in vitro* elektronik apeks bulucu cihazların çalışma ortamı olarak kullanılmış ve NSS ortamında %90 doğruluk payı ile çalıştığı gösterilmiştir [298]. Son irrigasyon solüsyonlarının kök kanal tedavili dişlerin kırılma direncine etkilerini araştıran bir çalışmada; NSS grubunun sonuçları ile EDTA ve CHX grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır [299]. Güncel bir çalışmada; son irrigasyon

solüsyonu olarak %17 EDTA, %10 BA ve NSS kullanılmasının rezin ve biyoseramik esaslı kök kanal patlarının bağlanma dayanımına etkisi araştırıldığında, AH Plus ve MTA Fillapex kanal patlarında, NSS diğer irrigasyon solüsyonlarından daha düşük bağlanma dayanımı göstermiştir [292]. Başka bir çalışmada; klinik uygulamalarda NaOCl'nin kök kanalından taşması halinde, kanalın bol miktarda NSS ile irrigasyonu önerilmiştir. Ayrıca, açık apeksli immatür bir dişe kanal tedavisi uygularken, oluşabilecek herhangi bir NaOCl komplikasyonundan kaçınmak için son irrigasyon solüsyonu olarak NSS kullanılması gerektiğini vurgulamışlardır [300].

Rejeneratif endodontide kök dentininden büyüme faktörlerini araştıran çalışmalarda deney grubu olarak NSS kullanılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Chae ve arkadaşları [192]; kök segmentlerinde %1,5 NaOCl irrigasyonun ardından NSS, %17 EDTA, %10 SA, %10 ve %37 fosforik asit solüsyonlarını kullanarak TGF- $\beta$ 1 salınım miktarlarını değerlendirmişlerdir. TGF- $\beta$ 1 salınımı, %37 fosforik asit ve NSS uygulanan gruplarda, diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise; kök segmentlerine şelasyon ajanları uygulanarak dentinden büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri araştırılmış ve kontrol grubu olarak %1,5 NaOCl irrigasyonun ardından NSS kullanılmıştır [227]. Büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri NSS grubunda şelasyon ajanı kullanılan gruplara göre tüm büyüme faktörlerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur.

## 1.6. Irrigasyon Solüsyonlarının Uygulama Süreleri

Endodontide kullanılan irrigasyon solüsyonlarının kullanım amaçları ve içeriklerinin farklı olması, istenilen sonuca ulaşmak konusunda önemli yer tutmaktadır. Bununla birlikte, irrigasyon solüsyonlarının uygulanma süreleri de çalışma sonuçları açısından oldukça fark yaratmaktadır [301-303].

NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 dk sürelerde uygulanmasının *E. faecalis* ile enfekte dentin silindirleri üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri araştırılmış ve sonucunda, %5,25 NaOCl'nin en etkili konsantrasyon olduğu, 15 dk'dan sonra artan uygulama süreleriyle doğru orantılı olarak antibakteriyel etkinliğinin arttığı ve 40 dk'da bakterilerin tamamını etkisiz hale getirdiği gösterilmiştir [304]. Güncel bir çalışmada; %2 ve %5,25 konsantrasyonlarda, 10 ve



20 dk sürelerde uygulanan NaOCl'nin, tübüler penetrasyonunun konsantrasyon ve uygulama süresinin artmasıyla doğru orantılı olarak arttığı bulunmuştur. Ayrıca, tübüler penetrasyon derinlikleri bakımından düşük konsantrasyonlarda NaOCl'nin uzun süreli irrigasyonun, yüksek konsantrasyonlarda elde edilen sonuçlarla benzer olduğu rapor edilmiştir [305].

Şelasyon ajanlarının kök kanallarına farklı sürelerde uygulanmasıyla ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bir çalışmada; %17 EDTA, %0,2 kitosan ve %10 trisodyum sitrat solüsyonlarının 1 dk, 5 dk ve 24 saat uygulanmasının insan kök dentini üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Dentinden çözünen kalsiyum iyonu ve dentinde oluşan erozyon miktarlarının, tüm solüsyonlarda artan uygulama süreleriyle doğru orantılı olarak arttığı bildirilmiştir [306]. Başka bir çalışmada; %15 EDTA ve %1 NaOCl'nin 1, 3 ve 5 dk uygulanmasıyla kök kanallarından smear tabaka uzaklaştırılması araştırıldığında, tüm grupların etkili olduğu, ancak solüsyonların 1 dk uygulanmasının kök kanallarının apikal üçlüsünde daha az etkili olduğu gösterilmiştir [307]. Başka bir çalışmada, %17 EDTA ve %7 maleik asitin 1, 5 ve 10 dk uygulanması karşılaştırıldığında; maleik asitin daha kısa irrigasyon uygulama süresinde, smear tabaka uzaklaştırma ve debris kaldırma etkinliğinin EDTA'dan daha fazla olduğu bildirilmiştir [308]. Bir çalışmada; NaOCl, EDTA, HEBP ve SA'nın farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde uygulanmasının kök dentini pürüzlülüğüne etkileri araştırılmıştır. En çok yüzey pürüzlülüğü artışı SA ve HEBP'nin NaOCl ile karıştırıldığı gruplarda gözlenirken, en az değişim HEBP'nin tek başına ve daha kısa süreler uygulandığı gruplarda bulunmuştur. Bu çalışmada HEBP'nin smear tabakasını tamamen uzaklaştırabilmesi için minimum 5 dk'ya gerek olabileceği belirtilmiştir. [276].

Rejeneratif endodontide farklı sürelerde irrigasyon solüsyonu uygulamasının etkilerini araştıran çalışmalar oldukça sınırlıdır. 2020 yılında yayınlanan bir çalışmada; 5 dk %1,5 NaOCl ile irrigasyonunun ardından % 3, % 10 ve % 17 EDTA veya % 10 SA ile 5 ve 10 dk irrigasyon uygulamasının dentin diskleri üzerinde yapısal ve yüzeysel değişiklikler araştırılmıştır. 5 dk %1,5 NaOCl uygulaması dentinin mineral içeriği ve mikrosertliğini etkilememiş ancak, dentindeki kollajen miktarını önemli derecede düşürdüğü rapor edilmiştir. Şelasyon ajanlarının uygulandığı gruplarda ise, kollajen miktarlarında önemli bir düşüş olmadığı bildirilmiştir. Şelatörlerin, uzun süre kullanılmasının dentindeki kollajeni olumsuz etkilemeksizin sadece yapısal

değişiklere sebep olduğu ve kalan NaOCl'nin dentin üzerindeki etkisini nötralize edebileceği belirtilmiştir. Bu sebeple rejeneratif çalışmalarda şelatörlerin daha büyük hacimlerde ve uzun sürelerde kullanılabileceği öne sürülmüştür [309].

Güncel bir çalışmada; %17 EDTA veya %17 EDTA ve %0,008 benzalkonyum klorürün birlikte kullanıldığı solüsyonlar 1, 5 veya 10 dk sürelerde uygulandığında, her iki EDTA solüsyonunun uygulama süresinden bağımsız olarak dentin yüzeyinde hücre tutunmasını ve proliferasyonu iyileştirdiği, ancak solüsyonların farklı sürelerde uygulanmasının hücrelerin tutunması, çoğalması ve TGF-β1 salınımı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı bildirilmiştir [194].

TGF-β1 salınımlarının araştırıldığı bir çalışmada; insan dentin disklerinde 10 dk PBS ve 1, 3 ve 10 dk %10 EDTA kullanılmıştır. PBS'nin tek başına kullanıldığı gruplarda TGF-β1 salınımı olmadığı ve EDTA'nın artan sürelerde uygulanmasının TGF-β1 salınımını doğru orantılı olarak arttırdığı gösterilmiştir [44].

Başka bir çalışmada; 5 ve 10 dk boyunca %10 EDTA, %10 SA, %37 fosforik asit ve %25 poliakrilik asit solüsyonlarında bekletilmiş dentin disklerinde TGF-β1, VEGF ve BMP-2 salınımları değerlendirilmiştir. Sonuçta; EDTA uygulanan grupta sadece TGF-β1 salınım gözlenmiş ve EDTA'nın 5 veya 10 dk uygulanmasının TGF-β1 salınımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı bildirilmiştir [7].

Bir çalışmada, farklı uygulama süreleri, konsantrasyonları veya pH değerlerinde dentin diskleri %10, %17 EDTA veya %10 SA solüsyonlarında bekletilmiş ve TGF-β1 seviyeleri karşılaştırılmıştır. Sonucunda; 5, 10 ve 20 dk sürelerde EDTA uygulanan gruplarda TGF-β1 salınımının artan uygulama süreleriyle doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir [32]. Literatürde; rejeneratif endodonti alanında BA'nın kullanımı ve büyüme faktörlerinin salınımı üzerindeki etkisiyle ilgili yapılan bir çalışma henüz mevcut değildir.

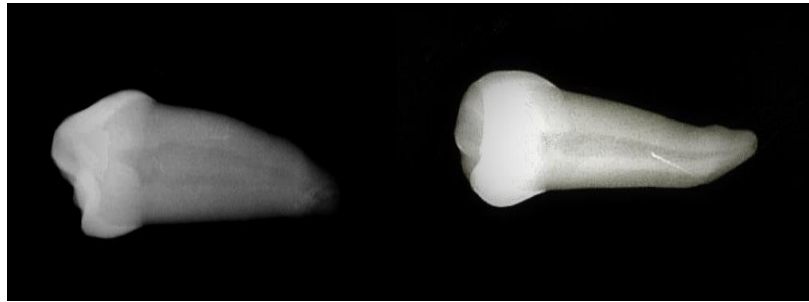
## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Etik Kurul Onayı

Araştırma için gerekli olan etik kurul onayı Kırıkkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'ndan 26.06.2019 tarihinde ve 2019.06.11 numaralı kararıyla alındı (Ek-1). Araştırmaya alınacak gözlem sayısını belirlemek için G\* Power v3.1 (Heinrich Heine, Universität Düsseldorf) testi kullanıldı. Analiz sonucuna göre %90'ın üzerinde güç elde edebilmek için, gruplarda örnek sayısının en az 6 olması gerektiği tespit edildi.

### 2.2. Dişlerin Çalışmaya Dâhil Edilme Kriterleri

Bu çalışmada; periodontal nedenlerle çekim endikasyonu konmuş, 75 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 radyografi örnekleri

Dişler çekimin hemen sonrasında PBS solüsyonu (Gündüz Kimya, İstanbul) (Şekil 2.2) ile yıkanıp kretuar yardımıyla periodontal dokular kök yüzeyinden temizlenerek (Şekil 2.3) kullanılana kadar +4°C'de, %0,1 thymol solusyonunda saklandı.



Şekil 2.2. Kullanılan PBS solüsyonu



Şekil 2.3. Çekilen premolar dişlerin temizlendikten sonra steril cam kavanozlarda saklanması

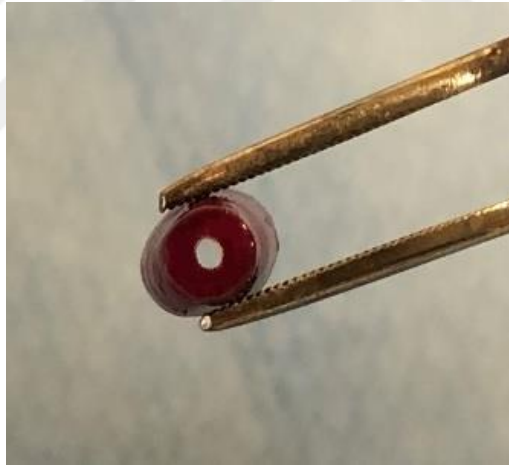
### 2.3. Kök Segmentlerinin Hazırlanması

Dişler apekten itibaren 10 mm boyutunda ölçülüp, su soğutması altında steril elmas frezlerle dekorone edilerek kök boyları standart hale getirildi. Ardından kök uçlarından 2 mm freze edilerek toplam 8 mm boyutunda kök segmentleri elde edildi (Şekil 2.4). Kök segmentleri, geniş açık apeksi simüle etmek için Gates Glidden #1-4 frezleri (VDW, Munich, Germany) kullanılarak enstrümante edildi. Frezler arasında steril distile su (Polifarma, Tekirdağ, Türkiye) irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldı. Tüm

kök segmentleri, sadece kanal dentini açıkta kalacak şekilde koronal ve apikal yüzeyler dahil tüm dış kök yüzeyleri tırnak cilası ile kapatıldı (Şekil 2.5).



**Şekil 2.4.** Kök segmentlerinin 8 mm boyutunda hazırlanması



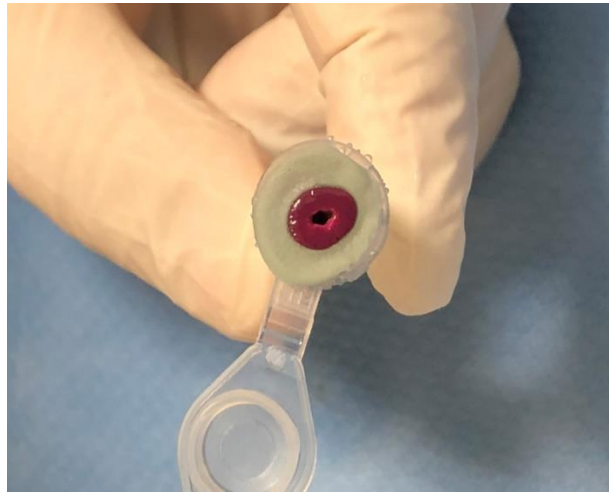
**Şekil 2.5.** Kök segmentlerinin dış kök yüzeylerinin tırnak cilası ile kapatılması

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, Konya, Türkiye) 20 ml % 1,5 NaOCl (Werax, İzmir, Türkiye) (Şekil 2.6), ardından 20 ml NSS ile irrigasyon yapıldı.



**Şekil 2.6.** NaOCl solüsyonu ve tek kullanımlık plastik enjektör

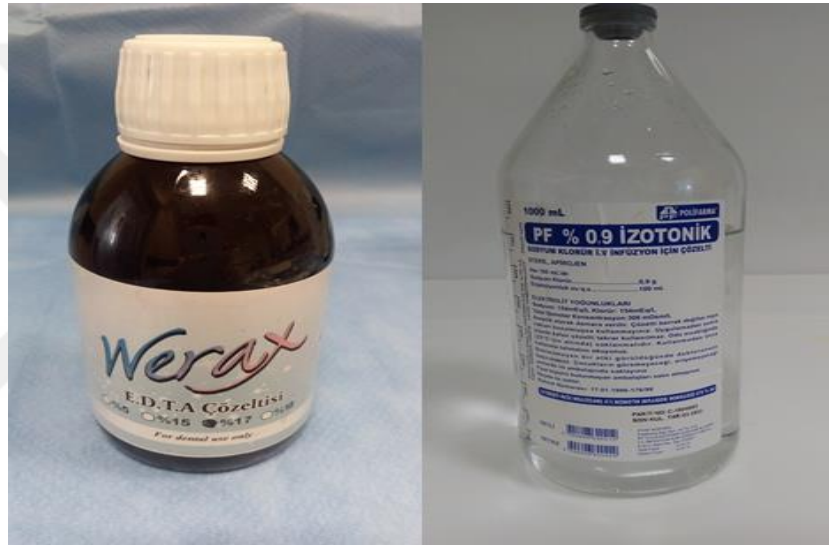
ELISA testinde negatif kontrol grubu olması amacıyla ayrılan 3 dişin, iç dentin yüzeyi de dahil olmak üzere tüm yüzeyleri tırnak cilası ile kapatıldı ve bu dişlere herhangi bir işlem uygulanmadı. Kalan 72 kök segmenti, periodontal ligamenti taklit etmesi amacıyla silikon esaslı ölçü malzemesi (Zetaplus L Intro Kit, Zhermack S.P.A. Italy) kullanılarak eppendorf tüplerine yerleştirildi (Şekil 2.7).



**Şekil 2.7.** Kök segmentlerinin eppendorf tüplerine yerleştirilmesi

## 2.4. İrrigasyon Solüsyonlarının Hazırlanması

%17 EDTA (Werax, İzmir, Türkiye) ve %0,9 NSS herhangi bir işlem yapılmaksızın kullanıldı (Şekil 2.8). HEBP (Etidronic acid, Sigma-Aldrich, USA) solüsyonu %60 konsantrasyonda sıvı formda alındı, ardından 850 ml steril distile su ve 150 ml %60 konsantrasyonundaki HEBP homojen karıştırılarak 1 litre %9'luk HEBP elde edildi (Şekil 2.9). BA (Boric acid, Sigma-Aldrich, USA) ise, toz formunda satın alındı, ardından 940 gr (943 ml) steril distile su ve 60 gr toz BA homojen karıştırılarak 1 litre %6'luk BA çözeltisi hazırlandı (Şekil 2.10). Tüm irrigasyon solüsyonları nötr pH'da hazırlandı.



Şekil 2.8. %17 EDTA ve NSS solüsyonları



Şekil 2.9. HEBP %60 sıvı formu ve %6 konsantrasyonda HEBP çözeltisi hazırlanması

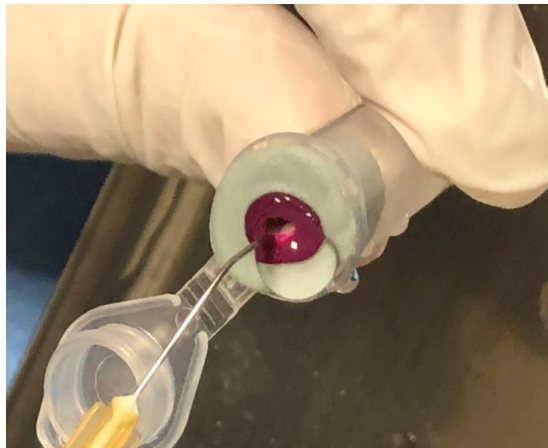


**Şekil 2.10.** Toz BA'nın %6 konsantrasyonda hazırlanması

## 2.5. İrrigasyon Solüsyonlarının Uygulanması

Kök segmentleri kullanılacak irrigasyon solüsyonuna göre önce 4 ana gruba ayrıldı. Şelasyon ajanı olarak; %17 EDTA, %9 HEBP ve %6 BA solüsyonları, ayrıca kontrol grubu amacıyla NSS olarak toplamda 4 farklı irrigasyon solüsyonu kullanıldı. Her ana grup solüsyonların uygulanma süresine göre her grupta 6 adet kök segmenti olacak şekilde 3 alt gruba rastgele olarak ayrıldı.

Tüm gruplarda plastik enjektörler çalışma boyundan 1 mm. kısa olacak şekilde yerleştirilerek konvansiyonel şırınga irrigasyonu uygulandı. Her grupta apikal kısımda 4-5 mm boyunca yavaşça ileri ve geri hareketlerle 25 gauge'luk, tek kullanımlık plastik enjektörlerle 20 ml, % 17 EDTA, %9 HEBP, %6 BA veya NSS solüsyonları, 5, 10 veya 20 dk boyunca irrigasyon yapıldı (Şekil 2.11).



**Şekil 2.11.** İrrigasyon solüsyonlarının uygulanması

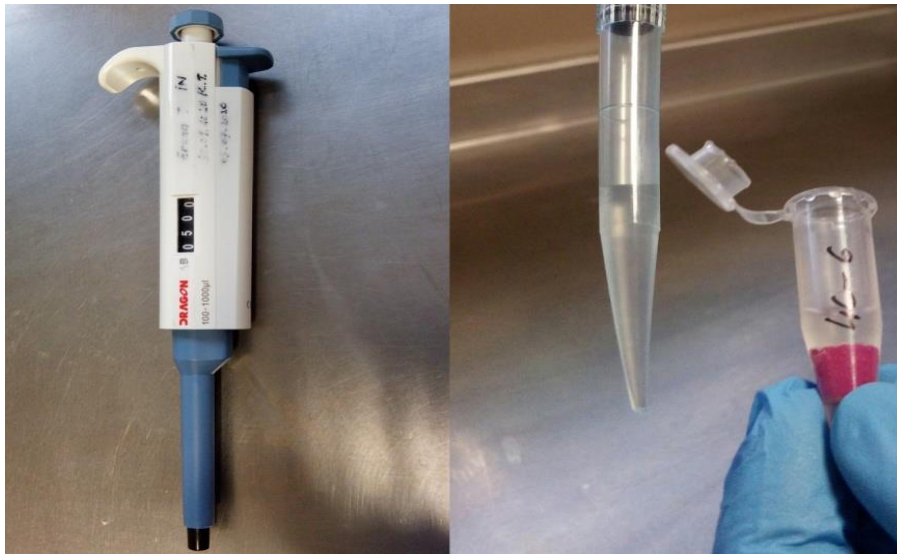


## 2.6. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Tüm kök segmentleri 20 ml NSS ile irrigasyon yapılarak steril kağıt konularla (Meta Dental Co., Ltd., Korea) kurutuldu. İrrigasyon işlemi biten kök segmentleri, silikon esaslı ölçü maddesinden çıkartılıp içinde 1'er ml PBS olan steril eppendorf tüplerine aktarıldı. Örnekler 37°C'de inkübatöre (Şekil 2.12) (Nüve EN 025, Ankara, Türkiye) yerleştirildi. İrrigasyon işleminin yapıldığı saatten itibaren 1. ve 7. günlerde 500'er µl PBS örnekleri otomatik pipet (Dragon Laboratory, Çin) (Şekil 2.13) yardımıyla her tüpten toplanarak ELISA'da değerlendirmek üzere boş steril eppendorf tüplerine aktarıldı ve -20°C'de muhafaza edildi (Öztiryakiler, Slim 400 LTV, İstanbul).



Şekil 2.12. Örneklerin saklandığı etüv



Şekil 2.13. Otomatik pipet ve örneklerden PBS toplanması

## 2.7. ELISA Ölçümlerinin Yapılması

Toplanan örnekler Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Lab.'da ELISA testleri yapılarak değerlendirildi. Elde edilen örneklerden büyüme faktörleri; TGF- $\beta$ 1, VEGF-A ve IGF-1'in ölçümü için ticari kitler kullanıldı (Cloud-Clone Corp., Wuhan, China, Parti No: TGF- $\beta$ 1: SEA124Hu, VEGF-A: SEA143Hu ve DIAsource Assays SA, Nivelles, Belgium, Katalog No: IGF-1:KAP1581). İlk olarak ELISA plaklarındaki kuyucuklara TGF- $\beta$ 1 ölçümü için toplanan örneklerden 100  $\mu$ l eklendi. Daha sonra 100  $\mu$ l standart eklenip 37° C'de 1 saat süreyle inkübe edildi (Thermo Fisher Scientific, Pittsburg, USA)(Şekil 2.14).



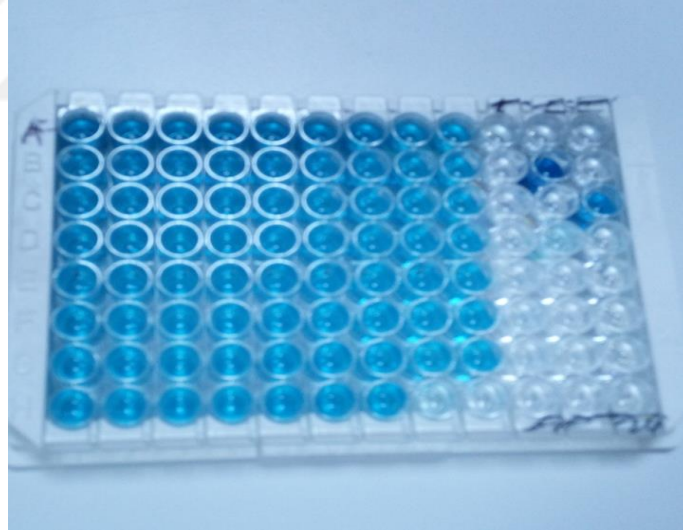
**Şekil 2.14.** Örneklerin 37° C'de etüvde inkübe edilmesi

Ardından kuyucuklardaki tüm sıvı boşaltıldı ve 100  $\mu$ l reaktif A solüsyonu eklenerek 37° C'de 1 saat süreyle tekrar inkübe edildi. İnkübatörden çıkarılan plaklar ELISA otomatik yıkayıcısında 3 kez yıkandı (BioTek EL $\times$ 50, Vinooski, VT, USA)(Şekil 2.15).

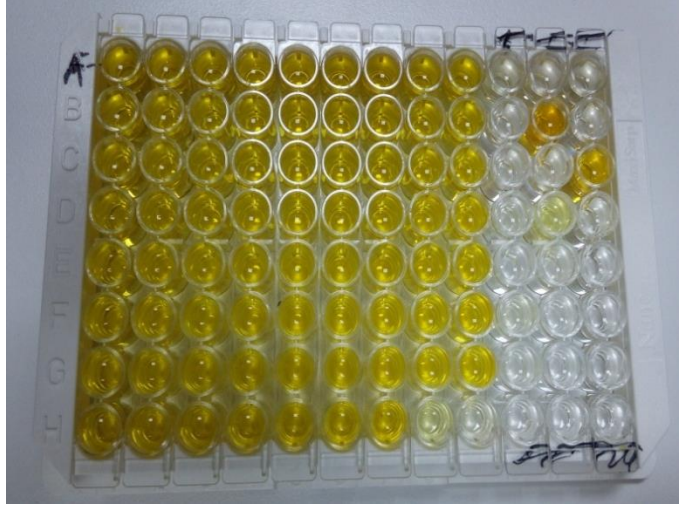


**Şekil 2.15.** ELISA Bio Tek ELx50 otomatik yıkayıcısı

Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra 100 µl reaktif B solüsyonu eklendi (Şekil 2.16). Plaklar 37° C’de 30 dk boyunca etüvde bekletildi. İnkübatörden çıkarılan plaklar ELISA otomatik yıkayıcısında 5 kez yıkandı. Ardından 90 µl substrat solüsyonu eklenerek tekrar etüvde inkübe edildi. 15 dk. sonra reaksiyonu durdurmak için 50 µl stop solüsyonu eklendi (Şekil 2.17).



**Şekil 2.16.** ELISA kitlerinde inkübasyondan sonraki renk değişimi



**Şekil 2.17.** ELISA kitlerine stop solüsyonu eklendikten sonraki renk değişimi

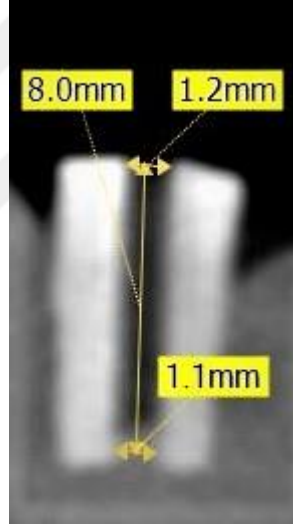
ELISA plakları 450 nm dalga boyunda absorban ölçümü yapan ELISA okuyucusuna yerleştirildi (Şekil 2.18). Ölçüm sonrası elde edilen datalar kaydedildi. (BioTek Uquant MQ×200, Vinoski, VT, USA). Aynı işlemler VEGF-A ve IGF-1 için tekrarlandı.



**Şekil 2.18.** BioTek Uquant MQ×200 ELISA okuyucusu

## 2.8. 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 cihazı 85 kVp, 4.8 mA ve 5.28 sn değerlerinde kullanıldı. Alınan CBCT görüntüleri EZ 3D plus (2010 Vatech E-Woo Holdings Co. LTD) programına aktarıldı. 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 2.19). Her ölçüm 3 kez tekrar edildi.



**Şekil 2.19.** Tomografik ölçümlerin yapılması (D=1.2 mm d=1.1 mm L=8 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- $\beta$ 1, VEGF-A ve IGF-1 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 IBM SPSS V23 programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelendi. Üç ve üzeri gruba göre normal dağılan verilerin karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanıldı ve çoklu karşılaştırmalar Tukey HSD testi ile incelendi. Üç ve üzeri gruplara göre normal dağılmayan verilerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis H testi kullanıldı ve çoklu karşılaştırmalar Dunn testi ile incelendi. Gruplar içi zamana göre normal dağılan verilerin karşılaştırılmasında Eşli iki örnek t testi, normal dağılmayan verilerin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli değişkenler için ortalama  $\pm$  ss olarak verildi. İstatistiksel alfa anlamlılık seviyesi  $p<0,05$  alındı.



### 3. BULGULAR

Büyüme faktörleri TGF- $\beta$ 1 ve VEGF-A'nın salınım düzeyleri düşük olduğu için pg/ml, IGF-1'in salınım düzeyi yüksek olduğu için ng/ml olarak belirtilmiştir.

İç dentin yüzeyi de dahil olmak üzere tüm yüzeyleri tırnak cilası ile kaplanan, ELISA'da negatif kontrol grubu olarak kullanılan örneklerde; tüm büyüme faktörlerinde 1. ve 7. günlerde herhangi bir salınım meydana gelmemiştir.

Uygulama süreleri ve irrigasyon solüsyonları gözardı edildiğinde, tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Tüm büyüme faktörlerinde 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p<0,001$ ).

**Çizelge 3.1.** Uygulama süreleri ve irrigasyon solüsyonları gözardı edildiğinde, tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları

	1. Gün	7. Gün
TGF- $\beta$ 1 pg/mL	77,16 $\pm$ 45,83 <sup>a</sup>	149,55 $\pm$ 65,67 <sup>b</sup>
VEGF-A pg/mL	117,82 $\pm$ 47,64 <sup>a</sup>	152,81 $\pm$ 58,29 <sup>b</sup>
IGF-1 ng/mL	152,31 $\pm$ 46,81 <sup>a</sup>	187,12 $\pm$ 53,23 <sup>b</sup>

\*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

Uygulama süreleri ve örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, tüm büyüme faktörlerinin irrigasyon solüsyonlarına göre salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.2'de sunulmuştur.

Uygulama süreleri ve örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, tüm şelasyon ajanları NSS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olurken ( $p<0,001$ ), şelasyon ajanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). EDTA grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek VEGF-A salınımına neden olurken ( $p<0,001$ ), BA ve NSS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ( $p>0,05$ ) ve bu iki grupta HEBP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A

salınımı görülmüştür ( $p<0,001$ ). IGF-1 düzeyleri karşılaştırıldığında; EDTA ve BA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken ( $p>0,05$ ) bu iki grup diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek IGF-1 salınımına sebep olmuştur ( $p<0,001$ ).

**Çizelge 3.2.** Uygulama süreleri ve örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, tüm büyüme faktörlerinin irrigasyon solüsyonlarına göre salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları

	EDTA	HEBP	BA	NSS
<b>TGF-β1 pg/mL</b>	143,9 ± 74,43 <sup>a</sup>	131,59 ± 53,25 <sup>a</sup>	112,31 ± 74,4 <sup>a</sup>	65,63 ± 28,99 <sup>b</sup>
<b>VEGF-A pg/mL</b>	183,87 ± 59,3 <sup>a</sup>	89,98 ± 25,86 <sup>b</sup>	132,47 ± 42,22 <sup>c</sup>	134,94 ± 47,35 <sup>c</sup>
<b>IGF-1 ng/mL</b>	198,49 ± 47,22 <sup>a</sup>	148,89 ± 45,42 <sup>b</sup>	194,18 ± 47,05 <sup>a</sup>	137,31 ± 44,03 <sup>b</sup>

\*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

Örnek alma zamanı ve irrigasyon solüsyonları gözardı edildiğinde, tüm büyüme faktörlerinin 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.3'te sunulmuştur.

20 dk uygulama süresi 5 dk uygulama süresine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek seviyede TGF-β1 salınımına neden olurken ( $p=0,01$ ), 10 dk grubunun diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). 10 dk uygulama süresinde diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A düzeyleri tespit edilmiş olup ( $p=0,005$ ), 5 ve 20 dk uygulama süreleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Uygulama sürelerinin farklı olması IGF-1 salınım seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Çizelge 3.3.** Örnek alma zamanı ve irrigasyon solüsyonları gözardı edildiğinde, tüm büyüme faktörlerinin 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları

	5 dk	10 dk	20 dk
<b>TGF-β1 pg/mL</b>	94,37 ± 57,74 <sup>a</sup>	111,15 ± 70,38 <sup>ab</sup>	134,55 ± 67,68 <sup>b</sup>
<b>VEGF-A pg/mL</b>	123,65 ± 48,6 <sup>a</sup>	155,97 ± 58,68 <sup>b</sup>	126,34 ± 55,12 <sup>a</sup>
<b>IGF-1 ng/mL</b>	165,9 ± 43,58 <sup>a</sup>	178,57 ± 60,41 <sup>a</sup>	164,67 ± 53,37 <sup>a</sup>

\*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

İrrigasyon solüsyonları gözardı edildiğinde 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.4'te sunulmuştur.



Tüm büyüme faktörlerinde 7. gün salınım düzeylerinin 1. gün salınım düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür ( $p<0,001$ ). Tüm büyüme faktörlerinin 7. gün salınım düzeyleri ve IGF-1'in 1. gün salınım düzeyleri incelendiğinde; uygulama süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). TGF- $\beta$ 1 1. gün salınım düzeyleri incelendiğinde; 20 dk uygulama süresi 5 dk uygulama süresinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olurken ( $p=0,014$ ), 10 dk uygulama süresi ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). VEGF-A 1. gün salınım düzeyleri incelendiğinde; 10 dk uygulama süresi 20 dk uygulama süresine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A salınımı sağlarken ( $p=0,022$ ), 5 dk uygulama süresi ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Çizelge 3.4.** İrrigasyon solüsyonları gözardı edildiğinde, 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları

		1. Gün	7. Gün
TGF- $\beta$ 1 pg/mL	5 dk	60,24 $\pm$ 27,44 <sup>Ba</sup>	128,51 $\pm$ 60,23 <sup>Ab</sup>
	10 dk	69,12 $\pm$ 38,58 <sup>ABa</sup>	153,17 $\pm$ 70,35 <sup>Ab</sup>
	20 dk	102,13 $\pm$ 56,79 <sup>Aa</sup>	166,96 $\pm$ 62,79 <sup>Ab</sup>
VEGF-A pg/mL	5 dk	107,85 $\pm$ 42,03 <sup>ABa</sup>	139,44 $\pm$ 50,39 <sup>Ab</sup>
	10 dk	142,38 $\pm$ 56,36 <sup>Ba</sup>	169,55 $\pm$ 58,94 <sup>Ab</sup>
	20 dk	103,23 $\pm$ 33,29 <sup>Aa</sup>	149,44 $\pm$ 63,13 <sup>Ab</sup>
IGF-1 ng/mL	5 dk	153,34 $\pm$ 35,89 <sup>Aa</sup>	178,47 $\pm$ 47,58 <sup>Ab</sup>
	10 dk	159,3 $\pm$ 51,11 <sup>Aa</sup>	197,85 $\pm$ 63,8 <sup>Ab</sup>
	20 dk	144,31 $\pm$ 52,4 <sup>Aa</sup>	185,03 $\pm$ 47,01 <sup>Ab</sup>

\* 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 ( $p<0,05$ )

Örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, irrigasyon solüsyonlarının 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.5'te sunulmuştur.

Her irrigasyon solüsyonu kendi grubu içinde uygulama sürelerine göre karşılaştırıldığında; EDTA ve HEBP gruplarında tüm büyüme faktörlerinin, NSS gruplarında TGF- $\beta$ 1 ve IGF-1'in, BA gruplarında ise IGF-1'in salınım düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ( $p>0,05$ ). BA 20 dk uygulama süresinde 5 ve 10 dk uygulama sürelerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek seviyede TGF- $\beta$ 1 salınımı gerçekleşmiştir ( $p<0,001$ ). BA 10 ve 20 dk uygulama sürelerinin 5 dk uygulama süresine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek seviyede VEGF-A salınımı sağlamıştır ( $p<0,001$ ). NSS ise, 5 ve 10 dk

uygulama sürelerinde 20 dk uygulama süresine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek seviyede VEGF-A salınımına neden olmuştur ( $p=0,001$ ).

Uygulama sürelerine göre TGF- $\beta$ 1 salınım seviyeleri karşılaştırıldığında; 5 dk uygulama süresinde EDTA ve HEBP grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken ( $p>0,05$ ), EDTA grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olmuştur ( $p=0,001$ ). HEBP grubu BA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına sebep olurken ( $p=0,001$ ), NSS ile HEBP ve BA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). İrrigasyon solüsyonlarının 10 dk uygulama süresinde TGF- $\beta$ 1 salınım düzeyleri karşılaştırıldığında; EDTA grubu NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olurken ( $p<0,001$ ), EDTA grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ). HEBP grubu BA ve NSS gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olurken ( $p<0,001$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). İrrigasyon solüsyonlarının 20 dk uygulama süresinde TGF- $\beta$ 1 salınım düzeyleri karşılaştırıldığında ise; EDTA, HEBP ve BA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken ( $p>0,05$ ), bu üç grup NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına sebep olmuştur ( $p<0,001$ ).

Uygulama sürelerine göre VEGF-A salınım seviyeleri kıyaslandığında; EDTA ve NSS gruplarının 5 dk uygulama sürelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken ( $p>0,05$ ), bu iki grup diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A salınımı sağlamıştır ( $p<0,001$ ). EDTA, BA ve NSS gruplarının 10 dk uygulama sürelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken ( $p>0,05$ ), bu üç grup HEBP grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A salınımı gerçekleştirmiştir ( $p<0,001$ ). İrrigasyon solüsyonlarının 20 dk uygulama sürelerinde VEGF-A salınım düzeyleri karşılaştırıldığında ise; EDTA grubu HEBP ve NSS gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A salınımına neden olurken ( $p<0,001$ ), EDTA ve BA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ( $p>0,05$ ). BA grubu HEBP grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A salınımı gerçekleştirmiştir ( $p<0,001$ ). NSS ile BA ve HEBP grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

Uygulama sürelerine göre IGF-1 salınım seviyeleri karşılaştırıldığında; EDTA grubu 5 dk uygulama süresinde HEBP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek IGF-1 salınımına neden olurken ( $p=0,001$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ( $p>0,05$ ). İrrigasyon solüsyonlarının 10 dk uygulama süresinde IGF-1 salınım düzeyleri karşılaştırıldığında; EDTA ve BA grupları NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek IGF-1 salınımı sağlarken ( $p=0,005$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). İrrigasyon solüsyonlarının 20 dk uygulandığı gruplardaki IGF-1 salınım düzeyleri karşılaştırıldığında ise; BA grubu HEBP ve NSS gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek IGF-1 salınımına neden olurken ( $p=0,001$ ), BA ve EDTA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ). EDTA grubu NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek IGF-1 salınımına neden olurken ( $p=0,001$ ), diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Çizelge 3.5.** Örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, irrigasyon solüsyonlarının 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları

		EDTA	HEBP	BA	NSS
TGF- $\beta$ 1 pg/mL	5 dk	143,1 $\pm$ 80,29 <sup>Aa</sup>	106,74 $\pm$ 36,46 <sup>Aab</sup>	60,34 $\pm$ 24,56 <sup>Ac</sup>	67,31 $\pm$ 32,32 <sup>Abc</sup>
	10 dk	151,35 $\pm$ 88,93 <sup>Aab</sup>	157,51 $\pm$ 57,11 <sup>Aa</sup>	70,56 $\pm$ 29,31 <sup>Abc</sup>	65,17 $\pm$ 30,45 <sup>Ac</sup>
	20 dk	137,25 $\pm$ 56,25 <sup>Aa</sup>	130,53 $\pm$ 54,98 <sup>Aa</sup>	206,02 $\pm$ 41,52 <sup>Ba</sup>	64,4 $\pm$ 26,4 <sup>Ab</sup>
VEGF-A pg/mL	5 dk	163,41 $\pm$ 52,44 <sup>Aa</sup>	92,26 $\pm$ 24,39 <sup>Ab</sup>	94,99 $\pm$ 23,91 <sup>Ab</sup>	143,94 $\pm$ 45,05 <sup>Aa</sup>
	10 dk	205 $\pm$ 68,98 <sup>Aa</sup>	100,13 $\pm$ 30,55 <sup>Ab</sup>	157,59 $\pm$ 23,23 <sup>Ba</sup>	161,15 $\pm$ 49,24 <sup>Aa</sup>
	20 dk	183,21 $\pm$ 52,29 <sup>Aa</sup>	77,56 $\pm$ 17,69 <sup>Ab</sup>	144,85 $\pm$ 46,59 <sup>Bac</sup>	99,73 $\pm$ 22,15 <sup>Bbc</sup>
IGF-1 ng/mL	5 dk	202,62 $\pm$ 35,1 <sup>Aa</sup>	130,55 $\pm$ 28,89 <sup>Ab</sup>	172,3 $\pm$ 41,52 <sup>Aab</sup>	158,14 $\pm$ 37,15 <sup>Aab</sup>
	10 dk	205,64 $\pm$ 63,75 <sup>Aa</sup>	174,66 $\pm$ 52,56 <sup>Aab</sup>	206,02 $\pm$ 41,52 <sup>Aa</sup>	127,98 $\pm$ 51,14 <sup>Ab</sup>
	20 dk	187,21 $\pm$ 39,82 <sup>Aab</sup>	141,46 $\pm$ 42,62 <sup>Abc</sup>	204,22 $\pm$ 53,02 <sup>Aa</sup>	125,79 $\pm$ 38,22 <sup>Ac</sup>

\* 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 ( $p<0,05$ )

Uygulama süreleri gözardı edildiğinde, irrigasyon solüsyonlarının tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.6'da sunulmuştur.

Tüm solüsyonların uygulandığı gruplarda TGF- $\beta$ 1, VEGF-A ve IGF-1'in 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ).

TGF $\beta$ -1 1. gün salınım düzeyleri incelendiğinde; şelasyon ajanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamış olup ( $p>0,05$ ), tüm şelasyon ajanları

NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olmuştur ( $p < 0,001$ ). TGF- $\beta$ 1 7. gün salınım düzeyleri incelendiğinde ise; EDTA grubu ile HEBP grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok iken ( $p > 0,05$ ), EDTA grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olmuştur ( $p < 0,001$ ). HEBP ve BA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmayıp ( $p > 0,05$ ), HEBP grubunda NSS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımı gerçekleşmiştir ( $p < 0,001$ ). BA ve NSS grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ( $p > 0,05$ ).

VEGF-A 1. gün salınım düzeyleri incelendiğinde; EDTA, BA ve NSS grupları HEBP grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A salınımına neden olurken ( $p < 0,001$ ), bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır ( $p > 0,05$ ). VEGF-A 7. gün salınım düzeyleri incelendiğinde ise; EDTA grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A salınımı gerçekleştirmiştir ( $p < 0,001$ ). HEBP ve NSS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken ( $p > 0,05$ ), BA grubu HEBP grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A salınımına sebep olmuştur ( $p < 0,001$ ). BA ve NSS arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır ( $p > 0,05$ ).

IGF-1 1. gün salınım düzeylerine bakıldığında; BA grubu NSS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek IGF-1 salınımına sebep olurken ( $p < 0,001$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ( $p > 0,05$ ). IGF-1 7. gün salınım düzeyleri incelendiğinde ise; EDTA grubu HEBP ve NSS gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek IGF-1 salınımı sağlarken ( $p < 0,001$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Çizelge 3.6.** Uygulama süreleri gözardı edildiğinde, irrigasyon solüsyonlarının tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları

	EDTA	HEBP	BA	NSS
TGF-β1 pg/mL (1.gün)	79,25 ± 17,77 <sup>Aa</sup>	98,69 ± 30,17 <sup>Aa</sup>	90,48 ± 72,55 <sup>Aa</sup>	40,23 ± 12,47 <sup>Ab</sup>
TGF-β1 pg/mL (7.gün)	208,55 ± 47,33 <sup>Ba</sup>	164,49 ± 51,33 <sup>Bab</sup>	134,13 ± 71,58 <sup>Bbc</sup>	91,02 ± 14,46 <sup>Bc</sup>
VEGF-A pg/mL (1.gün)	153,57 ± 54,52 <sup>Aa</sup>	78,08 ± 16,76 <sup>Ab</sup>	112,76 ± 34,75 <sup>Aa</sup>	126,87 ± 43,35 <sup>Aa</sup>
VEGF-A pg/mL (7.gün)	214,17 ± 48,19 <sup>Ba</sup>	101,88 ± 28,21 <sup>Bb</sup>	152,19 ± 40,48 <sup>Bc</sup>	143,01 ± 50,99 <sup>Bbc</sup>
IGF-1 ng/mL (1.gün)	170,72 ± 34,67 <sup>Aab</sup>	136,53 ± 42,33 <sup>Aab</sup>	180,45 ± 45,88 <sup>Aa</sup>	121,55 ± 39,89 <sup>Ab</sup>
IGF-1 ng/mL (7.gün)	226,26 ± 41,90 <sup>Ba</sup>	161,24 ± 46,18 <sup>Bb</sup>	207,9 ± 45,33 <sup>Bab</sup>	153,06 ± 43,30 <sup>Bb</sup>

\*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 grubunda 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.7’de sunulmuştur.

EDTA grubunun tamamında TGF-β1, VEGF-A ve IGF-1’in 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0,05). EDTA grupları uygulama sürelerine göre incelendiğinde; tüm gruplarda tüm büyüme faktörlerinin hem 1. gün hem de 7. gün salınım düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p>0.05).

**Çizelge 3.7.** EDTA grubunda 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları

	EDTA		
	5 dk	10 dk	20 dk
TGF-β1 pg/mL (1.gün)	79 ± 26,02 <sup>Aa</sup>	74,87 ± 17,78 <sup>Aa</sup>	83,88 ± 5,59 <sup>Aa</sup>
TGF-β1 pg/mL (7.gün)	207,21 ± 60,36 <sup>Ba</sup>	227,83 ± 55,18 <sup>Ba</sup>	190,61 ± 9,74 <sup>Ba</sup>
VEGF-A pg/mL (1.gün)	137,26 ± 52,21 <sup>Aa</sup>	182,44 ± 71,83 <sup>Aa</sup>	141,02 ± 26,71 <sup>Aa</sup>
VEGF-A pg/mL (7.gün)	189,55 ± 41,04 <sup>Ba</sup>	227,55 ± 63,94 <sup>Ba</sup>	225,41 ± 32,09 <sup>Ba</sup>
IGF-1 ng/mL (1.gün)	183,02 ± 22,38 <sup>Aa</sup>	170,4 ± 52,75 <sup>Aa</sup>	158,73 ± 21,22 <sup>Aa</sup>
IGF-1 ng/mL (7.gün)	222,23 ± 35,88 <sup>Ba</sup>	240,87 ± 56,37 <sup>Ba</sup>	215,69 ± 33,05 <sup>Ba</sup>

\*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)

HEBP grubunda 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.8’de sunulmuştur.

HEBP grubunda; 5 dk uygulama süresinde IGF-1 salınım seviyeleri hariç, diğer tüm gruplarda tüm büyüme faktörlerinin 7. gün salınım seviyelerinin 1. gün salınım seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur (p=0,028). 5 dk uygulama süresinde, IGF-1 1. ve 7. günler salınım seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0.05).

HEBP grubu uygulama sürelerine göre incelendiğinde; TGF-β1 7. gün salınım düzeyleri hariç olmak üzere, uygulama süreleri büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı derecede etkilememiştir ( $p>0.05$ ). TGF-β1'in 7. gün salınım düzeyleri karşılaştırıldığında ise; 10 dk uygulama süresi 5 dk uygulama süresine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF-β1 salınımına neden olurken ( $p<0,05$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**Çizelge 3.8.** HEBP gruplarında 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları

	HEBP		
	5 dk	10 dk	20 dk
TGF-β1 pg/mL (1.gün)	82,53 ± 21,36 <sup>Aa</sup>	116,36 ± 40,54 <sup>Aa</sup>	97,19 ± 17,44 <sup>Aa</sup>
TGF-β1 pg/mL (7.gün)	130,96 ± 32,59 <sup>Ba</sup>	198,66 ± 38,31 <sup>Bb</sup>	163,86 ± 60,65 <sup>Bab</sup>
VEGF-A pg/mL (1.gün)	81,17 ± 16,9 <sup>Aa</sup>	83,11 ± 14,69 <sup>Aa</sup>	69,97 ± 18,25 <sup>Aa</sup>
VEGF-A pg/mL (7.gün)	103,34 ± 26,9 <sup>Ba</sup>	117,15 ± 33,8 <sup>Ba</sup>	85,15 ± 14,72 <sup>Ba</sup>
IGF-1 ng/mL (1. gün)	128,43 ± 26,9 <sup>Aa</sup>	164,93 ± 50,81 <sup>Aa</sup>	116,24 ± 35,28 <sup>Aa</sup>
IGF-1 ng/mL (7.gün)	132,68 ± 33,13 <sup>Aa</sup>	184,38 ± 57,17 <sup>Ba</sup>	166,67 ± 35,03 <sup>Ba</sup>

\* 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 ( $p<0.05$ )

BA grubundada 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.9'da sunulmuştur.

BA grubunda; 20 dk uygulama süresi IGF-1 salınım seviyeleri hariç, diğer tüm gruplarda tüm büyüme faktörlerinin 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p=0,028$ ). 20 dk uygulama süresinde, IGF-1 1. ve 7. günler salınım seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0.05$ ).

BA grubu uygulama sürelerine göre incelendiğinde; 20 dk uygulama süresinde 5 ve 10 dk uygulama sürelerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek 1. gün TGF-β1 salınımına neden olurken ( $p=0,003$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır ( $p>0.05$ ). 20 dk uygulama süresi 5 dk uygulama süresinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek 7. gün TGF-β1 salınımına sebep olurken ( $p=0,002$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). 10 dk uygulama süresi 5 dk uygulama süresinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek 1. gün VEGF-A salınımı sağlarken ( $p=0,001$ ), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). 10 ve 20 dk uygulama süreleri 5 dk uygulama süresine göre istatistiksel

olarak anlamlı derecede daha yüksek 7. gün VEGF-A salınımına neden olmuştur (p=0,008). Tüm gruplarda IGF-1'in 1. ve 7. gün salınım düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

**Çizelge 3.9.** BA grubunda 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları

	BA		
	5 dk	10 dk	20 dk
TGF-β1 pg/mL (1.gün)	41,2 ± 14,95 <sup>Aa</sup>	43,97 ± 7,7 <sup>Aa</sup>	186,28 ± 33,04 <sup>Ab</sup>
TGF-β1 pg/mL (7.gün)	79,49 ± 14,99 <sup>Ba</sup>	97,15 ± 11,56 <sup>Bab</sup>	225,76 ± 42,02 <sup>Bb</sup>
VEGF-A pg/mL (1.gün)	77,75 ± 5,61 <sup>Aa</sup>	148,09 ± 26,87 <sup>Ab</sup>	112,44 ± 19,59 <sup>Ab</sup>
VEGF-A pg/mL (7.gün)	112,22 ± 22,65 <sup>Ba</sup>	167,08 ± 15,79 <sup>Bb</sup>	177,26 ± 43,25 <sup>Bb</sup>
IGF-1 ng/mL (1. gün)	151,11 ± 42,48 <sup>Aa</sup>	186,28 ± 33,04 <sup>Aa</sup>	203,97 ± 50,21 <sup>Aa</sup>
IGF-1 ng/mL (7.gün)	193,49 ± 30,18 <sup>Ba</sup>	225,76 ± 42,02 <sup>Ba</sup>	204,45 ± 60,52 <sup>Aa</sup>

\*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)

NSS grubunda 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Çizelge 3.10'da sunulmuştur.

NSS grubunda 5 dk uygulama süresinde VEGF-A salınım seviyeleri ve 10 dk uygulama süresinde IGF-1 salınım seviyelerine bakıldığında; 1. ve 7. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05). Bu iki grup hariç, diğer tüm gruplarda tüm büyüme faktörlerinin 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p=0,028).

NSS grubu uygulama sürelerine göre incelendiğinde; tüm gruplarda TGF-β1 ile IGF-1'in hem 1. gün hem de 7. gün ve VEGF-A'nın 7. gün salınım düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p>0.05). 10 dk uygulama süresi 20 dk uygulama süresine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek 1. gün VEGF-A salınımına neden olurken (p=0,01), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır (p>0.05)

**Çizelge 3.10.** NSS grubunda 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde tüm büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri ortalama ve standart sapmaları

	NSS		
	5 dk	10 dk	20 dk
<b>TGF-β1 pg/mL (1.gün)</b>	38,23 ± 8,52 <sup>Aa</sup>	41,28 ± 20,53 <sup>Aa</sup>	41,19 ± 5,22 <sup>Aa</sup>
<b>TGF-β1 pg/mL (7.gün)</b>	96,39 ± 14,03 <sup>Ba</sup>	89,06 ± 15,77 <sup>Ba</sup>	87,62 ± 14,57 <sup>Ba</sup>
<b>VEGF-A pg/mL (1.gün)</b>	135,23 ± 34,68 <sup>Ab</sup>	155,88 ± 46,02 <sup>Ab</sup>	89,5 ± 17,27 <sup>Aa</sup>
<b>VEGF-A pg/mL (7.gün)</b>	152,65 ± 55,5 <sup>Aa</sup>	166,43 ± 56,12 <sup>Ba</sup>	109,96 ± 23,01 <sup>Ba</sup>
<b>IGF-1 ng/mL (1. gün)</b>	150,79 ± 32,8 <sup>Aa</sup>	115,58 ± 47,01 <sup>Aa</sup>	98,29 ± 20,19 <sup>Aa</sup>
<b>IGF-1 ng/mL (7.gün)</b>	165,5 ± 42,79 <sup>Ba</sup>	140,38 ± 56,34 <sup>Aa</sup>	153,29 ± 31,48 <sup>Ba</sup>

\*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)



## 4. TARTIŞMA

Kök gelişimi, mine ve dentin oluşumunun mine-sement birleşim noktasına ulaşmasıyla başlar [53, 54]. Kök ucunun gelişimi, dişin oklüzyona gelmesinden sonra da devam eder ve daimi dişler apeks gelişimlerini tamamlayana kadar sürdükten sonraki 2-3 sene içerisinde açık apekslidirler [58-60]. İmmatür daimi dişlerin kök gelişimi; çürük, travma veya çeşitli anomaliler nedeniyle durabilmektedir. Pulpada enflamatuvar sürecin başlamasıyla, pulpa dokusuna ulaşan bakteriler pulpa boyunca yayılarak nekroza ve periapikal enfeksiyona sebep olabilir [61, 62]. Kök gelişiminin durması ve dentin duvarlarının ince kalması nedeniyle kök kırığı riski artmakta ve kanalın hermetik tıkanması mümkün olamamaktadır [75, 310]. Günümüzde Ca(OH)<sub>2</sub> ile uzun süreli ve MTA ile tek seansta yapılan apeksifikasyon tedavileri yerini güncel olarak uygulanmaya başlayan rejeneratif endodontik tedavilere bırakmaya başlamıştır. Rejeneratif endodontik prosedürlerin asıl amacı; pulpa benzeri dokuyla beraber, hasar görmüş kök dentin gelişimini devam ettirerek ideal olarak pulpa-dentin kompleksini yeniden oluşturmaktır [2].

Dental pulpa rejenerasyonu için doku mühendisliği konsepti kök hücrelere, biyoaktif moleküllere ve yapı iskelelerine dayanmaktadır. Biyoaktif moleküller, hücre proliferasyonu ve farklılaşması, hücre dışı matriks sekresyonu ve mineralizasyon dahil olmak üzere kök hücre aktivitelerini kontrol eden büyüme faktörlerini içerir [311]. Diş gelişimi sırasında, çeşitli biyoaktif moleküller odontoblastlar tarafından salgılanır, aktif olmayan bir formda dentin matriksinde tutulur ve bunların çoğu dentinin mineral bileşeni ile bağlanır [10]. Vital pulpanın yapısında çeşitli biyoaktif moleküller bulunmasına rağmen, bu moleküller nekrotik pulpada bulunmazlar. Dentin matriksinin büyüme faktörleri için bir rezervuar olması, rejenerasyonda önemli bir rol oynamaktadır [312]. Bu büyüme faktörleri daha sonra yeniden aktif hale getirilebilir ve demineralizasyon yoluyla dentin matriksinden serbest bırakılabilir [10]. Dentin dokusuna organik asitler veya şelasyon ajanları gibi dental materyallerin uygulanmasının, matrikse bağlı büyüme faktörlerinin açığa çıkmasında ve yeniden salınmasında etkili olduğu gösterilmiştir [9, 175].

Endodontide kullanılan irrigasyon solüsyonlarının ve medikamentlerin büyüme faktörlerinin salınımını etkilediğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır [32, 192, 264, 312]. NaOCl ile irrigasyonun; dentine bağlanma kuvvetini azalttığı, dentin tabakasında dejenerasyona neden olduğu, yüksek konsantrasyonda uygulanmasının kök hücreler üzerinde toksik olabileceği bildirilmiştir [313, 314]. Şelasyon ajanlarının ise, dentin matriksinden çözünen biyoaktif moleküllerin, kök hücrelerin farklılaşmasını sağlayarak dentin duvarlarına migrasyonunu ve adezyonunu artırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [37, 315].

Şelasyon ajanlarının dentinden büyüme faktörlerinin salınımını araştıran çalışmalarda şimdiye kadar; üçüncü molar [193, 194, 208], mandibular premolar [227, 316] ve tek köklü dişler [9, 192, 209] kullanılmıştır. Çalışmalarda üçüncü molar dişler dentin diski hazırlamak amacıyla tercih edilirken, tek köklü dişler kök segmenti hazırlamak için kullanılmıştır. Kök segmentlerinde büyüme faktörlerinin araştırıldığı çalışmalarda düz ve tek köklü dişler daha sık kullanıldığı ve klinik uygulamaya daha yakın olduğu için bu çalışmada mandibular premolar dişler kullanılmıştır.

Şelasyon ajanlarının dentin matriksinde bulunan büyüme faktörlerinin salınımını araştıran çalışmalarda dentin farklı formlarda kullanılmıştır [9, 192, 208]. Bu çalışmalarda; tüm yüzeylerinden salınım yapabilen standart çaplarda hazırlanan koronal dentin diskleri [32, 37, 44], salınımın en fazla miktarda gerçekleşebileceği dentinin toz hali [11, 12], kök formuna benzeyen konik kök segmentleri [9, 44, 227] ya da 8 mm boyutunda hazırlanan silindirik kök segmentleri [192] kullanılmıştır. Klinik uygulamada büyüme faktörlerinin salınımı sadece kök dentinin iç yüzeyinden gerçekleştiği için toz dentin ve dentin diskleri endodontinin klinik uygulamalarına uygun değildir. Konik formlu kök segmentleri ve standart hazırlanan silindirik kök segmentleri klinik uygulamaya en yakın modellerdir. Konik kök segmentlerinde büyüme faktörlerini araştıran çalışmalarda, örnekler 12 mm boyutunda hazırlanmıştır [9, 209, 227]. Yapılan bir çalışmada; gelişmekte olan dişlerin kök uzunluğunun 1/2'si ile 2/3'ü oluşmuş olan dişlerin rejeneratif endodontik tedaviler için daha uygun olduğu belirtilmiştir [317]. Bu nedenle gelişmekte olan kök boyutuna benzer olması amacıyla daha kısa boyda kök segmentleri hazırlanmış ve klinik uygulamaya yakınlığı açısından 8 mm uzunluğunda standardize edilen kök segmentleri kullanılmıştır.

Şimdiye kadar rejeneratif endodontiyle ilgili yapılan *in vitro* çalışmalarda; el eğeleri [9, 227], Gates Glidden frezler [192] ve döner alet eğeleri [44] kök segmentlerinin

preparasyonunda kullanılmıştır. Kök gelişimi durmuş olan açık apeksli dişlerin kök-kanal boşlukları daralan bir koniden ziyade, apikalde genişleyen ve nispeten paralel şekilde olduğu için, bu çalışmada kliniğe en yakın olarak paralel duvarlar oluşturmak amacıyla Gates Glidden frezler kullanılmıştır.

Rejeneratif endodontik uygulamalarda; osteoblastlar, sementoblastlar, periodontal ligament hücreleri ve endotel hücreleri, apikal foramenden geçerek kanal boşluğunda kemik, sement, periodontal ligament ve kan damarları üretebilir [317]. Bir çalışmada, apikal çapın 1 mm'den küçük olduğu durumlarda bile rejeneratif prosedürlerin başarılı olduğu gösterilmiştir [318]. Ancak, bir transplantasyon çalışmasında; apikal foramen çapının 1 mm'den daha küçük olduğu durumlarda pulpal dokuların revaskülarizasyonunun ön görülemez olduğu bildirilmiştir [319]. Ek olarak, klinik bir çalışmada; preoperatif apikal çapı 1 mm'den geniş olan immatür daimi dişlerde daha fazla kök gelişimi gözlemlendiği tespit edilmiştir [320]. Kök segmentlerini kullanarak büyüme faktörlerini araştıran çalışmalarda apikal açıklık; el eğeleri ile 1 mm [9, 209, 227], Gates Glidden frezleri ile 1,3 mm [192] veya döner alet eğeleri ile 0,5 mm [44] çapında genişletilmiştir. Bu sebeplerden dolayı bu çalışmada apikal açıklığın klinik uygulamaya benzer olması için Gates Glidden #1-4 frezleri ile 1,1 mm çapında genişletme yapılmış ve preparasyon esnasında her frezin ardından debrisin uzaklaştırılması amacıyla distile su kullanılmıştır.

Şelasyon ajanlarının kök dentininden büyüme faktörlerinin salınımını araştıran bazı çalışmalarda; dentinin toz hali [11, 12] ve dentin diskleri [32, 37, 44] kullanılmıştır. Ancak, bu çalışmalardaki gibi uygulandığında dentinin tüm yüzeylerinden büyüme faktörü salınımı gerçekleşeceği için klinik prosedürden uzak bir sonuç verebilir. Yapılan çalışmalarda, bu durumun önüne geçebilmek için kök kanal dentini hariç dişin tüm yüzeylerinin tırnak cilası ile kapatıldığı çalışmalar mevcuttur [9, 192, 209, 227]. Bu çalışmada da, benzer şekilde kök segmentleri apikal ve koronal yüzeyler dahil tüm sement yüzeyi tırnak cilası ile kapatılarak hazırlanmıştır.

Yapılan bir çalışmada; ELISA testinde negatif kontrol grubu olması amacıyla tüm yüzeyleri tırnak cilası ile kapatılan örnekler kullanılmıştır [192]. Bu çalışmada aynı amaçla negatif kontrol grubu olarak ayrılan 3 diş, iç dentin yüzeyi de dahil olmak üzere tüm yüzeyleri tırnak cilası ile kapatılmış ve bu dişlere herhangi bir işlem uygulanmamıştır.

Açık apeksli immatür dişlerde, mekanik enstrümantasyonla enfekte kök dentininin uzaklaştırılması, ince olan kök kanal duvarlarını daha da kırılgan hale getireceğinden enstrümantasyondan kaçınılması gerektiği bildirilmiştir [74]. Açık apeksli immatür dişlerde enfeksiyon varlığı, büyüme faktörü salınımı ve periapikal dokulardaki kök hücre oluşumu yanı sıra pulpa dokusu rejenerasyon sürecini de olumsuz etkileyebilir [321]. Biyolojik olarak sağlıklı rejeneratif doku oluşumunu sağlamak için kök kanal dezenfeksiyonunun sağlanması önemlidir [2, 193]. Rejeneratif endodontik çalışmalarda; %1,5, %2,5 ve %5,25 NaOCl, %0,12 ve %2 CHX dentini dezenfekte etmek için kullanılmıştır [9, 32, 193, 208]. Yapılan bir çalışmada; %6 NaOCl'nin kök hücrelerin canlılığını azalttığı, bu etkinin %1,5 NaOCl uygulanmasının ardından %17 EDTA kullanımı ile önlenemediği bildirilmiştir [30]. Bu çalışmada kök segmentlerinin klinik uygulamaya benzetmek için Avrupa Endodonti Birliği'nin önerdiği şekliyle [322], 20 ml %1,5 NaOCl 5 dk süre uygulanmış, ardından NaOCl'yi uzaklaştırabilmek için NSS ile irrigasyon yapılmıştır.

Organik asitler veya şelasyon ajanları smear tabakanın kaldırılması ve dentin demineralizasyonu için kullanılır [28]. Şelasyon ajanlarının rejeneratif endodontide büyüme faktörlerinin salınımına etkisini araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda; %10 ve %17 EDTA, %10 SA, %9 HEBP, %1 fitik asit, %37 fosforik asit, distile su, NSS ve PBS irrigasyon solüsyonu olarak kullanılmıştır [37, 44, 192, 193, 208].

EDTA endodontide; %3, %5, %10, %15 ve %17 [26, 301, 309, 315, 323] konsantrasyonlarda kullanılmış olup, en yaygın kullanılan %17 konsantrasyonudur. Rejeneratif endodonti ile ilgili yapılan çalışmalarda ise; %10 [32] ve %17 [32, 37, 194, 208, 227] konsantrasyonlarda EDTA solüsyonu kullanılmıştır. Dentine %17 EDTA uygulanmasının; dentin yüzeyinde hücre tutunmasını ve proliferasyonu iyileştirdiği [194] ve dentin üzerindeki diş papilla hücrelerinde önemli artışa neden olduğu [31] gösterilmiştir. Başka bir çalışmada; %17 EDTA irrigasyonunun ardından kök kanallarına kan pıhtısı uygulanmasının, TGF- $\beta$  mRNA ve IGF mRNA miktarlarını belirgin derecede arttırdığı bildirilmiştir [263]. Dentinden büyüme faktörlerinin salınımını araştıran çalışmalarda; %10 [32] ve %17 [32, 37, 194, 208, 227] konsantrasyonlarda EDTA solüsyonu kullanılmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda; dentinden TGF- $\beta$ 1 salınım düzeyleri karşılaştırıldığında, %17 EDTA'nın %10 SA'dan önemli ölçüde daha etkili olduğu gösterilmiştir [32, 264]. Avrupa Endodonti Birliği

rejeneratif endodontik prosedürlerde şelasyon ajanı olarak %17 EDTA kullanılmasını tavsiye etmektedir [322]. Bu sebeplerden dolayı bu çalışmada, endodontide altın standart olan %17 EDTA solüsyonu tercih edilmiştir.

Son yıllarda EDTA'ya alternatif olabilecek irrigasyon solüsyonlarıyla ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. HEBP'nin endodontide kullanımı ile ilgili çalışmalar giderek yaygınlaşmaktadır. HEBP endodontide; %7 [35], %9 [35, 209, 270, 275] ve %18 [34, 276, 324] konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Şelasyon ajanlarının antimikrobiyal kapasitelerini değerlendiren bir çalışmada; %17 EDTA ve %10 SA, NaOCl ile negatif etkileşime girerken %7 HEBP olumlu sonuç vermiş ve antimikrobiyal etkinliği değiştirmedigi tespit edilmiştir [35]. Başka bir çalışmada; %17 EDTA ve %9 HEBP'nin NaOCl ile birlikte kullanıldığında, HEBP'nin *E. faecalis* üzerinde daha yüksek antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir [325]. NaOCl ve %9 HEBP birlikte kullanıldığında smear tabakasını uzaklaştırma etkisinin yüksek derecede devam ettiği rapor edilmiştir [270]. Başka bir çalışmada; %17 EDTA'nın, smear tabakasını hızlı bir şekilde ortadan kaldırırken alt tabakalardaki sağlam dentini olumsuz etkileyebilen güçlü bir şelatör olduğu, ancak %9 ve %18 HEBP'nin NaOCl ile birlikte uygulanabilen daha zayıf bir şelatör olduğu rapor edilmiştir [274]. Rejeneratif endodontide ise; HEBP %9 konsantrasyonda kullanılmıştır [37, 209]. Yapılan çalışmalarda; %9 HEBP'nin %17 EDTA'ya göre dentinden daha fazla miktarda TGF- $\beta$  salınımı yaptığı, hücre göçünde daha etkili olduğu [37] ve daha fazla VEGF salınımına sebep olduğu [209] bildirilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı bu çalışmada %9 HEBP kullanılmıştır.

BA'nın gram negatif ve pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal özellik göstermesi [289, 290], aynı zamanda smear tabaka kaldırmada az da olsa etkili olması [42] ve kanal dolgu patlarının bağlanma dayanımlarını arttırması [292] gibi özellikleri bir arada bulunduran nadir bir şelasyon ajanıdır. BA çalışmalarda şimdiye kadar; %2, %2,5, %4, %5, %6 ve %10 konsantrasyonlarda kullanılmıştır [42, 43, 292]. BA'nın konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etkinliğinin doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiş ve kök kanallarının dezenfeksiyonu için yüksek konsantrasyonlarda ve uzun irrigasyon sürelerinde BA kullanımı önerilmiştir [43]. Daha önce herhangi bir rejeneratif endodonti çalışmasında kullanılmaması ve hem antibakteriyel etkinliği hem de smear tabakayı uzaklaştırabilme yeteneği düşünüldüğünde, %6 BA bu çalışmada kullanılmıştır.

NSS insan dokularıyla uyumlu olan ve bu özelliğinden dolayı tıpta pek çok alanda kullanılan bir solüsyondur [294-296]. Açık apeksli immatür bir dişte kanal tedavisi sırasında oluşabilecek herhangi bir NaOCl komplikasyonundan kaçınmak için son irrigasyon solüsyonu olarak NSS kullanılması önerilmiştir [300]. Şimdiye kadar yapılan rejeneratif endodonti çalışmalarında; kontrol grubu olarak ayrılan gruplarda distile su [37, 194, 209], NSS [192, 227] veya PBS [44] kullanılmıştır. Çalışmalarda NSS uygulanmasıyla dentinden büyüme faktörlerinin salınım yaptığı ve bu salınım seviyelerinin şelasyon ajanlarından daha düşük olduğu bildirilmiştir [192, 227]. Bu çalışmada kontrol grubu olarak NSS tercih edilmiştir.

Rejeneratif endodonti uygulamalarında, şelasyon ajanlarının optimum uygulama süreleri hala belirsizliğini korumaktadır. Endodontide dentin içeriğinin belirlenmesi veya smear tabakanın kaldırılmasında farklı sürelerde irrigasyon solüsyonlarının uygulanmasıyla ilgili çalışmalarda; 1, 3, 5, 10, 20 dk ve 24 saat [305-308] uygulama süreleri kullanılmıştır. Farklı sürelerde uygulanan şelasyon ajanlarının dentinden çözünen kalsiyum iyon miktarlarını araştıran bir çalışmada, tüm solüsyonlarda artan uygulama süreleriyle doğru orantılı olarak kalsiyum iyon miktarının arttığı bildirilmiştir [306]. Bir çalışmada şelasyon ajanlarının kök kanallarından smear tabaka uzaklaştırılmasında 1 dk'dan daha uzun uygulama süresinin kök kanallarının apikal üçlüsünde daha etkili olduğu gösterilmiştir [307]. Başka bir çalışmada; HEBP'nin smear tabakasını tamamen uzaklaştırabilmesi için minimum 5 dk'ya gerek olabileceği bildirilmiştir [276]. Şelatörlerin, uzun süre kullanılmasının dentindeki kollajeni olumsuz etkilemeksizin sadece yapısal değişiklere sebep olduğu ve kalan NaOCl'nin dentin üzerindeki etkisini nötralize edebileceği belirtilmiştir. Bu sebeple rejeneratif çalışmalarda şelatörlerin daha büyük hacimlerde ve uzun sürelerde kullanılabilmesi öne sürülmüştür [309]. Avrupa Endodonti Birliği rejeneratif endodontik prosedürlerde %17 EDTA'nın 5 dk süreyle kullanılmasını önermektedir [322]. Farklı uygulama sürelerinde büyüme faktörlerinin salınımını araştıran çalışmalarda; 1, 3, 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinin büyüme faktörlerine etkisi araştırılmıştır [7, 32, 44, 194]. Yapılan çalışmalarda, TGF- $\beta$ 1 salınımının EDTA'nın artan uygulama süresiyle doğru orantılı olarak arttığı bildirilmiştir [32, 44]. Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda; tüm irrigasyon solüsyonları 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde kullanılmıştır.

Çalışmalarda irrigasyon solüsyonları uygulandıktan sonra büyüme faktörlerinin salınım yapabilmesi için örnekler; EDTA, SA,  $\alpha$ -MEM (Minimum Temel Ortam  $\alpha$ ),

PBS, distile su gibi farklı solüsyonlarda inkübe edilmiştir [12, 32, 192, 209]. Büyüme faktörlerinin protein yapılarının bozulmasını en düşük seviyede tutabilmek için bu çalışmada, nötr pH'a sahip bir solüsyon olan PBS (pH~7,4) ortamı tercih edilmiştir [326].

Dentinden salınan büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri çeşitli zaman dilimlerinde değerlendirilmiştir. Şelasyon ajanlarında bekletildikten hemen sonra [32] ve irrigasyonu takiben 4. saat, 1, 3, 5, 7, 14 ve 28. günlerde elde edilen büyüme faktörleri salınım düzeyleri ölçülmüştür [9, 37, 227]. Klinik senaryoda, irrigasyon solüsyonu kanaldan uzaklaştırıldıktan sonra apikal kanama indükleneneğinden, irrigasyon "sırasında" değil "sonrasında" salınan büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri doku rejenerasyonu için daha kritik olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada; dentinden daha kısa zaman zarfındaki büyüme faktörlerinin salınım düzeylerini araştırmak için 1. gün, rejenerasyon sırasında kök hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve adezyonu için büyüme faktör salınımının uzun süreli ve optimal seviyelerde kalması göz önünde bulundurulduğunda ise, dentinden daha uzun sürede büyüme faktörlerinin salınım düzeylerini değerlendirmek amacıyla 7. gün PBS örnekleri alınarak salınım düzeyleri değerlendirilmiştir.

Bugüne kadar, büyüme faktörlerinin tespiti için elektrokimya [327], floresan [328], kolorimetrik yöntem [329] ve yüzey plazmon rezonansı [330] gibi birçok farklı yöntem kullanılmıştır. Bununla birlikte, bu yöntemler arasında, elektrokimya ve yüzey plazmon rezonansı genellikle karmaşık ve zahmetli ön işlem gerektirir. Floresan yönteminde; özel bir ışık kaynağına ihtiyaç olup, bu ışık kaynağının görüntüde parazite sebep olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Kolorimetrik yöntem ise, immünoassaylerde en sık kullanılan yöntemdir. Yapılan klinik bir çalışmada; sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerde çeşitli medyatörlerin seviyelerini karşılaştırmak amacıyla ELISA kullanıldığı bildirilmiştir [331]. Bu çalışmada; basitlik, pratiklik ve doğrudan okuma gibi avantajları nedeniyle büyüme faktörlerinin tespiti için geleneksel kolorimetrik yöntem olan ELISA yöntemi kullanılmıştır [332].

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri hesaplanırken; farklı hacimler baz alınmıştır. Bazı çalışmalarda ELISA için toplanan solüsyon hacmi en az 100 µl (100 µl= 0,1 ml=100 mm<sup>3</sup>) olacak şekilde kullanılmıştır [11, 32, 37, 44, 193]. Başka bir çalışmada ise, kök kanal boşluğu hacminin 100 µl'den

önemli ölçüde daha küçük hacimde olduğu ( $20,39 \pm 3,35 \text{ mm}^3$ ) gösterilmiştir [9]. Büyüme faktörlerinin salınım miktarını 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 her kök kanal boşluğunun ayrı ayrı hacimleri hesaplanarak birim kök hacmindeki büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri değerlendirilmiştir [9]. Bu çalışmada; eşit boylarda ve apikal çaplarda silindirik kök segmentleri elde edilmiş olmasına rağmen kök segmentlerinin koronal çapları farklı olabileceği için, benzer şekilde kök kanal boşluğu hacimleri hesaplanarak büyüme faktörlerinin salınım düzeyleri belirlenmiştir.

TGF- $\beta$ 1; hücre göçü, çoğalması, farklılaşması ve hücre dışı matriks sentezi gibi çok çeşitli hücrel aktiviteyi düzenler. TGF- $\beta$ 1'in diş pulpa doku kültüründe hücre proliferasyonunu, hücre dışı matriks üretimini [15] ve pulpa hücrelerinin odontoblastik farklılaşmasını arttırdığı gösterilmiştir [16]. TGF- $\beta$ 1 ayrıca dental pulpa hasarına karşı immün yanıtta önemli bir rol oynamaktadır [17]. Vasküler geçirgenlik faktörü olarak bilinen VEGF-A; hücre göçünü, çoğalmasını ve damar geçirgenliğini artırır. VEGF-A anjiyogenezden sorumlu en önemli izoform olup, vazodilatasyonda rol oynamaktadır [21]. IGF-1; apoptozu azaltması, mezenkimal kök hücreler üzerinde önemli mitojenik etkilere sahip olması [213], düşük konsantrasyonda kondrositik farklılaşmayı indüklemeye yeteneğinin olması [218], mineralizasyon ve hücre farklılaşmasını uyarması [19] gibi özelliklerinden dolayı rejeneratif tedavilerde önemlidir. Büyüme faktörlerinin kök kanal dentininden salınması, onları hücrel düzeyde yönlendirerek başarılı rejeneratif endodontik tedaviye katkıda bulunabilir. Rejenerasyondaki bu önemli etkileri nedeniyle bu çalışmada; kök segmentlerinin iç dentin yüzeyinden TGF- $\beta$ 1, VEGF-A ve IGF-1'in salınım düzeyleri değerlendirilmiştir.

Şelasyon ajanları ve uygulama süreleri gözardı edildiğinde, bu çalışmada değerlendirilen tüm büyüme faktörlerinin 7. gün salınım seviyelerinin 1. gün salınım seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. Literatürde dentinden salınan büyüme faktörlerinin 7. gün salınım seviyelerinin 1. gün salınım seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu [227] ve anlamlı bir farkın olmadığını [37, 227] bildiren çalışmalar bulunmaktadır.

Zeng ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; çeşitli solüsyonlarla kök segmentlerinde dentinden büyüme faktörlerinin salınımı ve DPSC'lerin göçü araştırılmış, kök segmentlerine DPSC'lerin migrasyon deneyinde göç etmelerinin, salınan büyüme



faktörleri sebebiyle olduğu vurgulanmıştır [9]. Güncel bir çalışmada ise; EDTA'ya benzalkonyum klorür ilavesinin dental pulpa kök hücrelerinin dentin üzerindeki tutunması ve proliferasyonu üzerindeki etkisi araştırıldığında; tüm EDTA solüsyonlarının DPSC'lerin dentin disklerine bağlanmasını ve çoğalmasını artırdığı bildirilmiştir [194].

Dentinde kalan biyofilmin TGF- $\beta$ 1 salınımına etkisini araştıran bir çalışmada; irrigasyon solüsyonu olarak %1,5 NaOCl ve %17 EDTA, medikament olarak üçlü antibiyotik patı ve Ca(OH)<sub>2</sub> uygulanmıştır. En yüksek TGF- $\beta$ 1 miktarları, EDTA irrigasyonu uygulanan gruplarda ve medikament uygulanan steril kök segmentlerinde gözlenirken, biofilm içeren kök segmentlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur [195].

Bu çalışmanın TGF- $\beta$ 1 bulgularına bakıldığında; uygulama süreleri ve örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, tüm şelasyon ajanları NSS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olurken, şelasyon ajanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Uygulama süreleri gözardı edildiğinde, tüm solüsyonların uygulandığı gruplarda TGF- $\beta$ 1'in 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Dentin disklerinde TGF- $\beta$ 1 salınımının değerlendirildiği çalışmalarda; %17 EDTA uygulanan grupların kontrol grubu olarak kullanılan distile su grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını bildiren [37, 194, 208] çalışmalar bulunmaktadır. Dentin disklerinde TGF- $\beta$  salınımının araştırıldığı bir çalışmada; %17 EDTA, %9 HEBP, %1 fitik asit ve distile su kullanılmıştır. Uygulanan tüm solüsyonların TGF- $\beta$  salınım düzeyleri karşılaştırıldığında; 4. saatten 28. güne kadarki süreçte gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır [37]. Araştırmacıların sonuçlarında TGF- $\beta$  salınım düzeylerinde EDTA ve HEBP gruplarının arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması, bu çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Ancak, araştırmacıların çalışmasında distile su grubu ile şelasyon ajanlarının uygulandığı gruplar arasında TGF- $\beta$  salınım düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken, bu çalışmada EDTA ve HEBP gruplarının 1. ve 7. gün TGF- $\beta$ 1 salınım düzeyleri NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. İki çalışma arasındaki farklılık; distile suyun hipotonik, NSS'nin izotonik karakterde olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Yapılan bir çalışmada, distile suyun dokulara etki etme hızının NSS'ye göre daha fazla olabileceği bildirilmiştir [333].

Kök segmentleri kullanılarak %17 EDTA uygulanan gruplarda NSS ya da distile su uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımı bildiren çalışmalar bulunmaktadır [9, 192, 227]. Bir çalışmada; 24 saat sonundaki TGF- $\beta$ 1 salınım seviyeleri değerlendirildiğinde, %17 EDTA grubunda NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımı bildirilmiştir [192]. Araştırmacıların bulguları bu çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur. Başka bir çalışmada; distile su, %17 EDTA, %1,5 NaOCl + %17 EDTA ve %2,5 NaOCl + %17 EDTA kullanarak kök segmentlerinde 4 saat, 1. ve 3. günlerde TGF- $\beta$ 1 salınım düzeyleri araştırılmıştır [9]. Birinci gün TGF- $\beta$ 1 salınım seviyeleri, NaOCl ve EDTA'nın art arda uygulandığı gruplarda sadece EDTA uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada, tüm kök segmentlerine %1,5 NaOCl irrigasyonun ardından, şelasyon ajanlarının uygulandığı deney gruplarında 1. gün TGF- $\beta$ 1 seviyelerinin NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek çıkması araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Zeng ve arkadaşlarının çalışmasında 3. gün TGF- $\beta$ 1 seviyelerinde deney gruplarının arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada ise, 7. gün TGF- $\beta$ 1 salınım seviyeleri EDTA grubunda NSS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. İki çalışma arasındaki farklılık  $\alpha$ -MEM çözeltilisindeki protein yapıda olan büyüme faktörlerinin stabilitesinden kaynaklanıyor olabilir. Bu çalışmada inkübasyon solüsyonu olarak PBS kullanılırken, araştırmacılar örnekleri antibiyotik eklenmiş  $\alpha$ -MEM'de inkübe etmişlerdir.

Bu çalışmanın VEGF-A bulguları incelendiğinde; uygulama süreleri ve örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, EDTA grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek VEGF-A salınımına neden olurken, BA ve NSS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ve bu iki grup HEBP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek VEGF-A salınımı göstermiştir. Uygulama süreleri gözardı edildiğinde, tüm solüsyonların uygulandığı gruplarda VEGF-A'nın 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

VEGF'nin rejenerasyondaki rolünün araştırıldığı bir çalışmada; dentin diskleri %10 EDTA solüsyonunda bekletilip, VEGF ve SHEDs'lerle birlikte farelere implante edildikten sonra, odontoblastik farklılaşmanın gerçekleştiği ve 21. günde kapiller damarların oluşmaya başladığı rapor edilmiştir. Rejenerasyon sırasında; hücrelerdeki metabolizma artıklarının uzaklaştırılmasında, hücrelere oksijen ve besin sağlanmasında damarlanmanın önemli olduğu bildirilmiştir [334]. VEGF-A ise, anjiyogenezden sorumlu olan en önemli izoform olup, hücrelerin migrasyonu ve proliferasyonunda, vazodilatasyon ve vasküler geçirgenlikte görev almaktadır [21].

Dentin disklerine %17 EDTA uygulanmasıyla VEGF salınımının değerlendirildiği çalışmalarda; kontrol grubu olarak uygulanan distile su gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunduğunu [209] ve anlamlı bir farkın olmadığını [208] gösteren çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada; servikal dentin disklerinde kök kanallarına %2 CHX ve % 2,5 NaOCl uygulanmış, ardından diskler %10 EDTA solüsyonunda 20 dk bekletilerek TGF- $\beta$ 1 ve VEGF salınım düzeyleri karşılaştırılmıştır [193]. Ek olarak, sadece %10 EDTA'da bekletilen diskler de karşılaştırmaya dahil edilmiştir. CHX + EDTA grubu ile sadece EDTA uygulanan grup, NaOCl + EDTA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımı gösterirken, CHX + EDTA ve sadece EDTA uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Araştırmacıların çalışmasında, deney gruplarının hiçbirinde VEGF salınımı gözlenmezken, bu çalışmada tüm deney gruplarında kök kanal dentininden VEGF-A salınımı gerçekleşmiştir. Ferreira ve arkadaşları servikal dentin disklerini kullanırken, bu çalışmada kök segmentlerinin kullanılması sonuçların farklılık göstermesinde etkili olabilir. Ayrıca, bir çalışmada VEGF'nin damarlanma bölgesine daha yakın olduğu ve anjiyogeneze katıldığı için kökün apikale yakın bölgesinde mevcut olabileceği bildirilmiştir [335].

Başka bir çalışmada; 5 dk uygulama süresinde %17 EDTA ve distile su kullanılarak dentin disklerinden TGF- $\beta$ 1, BMP-2, FGF-2 ve VEGF salınım düzeyleri araştırılmıştır [208]. Dentin diskleri kök hücre içeren ve kök hücre içermeyen iki gruba ayrılmıştır. Sonuçta; kök hücre içeren gruplarda, içermeyen gruplara göre tüm büyüme faktörlerinin salınım seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir. Araştırmacıların çalışmasında; kök hücre içermeyen deney gruplarında EDTA ve distile su uygulanan gruplar arasında TGF- $\beta$ 1 salınım düzeyleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. EDTA

grubunda distile su grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek VEGF salınımı izlenmiştir. Bu çalışmada ise; EDTA grubu NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımı gerçekleştirmişken, VEGF-A salınım seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Bu farklılığın oluşmasında; araştırmacıların büyüme faktörlerinin salınım düzeylerini değerlendirirken dentin disklerini toz haline getirmesi etkili olabilir.

Kök segmentlerine %17 EDTA uygulanmasıyla VEGF salınımının değerlendirildiği çalışmalarda; NSS ya da distile su gruplarına göre VEGF salınımının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur [209, 227]. Güncel bir çalışmada; dentinin disk ve kök segmenti modellerinde %17 EDTA, %9 HEBP, %1 fitik asit ve distile su uygulanarak 28. gündeki VEGF salınım miktarları karşılaştırılmıştır [209]. Sonuçta; hem dentin disklerinde hem de kök segmentlerinde tüm şelasyon ajanları distile su grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek VEGF salınımı gerçekleştirmiştir. Bu bulgu bu çalışmanın EDTA ve NSS sonuçlarıyla uyumludur. Araştırmacıların çalışmasında dentin disklerinde EDTA ve HEBP gruplarının arasında VEGF salınımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış olup, kök segmentlerinde HEBP grubunda EDTA grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek VEGF salınımı izlenmiştir. Bu çalışmada ise, 5 dk uygulama süresinde HEBP grubu EDTA ve NSS gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları araştırmacıların sonuçlarıyla çelişmektedir. Khan ve arkadaşlarının, kökün apikal bölümünün de dahil olduğu 12 mm uzunluğunda kök segmentleri kullanması, 28. günde ölçüm yapması ve VEGF salınım düzeylerinin değerlendirilmesi sırasında kök kanal boşluğu hacimlerini dikkate almaması sonuçların farklılık göstermesinde etkili olabilir.

Bu çalışmanın IGF-1 bulgularına bakıldığında; uygulama süreleri ve örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, EDTA ve BA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken, bu iki grup diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek IGF-1 salınımına sebep olmuştur. Uygulama süreleri gözardı edildiğinde, tüm solüsyonların uygulandığı gruplarda IGF-1'in 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Kemik ve dentin dokusunda IGF-1, IGF-2 ve TGF- $\beta$ 1 seviyelerini araştıran bir çalışmada, IGF-1'in dentin dokusunda kemik dokusuna göre çok düşük konsantrasyonlarda bulunduğu rapor edilmiştir [11]. IGF-1'in düşük konsantrasyonda bile kondrositik farklılaşmayı indükleme yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir [218]. VEGF ve IGF-1'in urk insan dişlerinden toplanan DPSC'lerin *in vitro* ortamda çoğalması, göçü ve farklılaşması üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada; kültür ortamına tek başına 25 ng/ml VEGF veya 100 ng/ml IGF-1 eklenerek DPSC'lerin proliferasyonunun uyarılabilir olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, iki büyüme faktörünün birlikte eklenmesi DPSC'lerin proliferasyon hızında daha fazla artışa yol açmıştır [224]. Bu çalışmada tüm solüsyonlardan elde edilen IGF-1 salınım düzeyleri Lu ve arkadaşlarının elde ettiği DPSC proliferasyonunun uyarılabilir seviyesi olan 100 ng/ml'den daha yüksek bulunmuştur.

Literatürde şelasyon ajanları kullanılarak dentinden IGF-1 salınımını araştıran sadece 1 çalışma mevcuttur. Çalışmada; kök segmentlerinde %17 EDTA ve %10 SA'in aktivasyon yöntemleri kullanılarak kök dentininden 1. ve 7. günlerdeki TGF- $\beta$ 1, IGF-1, VEGF-A ve BMP-7 salınım düzeyleri araştırılmış, kontrol grubu olarak %1,5 NaOCl irrigasyonunun ardından NSS kullanılmıştır [227]. Araştırmacılar, aktivasyon yapılmadan şelasyon ajanı uygulanan tüm gruplarda NSS grubuna göre hem 1. hem de 7. günlerde tüm büyüme faktörlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek salınım gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmadaki 1. ve 7. günlerdeki TGF- $\beta$ 1 salınım seviyeleri ile VEGF-A ve IGF-1'in 7. gün salınım seviyeleri araştırmacıların sonuçlarıyla uyumludur. Ancak, VEGF-A ve IGF-1'in 1. gün salınım seviyeleri incelendiğinde; EDTA ve NSS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Araştırmacıların çalışmasında aktivasyon yapılmadan EDTA uygulanan grupta TGF- $\beta$ 1 ve VEGF-A'nın 7. gün salınım seviyelerinin 1. gün salınım seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı, ancak IGF-1 salınım seviyelerindeki zamana bağlı değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada ise; tüm büyüme faktörlerinin 7. gün salınım seviyeleri 1. gün salınım seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır. İki alışma arasındaki farklılıklar; araştırmacıların çalışmasında kökün apikal bölümünün dahil olduğu 12 mm uzunluğunda kök segmentleri kullanılırken, bu çalışmada ise kökün apikal bölümünün uzaklaştırıldığı 8 mm uzunluğunda kök segmentleri kullanılmasından kaynaklanıyor olabilir.

Şelasyon ajanları ve örnek alma zamanı gözardı edildiğinde, TGF-β1 salınımının uygulama süreleriyle doğru orantılı olarak arttığı gözlenirken, VEGF-A ve IGF-1 salınımının 10 dk uygulama süresine kadar arttığı 10 dk'dan sonra azaldığı izlenmiştir. Şelasyon ajanlarının 20 dk uygulama süresi 5 dk uygulama süresine göre TGF-β1 salınım düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırmıştır. Şelasyon ajanlarının 10 dk uygulama süresi 5 ve 20 dk uygulama sürelerine göre VEGF-A salınım düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırmıştır. Şelasyon ajanlarının farklı uygulama sürelerinde IGF-1 salınımında istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmamıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda; şelasyon ajanlarının artan uygulama sürelerinde kullanılmasıyla, dentinden salınan büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin doğru orantılı olarak arttığını [32, 44] ve salınım düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını [7, 194] gösteren çalışmalar bildirilmiştir.

Rejeneratif endodontide şelasyon ajanlarının dentine farklı sürelerde uygulanması ile ilgili literatürde birkaç çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada; dentin diskleri %10 ve %17 EDTA veya %10 SA solüsyonlarında 5, 10 ve 20 dk bekletilmiş, ardından bekletilen solüsyonlarda TGF-β1 seviyeleri değerlendirilmiştir [32]. Ayrıca farklı sürelerde %10 EDTA solüsyonu uygulanarak VEGF ve FGF-2 seviyeleri de araştırılmıştır. Artan uygulama sürelerinde VEGF salınım düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Araştırmacıların VEGF sonuçları bu çalışmanın sonuçları ile uyumludur. Ayrıca, tüm EDTA gruplarının diğer gruplardan tüm uygulama sürelerinde daha yüksek seviyelerde TGF-β1 salınımı gerçekleştirdiği ve bu değerlerin artan uygulama süreleriyle doğru orantılı olarak arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada ise, %17 EDTA solüsyonunun farklı sürelerde uygulanmasıyla elde edilen TGF-β1 salınım seviyelerindeki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Sonuçların farklılık göstermesinde, Galler ve arkadaşlarının dentin diskleri kullanması ve dentin disklerini 5, 10 ve 20 dk sürelerde beklettikleri solüsyonu alarak ardından bekletmeksizin ELISA'da değerlendirmeleri etkili olabilir. Bu çalışmada ise; irrigasyon solüsyonlarının uygulanmasını takiben kök segmentleri PBS'de inkübe edildikten 1 ve 7 gün sonra PBS örneklerinin toplanmasıyla ELISA'da değerlendirme yapılmıştır.

Yapılan bir çalışmada; dentin diskleri ilk aşamada PBS'de 10 dk ve %10 EDTA'da 1, 3 ve 10 dk bekletilmiş, ardından ikinci aşamada aynı işleme ilaveten PBS'de 1, 3 ve 5 dk ultrasonik aktivasyon uygulanarak TGF-β1 salınım düzeyleri araştırılmıştır [44].

TGF- $\beta$ 1 salınım düzeyleri; EDTA uygulanan tüm gruplarda sadece PBS uygulanan gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş olup, EDTA solüsyonunun uygulama süresi arttıkça doğru orantılı olarak TGF- $\beta$ 1 salınımlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir. Bu çalışmada ise; 5, 10 ve 20 dk EDTA uygulanan gruplarda uygulama süresinin artması 1. ve 7. günlerde TGF- $\beta$ 1, VEGF-A ve IGF-1 salınım düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır. İki çalışma arasındaki farklılık, araştırmacıların çalışmasında dentin disklerini 1, 3 ve 10 dk sürelerde beklettikleri solüsyonu alarak ardından bekletmeksizin ELISA’da değerlendirmelerinden kaynaklanıyor olabilir. Bu çalışmada ise; irrigasyon solüsyonlarının uygulanmasını takiben kök segmentleri PBS’de inkübe edildikten 1 ve 7 gün sonra PBS örneklerinin toplanmasıyla ELISA’da değerlendirme yapılmıştır.

Dentin disklerinde TGF- $\beta$ 1, BMP-2 ve VEGF salınım düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada; %10 EDTA uygulanan grupta sadece TGF- $\beta$ 1 salınımı gerçekleşmiştir [7]. Araştırmacıların çalışmasında, EDTA grubunda 5 ve 10 dk uygulama süreleri arasında TGF- $\beta$ 1 salınım düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış olup, bu çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Sadaghiani ve arkadaşlarının çalışmasında %10 EDTA uygulanan grupta 5 ve 10 dk uygulama sürelerinde VEGF salınımı gerçekleşmemişken, bu çalışmada tüm uygulama sürelerinde ve tüm irrigasyon solüsyonlarında VEGF-A salınımı izlenmiştir. Bu çelişki, araştırmacıların dentin diskleri kullanmasından kaynaklanıyor olabilir.

Örnek alma zamanı gözardı edildiğinde; EDTA ve HEBP grupları 10 dk uygulama süresinde TGF- $\beta$ 1 en yüksek miktarlarda salınım gerçekleştirmişken, BA grubunda 20 dk uygulama süresinde en yüksek miktarda TGF- $\beta$ 1 salınımı izlenmiştir. Tüm şelasyon ajanları 10 dk uygulama süresinde en yüksek miktarlarda VEGF-A ve IGF-1 salınımı gerçekleştirmiştir. EDTA ve HEBP’nin farklı uygulama sürelerinde kullanılması büyüme faktörlerinin hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Tüm irrigasyon solüsyonlarının farklı uygulama sürelerinde kullanılması IGF-1 salınım seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yaratmamıştır.

Bir çalışmada; 1, 5 ve 10 dk uygulanan %17 EDTA, %17 EDTA’ya %0,1 ve %0,008 benzalkonyum klorürün eklenmesiyle dentin disklerinden 3. gün elde edilen TGF- $\beta$ 1 salınım düzeyleri araştırılmış ve kontrol grubu olarak 10 dk distile su uygulanan dentin

diskleri kullanılmıştır [194]. Tüm EDTA solüsyonlarının artan uygulama sürelerinde TGF- $\beta$ 1 salınım düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Araştırmacıların bulguları bu çalışmanın farklı sürelerde uygulanan EDTA bulgularıyla uyumludur. Araştırmacıların çalışmasında kontrol grubu olarak distile su kullanılmış ve EDTA gruplarıyla arasında TGF- $\beta$ 1 salınım seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ancak, bu çalışmada tüm uygulama sürelerinde EDTA grubu NSS grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olmuştur. Bu farklılığın oluşmasında, araştırmacıların dentin diski kullanması ve distile su ile NSS'nin farklı karakteristik özellikte olması etkili olabilir.

EDTA solüsyonunun farklı sürelerde uygulanmasıyla IGF-1 değerlerini karşılaştırılabileceğimiz herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca, literatürde NSS ve HEBP solüsyonlarının farklı sürelerde uygulanmasıyla büyüme faktörlerinin salınım düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmaya da rastlanmamıştır. BA solüsyonunun uygulanmasıyla ilgili herhangi bir rejeneratif endodontik çalışma da mevcut değildir.

EDTA grubunda tüm uygulama sürelerinde TGF- $\beta$ 1, VEGF-A ve IGF-1'in 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlenmiştir. EDTA grubu uygulama sürelerine göre incelendiğinde; tüm gruplarda büyüme faktörlerinin hiçbirinde hem 1. gün hem de 7. gün salınım düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

HEBP grubunda, 5 dk uygulama süresinde IGF-1 salınım seviyeleri hariç, diğer tüm gruplarda tüm büyüme faktörlerinin 7. gün salınım seviyelerinin 1. gün salınım seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. HEBP grubu uygulama sürelerine göre incelendiğinde; TGF- $\beta$ 1 7. gün salınım düzeyleri hariç olmak üzere, büyüme faktörlerinin 1. ve 7. gün salınım düzeyleri uygulama sürelerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede etkilenmemiştir. TGF- $\beta$ 1'in 7. gün salınım düzeyleri karşılaştırıldığında ise; 10 dk uygulama süresi 5 dk uygulama süresine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımına neden olurken, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır.



BA grubunda; 20 dk uygulama süresi IGF-1 salınım seviyeleri hariç, diğer tüm gruplarda tüm büyüme faktörlerinin 7. gün salınımlarının 1. gün salınımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. BA grubu 20 dk uygulama süresinde en yüksek 1. ve 7. gün TGF- $\beta$ 1 salınımı gösterirken, 1. ve 7. gün sonuçlarında farklı uygulama sürelerinde BA kullanılması VEGF-A ve IGF-1 salınımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır.

Kök segmentlerine 5, 10 ve 20 dk uygulama sürelerinde NSS uygulaması TGF- $\beta$ 1 salınımını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde etkilemezken, 10 ve 5 dk NSS uygulaması sırasıyla en yüksek VEGF-A ve IGF-1 salınımına neden olmuştur.

Örnek alma zamanı ve uygulama süreleri gözardı edildiğinde, 3 büyüme faktörü salınımı aynı anda değerlendirildiğinde, çalışmada kullanılan solüsyonlar arasından EDTA'nın tercih edilebileceği düşünülmektedir. Örnek alma zamanları gözardı edildiğinde ise; EDTA ve HEBP gruplarında farklı uygulama sürelerinin tüm büyüme faktörlerinin salınımında istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı gözlenirse de, her iki şelasyon ajanının 10 dk uygulanması tüm büyüme faktörlerinin en yüksek miktarda salınımına neden olmuştur. Bundan dolayı EDTA ve HEBP'nin 10 dk uygulanması tercih edilebilir. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasada tüm şelasyon ajanlarının 10 dk uygulanması en yüksek miktarlarda VEGF-A ve IGF-1 salınımı sağlamıştır. BA'nın 20 dk uygulanması ise en yüksek TGF- $\beta$ 1 salınımı göstermiştir. Ayrıca, IGF-1 salınımında, BA'nın EDTA kadar etkili olduğu söylenebilir.

Büyüme faktörleri dentin içinde gömülü olarak bulunur ve şelasyon ajanlarının uygulanmasıyla dentinden salınırlar. Bu şelatörlerin özellikleri, rejenerasyon için çok önemli olan büyüme faktörlerinin salınımını doğrudan etkiler [32]. Rejeneratif endodontik tedavilerin başarısında; yüksek seviyede kanal dezenfeksiyonu sağlarken, periapikal dokular ve kök kanal dentininin biyolojik bütünlüğünü minimum düzeyde etkileyen, aynı zamanda mümkün olan en yüksek düzeyde büyüme faktörü salınımı gerçekleştiren bir şelasyon ajanı kritik rol oynamaktadır. EDTA'nın dentinden büyüme faktörlerini ortaya çıkarmada etkili bir şelatör olduğu çalışmalarda bildirilmiştir [32, 194, 227]. Başka bir çalışmada, dentinden TGF- $\beta$  salınımında HEBP'nin EDTA kadar etkili olduğu gösterilmiştir [37].

Yapılan çalışmalarda, şelasyon ajanlarının farklı uygulama sürelerinde kullanılmasının dentinden büyüme faktörlerinin salınımında kritik olduğu [32] ve şelatörlerin uzun süre kullanılmasının dentindeki kollajeni olumsuz etkilemeksizin sadece yapısal değişiklere sebep olduğu bildirilmiştir [309]. Bu çalışmanın sonuçları dikkate alındığında; kök dentininden büyüme faktörlerinin salınımında HEBP ve EDTA'nın 10 dk uygulama süresinde kullanılması önerilebilir.



## 5. SONUÇ

Bu *in vitro* çalışmanın sınırları içerisinde;

1. ELISA'nın kök dentin matriksinden salınan TGF- $\beta$ 1, VEGF-A ve IGF-1 seviyelerini tespit etmek için etkili bir yöntem olduğu,
2. Tüm irrigasyon solüsyonlarının büyüme faktörlerinin salınım seviyelerini zamana bağlı olarak belirgin düzeyde arttırdığı,
3. Tüm büyüme faktörlerinin salınımında EDTA'nın NSS'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha etkili olduğu,
4. EDTA ve HEBP'nin 10 dk uygulanmasının tüm büyüme faktörlerinde en yüksek miktarda salınımına neden olduğu,
5. Tüm irrigasyon solüsyonlarının farklı uygulama sürelerinde kullanılmasının IGF-1 salınım seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı,
6. EDTA grubu kendi içerisinde değerlendirildiğinde, EDTA'nın farklı uygulama sürelerinde kullanılması büyüme faktörlerinin hiçbirinde salınım seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değiştirmediği ve
7. Şelasyon ajanlarının farklı uygulama sürelerinde, dentinden büyüme faktörlerinin salınım seviyelerine etkilerinin araştırıldığı daha kapsamlı başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Atala, A., *Tissue engineering, stem cells, and cloning: applications in urology; Part 1 of 2.(Technology)*. Contemp Urol, 2002. **14**(10): p. 40-51.
2. Murray, P.E., F. Garcia-Godoy, and K.M. Hargreaves, *Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action*. J Endod, 2007. **33**(4): p. 377-90.
3. Nakashima, M. and A. Akamine, *The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics*. J Endod, 2005. **31**(10): p. 711-8.
4. Hargreaves, K.M., A. Diogenes, and F.B. Teixeira, *Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures*. Pediatr Dent, 2013. **35**(2): p. 129-40.
5. Chrepa, V., O. Austah, and A. Diogenes, *Evaluation of a commercially available hyaluronic acid hydrogel (Restylane) as injectable scaffold for dental pulp regeneration: an in vitro evaluation*. J Endod, 2017. **43**(2): p. 257-62.
6. Lovelace, T.W., et al., *Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure*. J Endod, 2011. **37**(2): p. 133-8.
7. Sadaghiani, L., et al., *Growth Factor Liberation and DPSC Response Following Dentine Conditioning*. J Dent Res, 2016. **95**(11): p. 1298-307.
8. Salehi, S., et al., *Dentin matrix components extracted with phosphoric acid enhance cell proliferation and mineralization*. Dent Mater, 2016. **32**(3): p. 334-42.
9. Zeng, Q., et al., *Release of growth factors into root canal by irrigations in regenerative endodontics*. J Endod, 2016. **42**(12): p. 1760-6.
10. Smith, A., et al., *Dentine as a bioactive extracellular matrix*. Arch Oral Biol, 2012. **57**(2): p. 109-21.
11. Finkelman, R.D., et al., *Quantitation of growth factors IGF-I, SGF/IGF-II, and TGF- $\beta$  in human dentin*. J Bone Miner Res, 1990. **5**(7): p. 717-23.
12. Roberts-Clark, D.J. and A.J. Smith, *Angiogenic growth factors in human dentine matrix*. Arch Oral Biol, 2000. **45**(11): p. 1013-6.
13. Galler, K.M., et al., *Dentine conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics*. J Endod, 2011. **37**(11): p. 1536-41.
14. Peters, O.A., et al., *Effects of two calcium silicate cements on cell viability, angiogenic growth factor release and related gene expression in stem cells from the apical papilla*. Int Endod J, 2016. **49**(12): p. 1132-40.
15. Melin, M., et al., *Effects of TGF $\beta$  1 on dental pulp cells in cultured human tooth slices*. J Dent Res, 2000. **79**(9): p. 1689-96.

16. He, H., et al., *Effects of FGF2 and TGF $\beta$ 1 on the differentiation of human dental pulp stem cells in vitro*. Cell Biol Int, 2008. **32**(7): p. 827-34.
17. Farges, J.-C., et al., *TGF- $\beta$ 1 induces accumulation of dendritic cells in the odontoblast layer*. J Dent Res, 2003. **82**(8): p. 652-6.
18. Joseph, B.K., et al., *Expression and regulation of insulin-like growth factor-I in the rat incisor*. Growth Factors, 1993. **8**(4): p. 267-75.
19. Caviedes-Bucheli, J., et al., *Variation in the expression of insulin-like growth factor-I in human pulp tissue according to the root-development stage*. J Endod, 2007. **33**(11): p. 1293-5.
20. Nör, J.E., et al., *Vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis is associated with enhanced endothelial cell survival and induction of Bcl-2 expression*. Am J Pathol, 1999. **154**(2): p. 375-84.
21. Ferrara, N., *Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress*. Endocr Rev, 2004. **25**(4): p. 581-611.
22. I, D.A., et al., *Vascular endothelial growth factor enhances in vitro proliferation and osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells*. J Biol Regul Homeost Agents, 2011. **25**(1): p. 57-69.
23. Trevino, E.G., et al., *Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips*. J Endod, 2011. **37**(8): p. 1109-15.
24. Haapasalo, M., et al., *Irrigation in endodontics*. Br Dent J, 2014. **216**(6): p. 299-303.
25. Shuping, G.B., et al., *Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications*. J Endod, 2000. **26**(12): p. 751-5.
26. Ordinola-Zapata, R., et al., *Antimicrobial effect of endodontic solutions used as final irrigants on a dentine biofilm model*. Int Endod J, 2012. **45**(2): p. 162-8.
27. Goldman, M., et al., *New method of irrigation during endodontic treatment*. J Endod, 1976. **2**(9): p. 257-60.
28. Verdelis, K., et al., *Effect of chelating agents on the molecular composition and extent of decalcification at cervical, middle and apical root dentin locations*. Dent Traumatol, 1999. **15**(4): p. 164-70.
29. Heino, J. and J. Kapyla, *Cellular receptors of extracellular matrix molecules*. Curr Pharm Des, 2009. **15**(12): p. 1309-17.
30. Martin, D.E., et al., *Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation*. J Endod, 2014. **40**(1): p. 51-5.
31. Hashimoto, K., et al., *EDTA treatment for sodium hypochlorite-treated dentin recovers disturbed attachment and induces differentiation of mouse dental papilla cells*. J Endod, 2018. **44**(2): p. 256-262.
32. Galler, K.M., et al., *Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin*. J Endod, 2015. **41**(3): p. 363-8.

33. Dunn, C.J., A. Fitton, and E.M. Sorkin, *Etidronic acid*. *Drugs Aging*, 1994. **5**(6): p. 446-74.
34. Girard, S., et al., *Assessment of a gel-type chelating preparation containing 1-hydroxyethylidene-1, 1-bisphosphonate*. *Int Endod J*, 2005. **38**(11): p. 810-6.
35. Zehnder, M., et al., *Chelation in root canal therapy reconsidered*. *J Endod*, 2005. **31**(11): p. 817-20.
36. Christensen, C.E., S.F. McNeal, and P. Eleazer, *Effect of lowering the pH of sodium hypochlorite on dissolving tissue in vitro*. *J Endod*, 2008. **34**(4): p. 449-52.
37. Deniz Sungur, D., et al., *Effect of dentine conditioning with phytic acid or etidronic acid on growth factor release, dental pulp stem cell migration and viability*. *Int Endod J*, 2019. **52**(6): p. 838-46.
38. Prutting, S.M. and J.D. Cervený, *Boric acid vaginal suppositories: a brief review*. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 1998. **6**(4): p. 191-4.
39. Henderson, K., et al., *Receptor activated Ca<sup>2+</sup> release is inhibited by boric acid in prostate cancer cells*. *PloS One*, 2009. **4**(6): p. e6009.
40. Xu, S., et al., *Efficacy and safety of terbinafine hydrochloride spray and 3% boric acid alcohol ear drops in otomycosis*. *Acta Otolaryngol*, 2020. **140**(4): p. 302-6.
41. Sağlam, M., et al., *Boric acid irrigation as an adjunct to mechanical periodontal therapy in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial*. *J Periodontol*, 2013. **84**(9): p. 1297-308.
42. Turk, T., M.E. Kaval, and B.H. Sen, *Evaluation of the smear layer removal and erosive capacity of EDTA, boric acid, citric acid and desy clean solutions: an in vitro study*. *BMC Oral Health*, 2015. **15**(1): p. 104.
43. Recai, Z., et al., *Antibacterial effect of different concentration of boric acid against enterococcus faecalis biofilms in root canal*. *Marmara Dent J*, 2013. **1**(2): p. 76-80.
44. Widbiller, M., et al., *Ultrasonic activation of irrigants increases growth factor release from human dentine*. *Clin Oral Investig*, 2017. **21**(3): p. 879-88.
45. Gutmann, J.L.I.s.e.t.e.P.B.D.I., *History of endodontics*. 2008: p. 36-85.
46. Schwartz-Arad, D., R. Herzberg, and L. Levin, *Evaluation of long-term implant success*. *J Periodontol*, 2005. **76**(10): p. 1623-8.
47. Schmalz, G. and A.J. Smith, *Pulp development, repair, and regeneration: challenges of the transition from traditional dentistry to biologically based therapies*. *J Endod*, 2014. **40**(4 Suppl): p. S2-5.
48. Thesleff, I. and P. Sharpe, *Signalling networks regulating dental development*. *Mech Dev*, 1997. **67**(2): p. 111-23.
49. Dean, J.A., *McDonald and Avery's Dentistry for the Child and Adolescent-E-book*. 2015, Elsevier Health Sciences.
50. Ten Cate, A.R., *The role of epithelium in the development, structure and function of the tissues of tooth support*. *Oral Dis*, 1996. **2**(1): p. 55-62.

51. Thesleff, I. and T. Åberg. *Tooth morphogenesis and the differentiation of ameloblasts*. in *Ciba Foundation Symposium*. 1997. Wiley Online Library.
52. Li, J., C. Parada, and Y. Chai, *Cellular and molecular mechanisms of tooth root development*. *Development*, 2017. **144**(3): p. 374-84.
53. Nolla, C.M., *The development of permanent teeth*. 1952, University of Michigan.
54. Sicher, H., *Bhaskar SN Orban's oral histology and embryology*. 1972, Saint Louis: Mosby Company.
55. Manogue, M., S. Patel, and R.T. Walker, *The principles of endodontics*. 2005: Oxford University Press, USA.
56. Simon, S., et al., *The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study*. *Int Endod J*, 2007. **40**(3): p. 186-97.
57. Aşçı, S.K.Q.y., *Endodonti*. 2014: p. 13-15.
58. Rafter, M., *Apexification: a review*. *Dent Traumatol*, 2005. **21**(1): p. 1-8.
59. D'Arcangelo, C. and M. D'Amario, *Use of MTA for orthograde obturation of nonvital teeth with open apices: report of two cases*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2007. **104**(4): p. e98-e101.
60. Nagaveni, N., et al., *Successful closure of the root apex in non-vital permanent incisors with wide open apices using single calcium hydroxide (caoh) dressing: report of 2 cases*. *J Clin Exp Dent* 2010. **2**(1): p. e26-9.
61. Kidd, E.A., *Pickard's manual of operative dentistry*. 2003: Oxford; New York: Oxford University Press.
62. Theilade, E., *The microbiology of the necrotic pulp*. *Textbook of endodontology*. 2003, Blackwell Munksgaard, Oxford, United Kingdom. 111-29.
63. Andreasen, J., F. Andreasen, and L. Andersson, *Orthodontic management of the traumatized dentition, Prognosis. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth 4thedn*. 2007, Blackwell Munksgaard: Blackwell.
64. Regan, J. and G. JL, *Harty's endodontics in clinical practice*. 2004, Edinburgh: Elsevier Science.
65. Torneck, C.D., *Effects and clinical significance of trauma to the developing permanent dentition*. *Dent Clin North Am*, 1982. **26**(3): p. 481-504.
66. Shabahang, S., *Treatment options: apexogenesis and apexification*. *Pediatr Dent*, 2013. **35**(2): p. 125-8.
67. Mendoza, A.M., E.S. Reina, and F. Garcia-Godoy, *Evolution of apical formation on immature necrotic permanent teeth*. *Am J Dent*, 2010. **23**(5): p. 269-74.
68. Waterhouse, P.J., et al., eds. *Pediatric endodontics: endodontic treatment for the primary and young permanent dentition*. *Pathways of the pulp*. . Vol. 10th ed. 2011, Mosby Elsevier: St Louis 808-57.
69. Diogenes, A., et al., *An update on clinical regenerative endodontics*. *Endod Topics*, 2013. **28**(1): p. 2-23.
70. De Sousa, S. and C. Bramante, *Dens invaginatus: treatment choices*. *Dent Traumatol*, 1998. **14**(4): p. 152-8.

71. Cameron, A.C. and R.P. Widmer, *Handbook of Pediatric Dentistry E-Book*. 3 ed. 2013: Elsevier Health Sciences. 9-37.
72. Neville, B.W., et al., *Oral and maxillofacial pathology*. 2015: Elsevier Health Sciences.
73. Tuğba, N., L. DEMİRİZ, and E.H. BODRUMLU, *Travmaya Uğramış İmmatür Maksiler Daimi Ön Kesici Dişin Pulpa Revaskülarizasyonu: Bir Olgu Raporu*. Uluslararası Diş Hekimliği Bilimleri Dergisi, 2016(1): p. 60-4.
74. Wigler, R., et al., *Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development*. J Endod, 2013. **39**(3): p. 319-26.
75. Cohen, S. and R.L.C. Burns, *Pathways of the pulp 9th ed St. Vol.* 64146. 2006: Mosby Co St Louis Misso.
76. Flanagan, T.A., *What can cause the pulps of immature, permanent teeth with open apices to become necrotic and what treatment options are available for these teeth*. Aust Endod J, 2014. **40**(3): p. 95-100.
77. Fuks, A.B., *Pulp therapy for the primary and young permanent dentitions*. Dent Clin N Am, 2000. **44**(3): p. 571-96, vii.
78. Frank, A.L., *Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation*. J Am Dent Assoc, 1966. **72**(1): p. 87-93.
79. Huang, G.J., *Apexification: the beginning of its end*. Int Endod J, 2009. **42**(10): p. 855-66.
80. Trope, M., *Treatment of the immature tooth with a non-vital pulp and apical periodontitis*. Dent Clin N Am, 2010. **54**(2): p. 313-24.
81. Farhad, A. and Z. Mohammadi, *Calcium hydroxide: a review*. Int Dent J, 2005. **55**(5): p. 293-301.
82. Mohammadi, Z. and P.M. Dummer, *Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology*. Int Endod J, 2011. **44**(8): p. 697-730.
83. Dylewski, J.J.O.S., Oral Medicine, Oral Pathology, *Apical closure of nonvital teeth*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1971. **32**(1): p. 82-9.
84. Cvek, M., *Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study*. Endod Dent Traumatol, 1992. **8**(2): p. 45-55.
85. Aggarwal, V., S. Miglani, and M. Singla, *Conventional apexification and revascularization induced maturogenesis of two non-vital, immature teeth in same patient: 24 months follow up of a case*. J Conserv Dent, 2012. **15**(1): p. 68-72.
86. Kleier, D.J. and E.S. Barr, *A study of endodontically apexified teeth*. Endod Dent Traumatol, 1991. **7**(3): p. 112-7.
87. Andreasen, J.O., B. Farik, and E.C. Munksgaard, *Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture*. Dent Traumatol, 2002. **18**(3): p. 134-137.
88. Rosenberg, B., P.E. Murray, and K. Namerow, *The effect of calcium hydroxide root filling on dentin fracture strength*. Dent Traumatol, 2007. **23**(1): p. 26-9.



89. Mohammadi, Z., *Strategies to manage permanent non-vital teeth with open apices: a clinical update*. Int Dent J, 2011. **61**(1): p. 25-30.
90. McTigue, D.J., K. Subramanian, and A. Kumar, *Case series: management of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series*. Pediatr Dent, 2013. **35**(1): p. 55-60.
91. Morse, D.R., J. O'Larnic, and C. Yesilsoy, *Apexification: review of the literature*. Quintessence Int, 1990. **21**(7): p. 589-98.
92. White, J.D., et al., *The effect of three commonly used endodontic materials on the strength and hardness of root dentin*. J Endod, 2002. **28**(12): p. 828-30.
93. El Meligy, O.A. and D.R. Avery, *Comparison of apexification with mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide*. Pediatr Dent, 2006. **28**(3): p. 248-53.
94. Tunç, E.Ş. and S. Çetiner, *Mİneral trioxide aggregate: Lİteratür derlemesi*. J Dent Fac Atatürk Uni, 2006. **2006**(1): p. 46-53.
95. Hargreaves, K.M., et al., *Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold?* Pediatr Dent, 2008. **30**(3): p. 253-60.
96. Huang, G.T.-J. and L.M. Lin, *Letter to the editor: Comments on the use of the term "revascularization" to describe*. J Endod, 2008. **34**(5): p. 511.
97. Hermann, B., *On the reaction of the dental pulp to vital amputation and calxyl capping*. Dtsch zahnärztl Z, 1952. **7**(24): p. 1446-7.
98. Ostby, B.N., *The role of the blood clot in endodontic therapy an experimental histologic study*. Acta Odontol Scand, 1961. **19**(3-4): p. 323-53.
99. Rule, D.C. and G.B. Winter, *Root growth and apical repair subsequent to pulpal necrosis in children*. Br Dent J, 1966. **120**(12): p. 586-90.
100. Ostby, B.N. and O. Hjortdal, *Tissue formation in the root canal following pulp removal*. Eur J Oral Sci, 1971. **79**(3): p. 333-49.
101. Iwaya, S.I., M. Ikawa, and M. Kubota, *Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract*. Dent Traumatol, 2001. **17**(4): p. 185-7.
102. Banchs, F. and M. Trope, *Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol?* J Endod, 2004. **30**(4): p. 196-200.
103. Jeeruphan, T., et al., *Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study*. J Endod, 2012. **38**(10): p. 1330-6.
104. Na, S., et al., *Regeneration of dental pulp/dentine complex with a three-dimensional and scaffold-free stem-cell sheet-derived pellet*. J Tissue Eng Regen Med, 2016. **10**(3): p. 261-70.
105. Eleazer, P., et al., eds. *Glossary of endodontic terms*. 2012, Editorial AAE: Chicago.
106. Weissman, I.L., D.J. Anderson, and F. Gage, *Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations*. Annu Rev Cell Dev Biol, 2001. **17**(1): p. 387-403.

107. Rao, M.S., *Stem sense: a proposal for the classification of stem cells*. Stem Cells Dev, 2004. **13**(5): p. 452-5.
108. Smith, A.G., *Embryo-derived stem cells: of mice and men*. Annu Rev Cell Dev Biol, 2001. **17**(1): p. 435-62.
109. Şahin, F., G. Saydam, and S.B. Omay, *Stem Cell Plasticity and Stem Cell Treatment in Clinical Practice*. Int J Hematol Oncol, 2005. **29**(4): p. 048-056.
110. Sonoyama, W., et al., *Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study*. J Endod, 2008. **34**(2): p. 166-71.
111. Verfaillie, C.M., M.F. Pera, and P.M. Lansdorp, *Stem cells: hype and reality*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2002. **2002**(1): p. 369-91.
112. Alison, M.R., *An introduction to stem and progenitor cell biology*. Stem Cell Repair Regeneration, 2005: p. 1-23.
113. Gardner, R., *Stem cells: potency, plasticity and public perception*. J Anat, 2002. **200**(3): p. 277-82.
114. Weissman, I.L., *Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution*. Cell, 2000. **100**(1): p. 157-68.
115. Hentze, H., et al., *Teratoma formation by human embryonic stem cells: evaluation of essential parameters for future safety studies*. Stem Cell Res, 2009. **2**(3): p. 198-210.
116. Volponi, A.A., Y. Pang, and P.T. Sharpe, *Stem cell-based biological tooth repair and regeneration*. Trends Cell Biol, 2010. **20**(12): p. 715-22.
117. Morsczeck, C., et al., *Somatic stem cells for regenerative dentistry*. Clin Oral Investig, 2008. **12**(2): p. 113-8.
118. Gronthos, S., et al., *Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo*. Proc Natl Acad Sci U.S.A, 2000. **97**(25): p. 13625-30.
119. Seo, B.M., et al., *Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament*. Lancet, 2004. **364**(9429): p. 149-55.
120. Miura, M., et al., *SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(10): p. 5807-12.
121. Morsczeck, C., et al., *Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth*. Matrix Biol, 2005. **24**(2): p. 155-65.
122. Egusa, H., et al., *Stem cells in dentistry—part I: stem cell sources*. J Prosthodont Res, 2012. **56**(3): p. 151-65.
123. Cordeiro, M.M., et al., *Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth*. J Endod, 2008. **34**(8): p. 962-9.
124. Casagrande, L., et al., *Dentin-derived BMP-2 and odontoblast differentiation*. J Dent Res, 2010. **89**(6): p. 603-8.
125. Gronthos, S., et al., *Stem cell properties of human dental pulp stem cells*. J Dent Res, 2002. **81**(8): p. 531-5.
126. Jiang, X., et al., *Fate of the mammalian cardiac neural crest*. Development, 2000. **127**(8): p. 1607-16.

127. Huang, G.T.-J., et al., *The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering*. J Endod, 2008. **34**(6): p. 645-51.
128. Xu, L., et al., *The apical region of developing tooth root constitutes a complex and maintains the ability to generate root and periodontium-like tissues*. J Periodontal Res, 2009. **44**(2): p. 275-82.
129. Kikuchi, H., et al., *Odontoblasts induced from mesenchymal cells of murine dental papillae in three-dimensional cell culture*. Cell Tissue Res, 2004. **317**(2): p. 173-85.
130. Ikeda, E., et al., *Osteogenic differentiation of human dental papilla mesenchymal cells*. Biochem Biophys Res Commun, 2006. **342**(4): p. 1257-62.
131. Seo, B.M., et al., *Recovery of stem cells from cryopreserved periodontal ligament*. J Dent Res, 2005. **84**(10): p. 907-12.
132. Martin, G., et al., *Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma*. J Endod, 2013. **39**(1): p. 138-44.
133. Raddall, G., I. Mello, and B.M. Leung, *Biomaterials and Scaffold Design Strategies for Regenerative Endodontic Therapy*. Front Bioeng Biotechnol, 2019. **7**: p. 317.
134. Albuquerque, M.T., et al., *Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics*. J Dent Res, 2014. **93**(12): p. 1222-31.
135. O'Brien, F.J., *Biomaterials & scaffolds Every day thousands of surgical procedures are performed to replace*. Mater Today, 2011. **14**(3): p. 88-95.
136. Zein, N., et al., *Polymer-Based Instructive Scaffolds for Endodontic Regeneration*. Materials (Basel), 2019. **12**(15): p. 2347.
137. Chang, B., et al., *Injectable scaffolds: Preparation and application in dental and craniofacial regeneration*. Mater Sci Eng R Rep, 2017. **111**: p. 1-26.
138. Moussa, D.G. and C. Aparicio, *Present and future of tissue engineering scaffolds for dentin-pulp complex regeneration*. J Tissue Eng Regen Med, 2019. **13**(1): p. 58-75.
139. Scheller, E.L., P.H. Krebsbach, and D.H. Kohn, *Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation*. J Oral Rehabil, 2009. **36**(5): p. 368-89.
140. Hargreaves KM, L.A., *Regenerative endodontics*. Vol. 10. edition. 2011: Pathways of the Pulp. 602-619.
141. Jadhav, G., N. Shah, and A. Logani, *Revascularization with and without platelet-rich plasma in nonvital, immature, anterior teeth: a pilot clinical study*. J Endod, 2012. **38**(12): p. 1581-7.
142. Dianat, O., et al., *Endodontic repair in immature dogs' teeth with apical periodontitis: blood clot vs plasma rich in growth factors scaffold*. Dent Traumatol, 2017. **33**(2): p. 84-90.
143. Ding, R.Y., et al., *Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study*. J Endod, 2009. **35**(5): p. 745-9.

144. Torabinejad, M. and M. Turman, *Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: a case report*. J Endod, 2011. **37**(2): p. 265-8.
145. Bezgin, T., et al., *Efficacy of platelet-rich plasma as a scaffold in regenerative endodontic treatment*. J Endod, 2015. **41**(1): p. 36-44.
146. Ulusoy, A.T., et al., *Evaluation of blood clot, platelet-rich plasma, platelet-rich fibrin, and platelet pellet as scaffolds in regenerative endodontic treatment: a prospective randomized trial*. J Endod, 2019. **45**(5): p. 560-6.
147. Ghanaati, S., et al., *Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells*. Oral Implantol, 2014. **40**(6): p. 679-89.
148. Hartshorne, J. and H. Gluckman, *A comprehensive clinical review of Platelet Rich Fibrin (PRF) and its role in promoting tissue healing and regeneration in dentistry*. Int Dentistry Afr Ed, 2016. **6**(5): p. 14-24.
149. Bakhtiar, H., et al., *Second-generation platelet concentrate (platelet-rich fibrin) as a scaffold in regenerative endodontics: a case series*. J Endod, 2017. **43**(3): p. 401-408.
150. Um, I.W., Y.K. Kim, and M. Mitsugi, *Demineralized dentin matrix scaffolds for alveolar bone engineering*. J Indian Prosthodont Soc, 2017. **17**(2): p. 120-7.
151. Yeomans, J. and M. Urist, *Bone induction by decalcified dentine implanted into oral, osseous and muscle tissues*. Arch Oral Biol, 1967. **12**(8): p. 999-IN16.
152. Bang, G. and M.R. Urist, *Bone induction in excavation chambers in matrix of decalcified dentin*. Arch Surg, 1967. **94**(6): p. 781-9.
153. Urist, M.R., et al., *Inductive substrates for bone formation*. Clin Orthop Relat Res, 1968. **59**: p. 59-96.
154. Bessho, K., et al., *Human dentin-matrix-derived bone morphogenetic protein*. J Dent Res, 1991. **70**(3): p. 171-5.
155. Zhang, L., et al., *Review scaffold design and stem cells for tooth regeneration*. Jpn Dent Sci Rev, 2013. **49**(1): p. 14-26.
156. Gong, T., et al., *Current advance and future prospects of tissue engineering approach to dentin/pulp regenerative therapy*. Stem Cells Int, 2016. **2016**.
157. Sumita, Y., et al., *Performance of collagen sponge as a 3-D scaffold for tooth-tissue engineering*. Biomaterials, 2006. **27**(17): p. 3238-48.
158. Kim, N.R., et al., *Distinct differentiation properties of human dental pulp cells on collagen, gelatin, and chitosan scaffolds*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009. **108**(5): p. e94-100.
159. Feng, X., et al., *3D porous chitosan scaffolds suit survival and neural differentiation of dental pulp stem cells*. Cell Mol Neurobiol, 2014. **34**(6): p. 859-70.
160. Souto, G.D., et al., *Evaluation of cytotoxicity profile and intracellular localisation of doxorubicin-loaded chitosan nanoparticles*. Anal Bioanal Chem, 2016. **408**(20): p. 5443-55.

161. Jia, X., et al., *Hyaluronic acid-based microgels and microgel networks for vocal fold regeneration*. *Biomacromolecules*, 2006. **7**(12): p. 3336-44.
162. Inuyama, Y., et al., *Effects of hyaluronic acid sponge as a scaffold on odontoblastic cell line and amputated dental pulp*. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010. **92**(1): p. 120-8.
163. Ouasti, S., et al., *Network connectivity, mechanical properties and cell adhesion for hyaluronic acid/PEG hydrogels*. *Biomaterials*, 2011. **32**(27): p. 6456-70.
164. Nör, J.E., et al., *Engineering and characterization of functional human microvessels in immunodeficient mice*. *Lab Invest*, 2001. **81**(4): p. 453-63.
165. Bohl, K.S., et al., *Role of synthetic extracellular matrix in development of engineered dental pulp*. *J Biomater Sci Polym Ed*, 1998. **9**(7): p. 749-64.
166. Tonomura, A., et al., *Differential effect of scaffold shape on dentin regeneration*. *Ann Biomed Eng*, 2010. **38**(4): p. 1664-71.
167. Ulery, B.D., L.S. Nair, and C.T. Laurencin, *Biomedical Applications of Biodegradable Polymers*. *J Polym Sci B Polym Phys*, 2011. **49**(12): p. 832-64.
168. Cao, W. and L.L. Hench, *Bioactive materials*. *Ceram Int*, 1996. **22**(6): p. 493-507.
169. Jones, J.R., *Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids*. *Acta Biomater*, 2015. **23 Suppl**: p. S53-82.
170. Yuan, Z., et al., *Biomaterial selection for tooth regeneration*. *Tissue Eng Part B Rev*, 2011. **17**(5): p. 373-88.
171. Stevens, M.M., et al., *In vivo engineering of organs: the bone bioreactor*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005. **102**(32): p. 11450-5.
172. Thesleff, I., A. Vaahtokari, and A.M. Partanen, *Regulation of organogenesis. Common molecular mechanisms regulating the development of teeth and other organs*. *Int J Dev Biol*, 1995. **39**(1): p. 35-50.
173. Jernvall, J. and I. Thesleff, *Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis*. *Mech Dev*, 2000. **92**(1): p. 19-29.
174. Thesleff, I., *Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis*. *J Cell Sci*, 2003. **116**(Pt 9): p. 1647-8.
175. Ferracane, J.L., P.R. Cooper, and A.J. Smith, *Can interaction of materials with the dentin-pulp complex contribute to dentin regeneration?* *Odontology*, 2010. **98**(1): p. 2-14.
176. Goldberg, M., et al., *The impact of bioactive molecules to stimulate tooth repair and regeneration as part of restorative dentistry*. *Dent Clin N Am*, 2006. **50**(2): p. 277-98.
177. Barrientos, S., et al., *Growth factors and cytokines in wound healing*. *Wound Repair Regen*, 2008. **16**(5): p. 585-601.
178. Pardali, E. and P. Ten Dijke, *TGF $\beta$  signaling and cardiovascular diseases*. *Int J Biol Sci*, 2012. **8**(2): p. 195.
179. Wahl, S.M., *Transforming growth factor beta (TGF-beta) in inflammation: a cause and a cure*. *J Clin Immunol*, 1992. **12**(2): p. 61-74.

180. Javelaud, D. and A. Mauviel, *Mammalian transforming growth factor- $\beta$ s: Smad signaling and physio-pathological roles*. Int J Biochem, 2004. **36**(7): p. 1161-5.
181. Gold, L.I., et al., *Type I (RI) and type II (RII) receptors for transforming growth factor-beta isoforms are expressed subsequent to transforming growth factor-beta ligands during excisional wound repair*. Am J Pathol, 1997. **150**(1): p. 209.
182. Lan, H.Y. and A.C.K. Chung, *Transforming growth factor-beta and Smads*. Contrib Nephrol, 2011. **170**: p. 75-82.
183. Nakashima, M., et al., *Regulatory role of transforming growth factor-beta, bone morphogenetic protein-2, and protein-4 on gene expression of extracellular matrix proteins and differentiation of dental pulp cells*. Dev Biol, 1994. **162**(1): p. 18-28.
184. Brennan, F.M., et al., *Detection of transforming growth factor-beta in rheumatoid arthritis synovial tissue: lack of effect on spontaneous cytokine production in joint cell cultures*. Clin Exp Immunol, 1990. **81**(2): p. 278-85.
185. Bepue-Kirn, C., *Comparative analysis of TGF- $\beta$ s, BMPs, IGF, msxs, fibronectin, osteonectin and bone sialoprotein gene expression during normal and in vitro-induced odontoblast differentiation*. Int J Dev Biol, 1994. **38**: p. 405-20.
186. Cassidy, N., et al., *Comparative analysis of transforming growth factor- $\beta$  isoforms 1–3 in human and rabbit dentine matrices*. Arch Oral Biol, 1997. **42**(3): p. 219-23.
187. Chang, H.-H., et al., *Role of ALK5/Smad2/3 and MEK1/ERK signaling in transforming growth factor beta 1–modulated growth, collagen turnover, and differentiation of stem cells from apical papilla of human tooth*. J Endod, 2015. **41**(8): p. 1272-1280.
188. Unterbrink, A., et al., *TGF $\beta$ -1 downregulates DMP-1 and DSPP in odontoblasts*. Connect Tissue Res, 2002. **43**(2-3): p. 354-8.
189. Li, Y., et al., *Odontoblast-like cell differentiation and dentin formation induced with TGF- $\beta$ 1*. Archives of oral biology, 2011. **56**(11): p. 1221-9.
190. Horibe, K., M. Hara, and H. Nakamura, *M2-like macrophage infiltration and transforming growth factor- $\beta$  secretion during socket healing process in mice*. Arch Oral Biol, 2021. **123**: p. 105042.
191. Koba, T., et al., *The Effect of Transforming Growth Factor Beta 1 on the Mineralization of Human Cementoblasts*. J Endod, 2021. **47**(4): p. 606-11.
192. Chae, Y., M. Yang, and J. Kim, *Release of TGF- $\beta$ 1 into root canals with various final irrigants in regenerative endodontics: an in vitro analysis*. Int Endod J, 2018. **51**(12): p. 1389-1397.
193. Ferreira, L.N., R.M. Puppim-Rontani, and F.M. Pascon, *Effect of Intracanal Medicaments and Irrigants on the Release of Transforming Growth Factor Beta 1 and Vascular Endothelial Growth Factor from Cervical Root Dentin*. J Endod, 2020. **46**(11): p. 1616-22.
194. Eren, S.K., et al., *Effect of benzalkonium chloride addition to EDTA on attachment and proliferation of dental pulp stem cells on dentin and on transforming growth factor- $\beta$ 1 release*. Odontology, 2021. **109**(2): p. 313-20.

195. Cameron, R., et al., *Effect of a residual biofilm on release of transforming growth factor  $\beta$ 1 from dentin*. J Endod, 2019. **45**(9): p. 1119-1125.
196. Ferrara, N. and W.J. Henzel, *Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells*. Biochem Biophys Res Commun, 1989. **161**(2): p. 851-8.
197. Senger, D.R., et al., *Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid*. Science, 1983. **219**(4587): p. 983-5.
198. Hood, J.D., et al., *VEGF upregulates ecNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 1998. **274**(3): p. H1054-H1058.
199. Artese, L., et al., *Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in healthy and inflamed human dental pulps*. J Endod, 2002. **28**(1): p. 20-3.
200. Virtej, A., et al., *Vascular endothelial growth factors signalling in normal human dental pulp: a study of gene and protein expression*. Eur J Oral Sci, 2013. **121**(2): p. 92-100.
201. Matsushita, K., et al., *The role of vascular endothelial growth factor in human dental pulp cells: induction of chemotaxis, proliferation, and differentiation and activation of the AP-1-dependent signaling pathway*. J Dent Res, 2000. **79**(8): p. 1596-603.
202. Sakai, V., et al., *SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium*. J Dent Res, 2010. **89**(8): p. 791-6.
203. Adamis, A.P., et al., *Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy*. Am J Ophthalmol, 1994. **118**(4): p. 445-50.
204. Bussolino, F., A. Mantovani, and G. Persico, *Molecular mechanisms of blood vessel formation*. Trends Biochem Sci, 1997. **22**(7): p. 251-6.
205. Friedlander, L.T., et al., *Vascularity and VEGF/VEGFR2 Signaling in the Dentine-Pulp Complex of Immature and Mature Permanent Teeth*. Eur Endod J, 2018. **3**(3): p. 153-9.
206. Zhang, J., et al., *Effects of human vascular endothelial growth factor on reparative dentin formation*. Mol Med Rep, 2016. **13**(1): p. 705-12.
207. Soden, R.I., et al., *Angiogenic signaling triggered by cariogenic bacteria in pulp cells*. J Dent Res, 2009. **88**(9): p. 835-40.
208. Atesci, A.A., et al., *Effect of Different Dentin Conditioning Agents on Growth Factor Release, Mesenchymal Stem Cell Attachment and Morphology*. J Endod, 2020. **46**(2): p. 200-208.
209. Khan, J.A., et al., *Effect of Natural and Artificial Dentin Conditioners on the Release of Vascular Endothelial Growth Factor*. J Endod, 2021. **47**(5): p. 800-805.
210. Humbel, R.E., *Insulin-like growth factors I and II*. Eur J Biochem, 1990. **190**(3): p. 445-62.
211. Takahashi, K., et al., *Induction of amelogenin and ameloblastin by insulin and insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) during embryonic mouse tooth*

- development in vitro*. Connect Tissue Res, 1998. **38**(1-4): p. 269-78; discussion 295-303.
212. Chenu, C., et al., *Insulin like growth factor I hormonal regulation by growth hormone and by 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and activity on human osteoblast-like cells in short-term cultures*. Bone, 1990. **11**(2): p. 81-6.
213. Huat, T.J., et al., *IGF-1 enhances cell proliferation and survival during early differentiation of mesenchymal stem cells to neural progenitor-like cells*. BMC Neurosci, 2014. **15**(1): p. 1-13.
214. Kurtz, A., W. Jelkmann, and C. Bauer, *A new candidate for the regulation of erythropoiesis. Insulin-like growth factor I*. FEBS Lett, 1982. **149**(1): p. 105-8.
215. Merchav, S., I. Tatarsky, and Z. Hochberg, *Enhancement of human granulopoiesis in vitro by biosynthetic insulin-like growth factor I/somatomedin C and human growth hormone*. J Clin Invest, 1988. **81**(3): p. 791-7.
216. Clark, R., et al., *Insulin-like growth factor-1 stimulation of lymphopoiesis*. J Clin Invest, 1993. **92**(2): p. 540-8.
217. Pelosi, L., et al., *Local expression of IGF-1 accelerates muscle regeneration by rapidly modulating inflammatory cytokines and chemokines*. FASEB J, 2007. **21**(7): p. 1393-402.
218. Phornphutkul, C., et al., *Insulin-like growth factor-1 signaling is modified during chondrocyte differentiation*. J Endocrinol, 2004. **183**(3): p. 477-86.
219. Wang, D., et al., *Insulin-like growth factor-1 engaged in the mandibular condylar cartilage degeneration induced by experimental unilateral anterior crossbite*. Arch Oral Biol, 2019. **98**: p. 17-25.
220. Huang, D., et al., *Role of mTOR complex in IGF-1 induced neural differentiation of DPSCs*. J Mol Histol, 2019. **50**(3): p. 273-83.
221. Onishi, T., et al., *Stimulation of proliferation and differentiation of dog dental pulp cells in serum-free culture medium by insulin-like growth factor*. Arch Oral Biol, 1999. **44**(4): p. 361-71.
222. Denholm, I., A. Moule, and P. Bartold, *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*. Int Endod J, 1998. **31**(4): p. 251-8.
223. Pauly, K., et al., *Insulin-like growth factor 1 and transforming growth factor-beta stimulate cystine/glutamate exchange activity in dental pulp cells*. J Endod, 2011. **37**(7): p. 943-7.
224. Lu, W., et al., *Effects of vascular endothelial growth factor and insulin growth factor -1 on proliferation, migration, osteogenesis and vascularization of human carious dental pulp stem cells*. Molecular medicine reports, 2019. **20**(4): p. 3924-32.
225. Oyanagi, T., et al., *Insulin-like growth factor 1 modulates bioengineered tooth morphogenesis*. Sci Rep, 2019. **9**(1): p. 368.
226. Zhou, W.L., et al., *Effects of Combining Insulin-like Growth Factor 1 and Platelet-derived Growth Factor on Osteogenesis around Dental Implants*. Chin J Dent Res, 2017. **20**(2): p. 105-9.



227. Hancerliogullari, D., A. Erdemir, and U. Kisa, *The effect of different irrigation solutions and activation techniques on the expression of growth factors from dentine of extracted teeth*. Int Endod J, 2021. **54**: p. 1915-24.
228. Siqueira Jr, J.F., et al., *Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite*. J Endod, 2000. **26**(6): p. 331-4.
229. Martinho, F.C. and B.P. Gomes, *Quantification of endotoxins and cultivable bacteria in root canal infection before and after chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite*. J Endod, 2008. **34**(3): p. 268-72.
230. Moorer, W.R. and P.R. Wesselink, *Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite*. Int Endod J, 1982. **15**(4): p. 187-96.
231. Grossman, L.I. and B.W. Meiman, *Solution of pulp tissue by chemical agents*. J Am Dent Assoc, 1941. **28**(2): p. 223-5.
232. Spangberg, L., B. Engstrom, and K. Langeland, *Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1973. **36**(6): p. 856-71.
233. Kandaswamy, D. and N. Venkateshbabu, *Root canal irrigants*. J Conserv Dent, 2010. **13**(4): p. 256-64.
234. Gomes, B., et al., *In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of Enterococcus faecalis*. Int Endod J, 2001. **34**(6): p. 424-8.
235. Radcliffe, C.E., et al., *Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms Actinomyces israelii, A. naeslundii, Candida albicans and Enterococcus faecalis*. Int Endod J, 2004. **37**(7): p. 438-46.
236. Vianna, M.E., et al., *In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2004. **97**(1): p. 79-84.
237. Byström, A. and G. Sundqvist, *Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1983. **55**(3): p. 307-12.
238. Byström, A. and G. Sunvqvist, *The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy*. Int Endod J, 1985. **18**(1): p. 35-40.
239. Kuruvilla, J.R. and M.P. Kamath, *Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants*. J Endod, 1998. **24**(7): p. 472-6.
240. Bui, T.B., J.C. Baumgartner, and J.C. Mitchell, *Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin*. J Endod, 2008. **34**(2): p. 181-185.
241. Chhabra, R.S., et al., *Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice*. Food Chem Toxicol, 1991. **29**(2): p. 119-24.
242. Krishnamurthy, S. and S. Sudhakaran, *Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine*. J Endod, 2010. **36**(7): p. 1154-7.

243. Lui, J.-N., H.-G. Kuah, and N.-N. Chen, *Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer*. J Endod, 2007. **33**(4): p. 472-5.
244. Violich, D. and N. Chandler, *The smear layer in endodontics—a review*. Int Endod J, 2010. **43**(1): p. 2-15.
245. Bra, M. and G. Johnson, *Effects of various conditioners and cleaning agents on prepared dentin surfaces: a scanning electron microscopic investigation*. J Prosthet Dent, 1974. **31**(4): p. 422-430.
246. Ari, H., A. Erdemir, and S. Belli, *Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin*. J Endod, 2004. **30**(11): p. 792-5.
247. Aniketh, T., et al., *Root canal irrigants and irrigation techniques: A review*. JEMDS, 2015. **4**(27): p. 4694-4701.
248. Tartari, T., et al., *Effects of heat in the properties of NaOCl alone and mixed with etidronate and alkaline tetrasodium EDTA*. Int Endod J, 2021. **54**(4): p. 616-27.
249. Hahn, F. and F. Reygadas, *Demineralization of hard tissues*. Science, 1951. **114**(2966): p. 462-3.
250. Ostby, N., *Chelating in root canal therapy. Ethylene-diamine tetraacetic acid for cleansing and widening of root canals*. Odontol Tidskr, 1957. **65**: p. 3-11.
251. Cagnasso, C.E., et al., *Development and validation of a method for the determination of EDTA in non-alcoholic drinks by HPLC*. J Food Compost Anal, 2007. **20**(3-4): p. 248-251.
252. Frithjof, R. and B.N. Östby, *Effect of EDTAC and sulfuric acid on root canal dentine*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1963. **16**(2): p. 199-205.
253. Ulusoy, Ö.İ. and G. Görgül, *Effects of different irrigation solutions on root dentine microhardness, smear layer removal and erosion*. Aust Endod J, 2013. **39**(2): p. 66-72.
254. Saha, S.G., et al., *Effectiveness of various endodontic irrigants on the microhardness of the root canal dentin: an in vitro Study*. J Clin Diagn, 2017. **11**(4): p. ZC01.
255. Ozbay, Y. and A. Erdemir, *Effect of several laser systems on removal of smear layer with a variety of irrigation solutions*. Microsc Res Tech, 2018. **81**(10): p. 1214-1222.
256. Haapasalo, M. and D. Ørstavik, *In vitro infection and of dentinal tubules*. J Dent Res, 1987. **66**(8): p. 1375-9.
257. Ørstavik, D. and M. Haapasalo, *Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules*. Dent Traumatol, 1990. **6**(4): p. 142-9.
258. Patterson, S.S., *In vivo and in vitro studies of the effect of the disodium salt of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1963. **16**(1): p. 83-103.

259. Ballal, N.V., et al., *In vitro antimicrobial activity of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on endodontic pathogens*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2011. **112**(5): p. 696-700.
260. Rasimick, B.J., et al., *Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA*. J Endod, 2008. **34**(12): p. 1521-3.
261. Karkehabadi, H., H. Yousefifakhr, and S. Zadsirjan, *Cytotoxicity of Endodontic Irrigants on Human Periodontal Ligament Cells*. Iran Endod J, 2018. **13**(3): p. 390-4.
262. Liu, L., et al., *EDTA Promotes the Mineralization of Dental Pulp In Vitro and In Vivo*. J Endod, 2021. **47**(3): p. 458-65.
263. Bracks, I.V., et al., *Effect of ethylenediaminetetraacetic acid irrigation on immune-inflammatory response in teeth submitted to regenerative endodontic therapy*. Int Endod J, 2019. **52**(10): p. 1457-1465.
264. Zhao, S., et al., *Ultrastructural localisation of TGF-beta exposure in dentine by chemical treatment*. Histochem J, 2000. **32**(8): p. 489-94.
265. Zehnder, M., *Root canal irrigants*. J Endod, 2006. **32**(5): p. 389-98.
266. Russell, R. and M. Rogers, *Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again*. Bone, 1999. **25**(1): p. 97-106.
267. Bains, V.K., et al., *Bisphosphonates: An Emerging Trend in Dentistry*. Asian J Oral Health Allied Sci, 2011. **1**(2): p. 117.
268. Goodman, L.S., *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. Vol. 1549. 1996: McGraw-Hill New York.
269. Chun, Y.H., et al., *Bisphosphonate modulates cementoblast behavior in vitro*. J Periodontol, 2005. **76**(11): p. 1890-900.
270. Morago, A., et al., *Dentine tubule disinfection by different irrigation protocols*. Microsc Res Tech, 2019. **82**(5): p. 558-63.
271. De-Deus, G., et al., *Soft chelating irrigation protocol optimizes bonding quality of Resilon/Epiphany root fillings*. J Endod, 2008. **34**(6): p. 703-5.
272. Aubut, V., et al., *Biological properties of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite solution*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2010. **109**(2): p. e120-5.
273. Paqué, F., D.-K. Rechenberg, and M. Zehnder, *Reduction of hard-tissue debris accumulation during rotary root canal instrumentation by etidronic acid in a sodium hypochlorite irrigant*. J Endod, 2012. **38**(5): p. 692-5.
274. De-Deus, G., et al., *Longitudinal co-site optical microscopy study on the chelating ability of etidronate and EDTA using a comparative single-tooth model*. J Endod, 2008. **34**(1): p. 71-5.
275. Ulusoy, O.I., A.S. Manti, and B. Celik, *Nanohardness reduction and root dentine erosion after final irrigation with ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acids*. Int Endod J, 2020. **53**(11): p. 1549-58.
276. Tartari, T., et al., *Etidronate from medicine to endodontics: effects of different irrigation regimes on root dentin roughness*. J Appl Oral Sci, 2013. **21**(5): p. 409-15.

277. Kot, F.S., *Boron sources, speciation and its potential impact on health*. Rev Environ Sci Biotechnol, 2009. **8**(1): p. 3-28.
278. Lumpkin, M. and M.D. Williams, *Toxicological Profile for Boron*. 2010: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency ....
279. Moore, J.A. and E.S. Committee, *An assessment of boric acid and borax using the IEHR evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents*. Reprod Toxicol, 1997. **11**(1): p. 123-60.
280. Ince, S., A. Filazi, and B. Yurdakok-Dikmen, *Boron*, in *Reproductive and Developmental Toxicology*. 2017, Elsevier. p. 521-35.
281. Velioglu, S., B.S. SAYLI, and S. Altunsoy, *Bor madeni havzalarında üretilen bazı gıdalarda bor miktarlarının belirlenmesi üzerine bir araştırma*. Gıda, 1999. **24**(1).
282. Parks, J.L. and M. Edwards, *Boron in the environment*. Crit Rev Environ Sci Technol, 2005. **35**(2): p. 81-114.
283. Ince, S. and D. Arslan-Acaröz, *An update on health effects of metalloïd trace element: Boron*. AJPDD, 2015. **2**(1): p. 113.
284. Devirian, T.A. and S.L. Volpe, *The physiological effects of dietary boron*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2003. **43**: p. 219-31.
285. Hunt, C.D., *The biochemical effects of physiologic amounts of dietary boron in animal nutrition models*. Environ Health Perspect, 1994. **102**(suppl 7): p. 35-43.
286. Nielsen, F.H., *Is boron nutritionally relevant?* Nutr Rev, 2008. **66**(4): p. 183-91.
287. Pizzorno, L., *Nothing boring about boron*. Integr Med, 2015. **14**(4): p. 35-48.
288. Aydın, T., B. Gönen, and H. Eseceli, *Bor'un İnsan Sağlığı ve Beslenme Üzerine Etkisi*. SDU Journal of Health Science Institute, 2018. **9**(2).
289. Reichman, O., R. Akins, and J.D. Sobel, *Boric acid addition to suppressive antimicrobial therapy for recurrent bacterial vaginosis*. Sex Transm Dis, 2009. **36**(11): p. 732-4.
290. Saita, K., et al., *Preparation and characterization of dispersible chitosan particles with borate crosslinking and their antimicrobial and antifungal activity*. Carbohydr Res, 2012. **349**: p. 52-8.
291. Akman, M., et al., *The Effect of Boric Acid on Root Dentin Mineral Content and Bond Strength of AH-Plus: A SEM-EDX Study*. Türkiye Klinikleri J Dental Sci, 2016. **22**(1).
292. Özbek, M., G. Kotan, and B.A. Uysal, *Farklı İrrigasyon Solusyonlarının Rezin ve Biyoseramik Esaslı Kök Kanal Patlarının Push-out Bağlanma Dayanımları Üzerine Etkisinin İncelenmesi*. NEU Dent J, 2021. **3**(2): p. 56-61.
293. Prough, D.S. and A. Bidani, *Hyperchloremic metabolic acidosis is a predictable consequence of intraoperative infusion of 0.9% saline*. Anesthesiology, 1999. **90**(5): p. 1247-9.
294. Zhou, F.H., et al., *Normal saline for intravenous fluid therapy in critically ill patients*. Chin J Traumatol, 2018. **21**(1): p. 11-5.

295. Wan, S., M.A. Roberts, and P. Mount, *Normal saline versus lower-chloride solutions for kidney transplantation*. Cochrane Database Syst Rev, 2016(8): p. CD010741.
296. Aaron, K., et al., *Ear drops for the removal of ear wax*. Cochrane Database Syst Rev, 2018. 7(7): p. CD012171.
297. Suzy, H., H. Levi, and V. Guido, *Essentials in saline pharmacology for nasal or respiratory hygiene in times of COVID-19*. Eur J Clin Pharmacol, 2021: p. 1-19.
298. Cudal, H., T. Aslan, and Y. Üstün, *LİTERATÜRDE IN VITRO ELEKTRONİK APEKS BULUCU ÇALIŞMALARINDA KULLANILAN ORTAM ÇEŞİTLERİ: BİR DERLEME*. J Dent Fac Atatürk Uni, 2021. 31(3): p. 454-58.
299. Uzunoglu, E., et al., *Final Irrigation Regimens Affect Fracture Resistance Values of Root-filled Teeth*. J Endod, 2016. 42(3): p. 493-5.
300. Topbaş, C., et al., *ENDODONTİK SODYUM HİPOKLORİT KOMPLİKASYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ VE BİR OLGU BİLDİRİSİ*. Aydın Dental Journal, 2017. 3(1): p. 35-42.
301. Tartari, T., et al., *Analysis of the effects of several decalcifying agents alone and in combination with sodium hypochlorite on the chemical composition of dentine*. Int Endod J, 2018. 51: p. e42-e54.
302. Gazzaneo, I., et al., *Root canal disinfection by single-and multiple-instrument systems: effects of sodium hypochlorite volume, concentration, and retention time*. J Endod, 2019. 45(6): p. 736-41.
303. Xu, J., et al., *Mechano-chemical coupling of irrigation enhances endodontic biofilm debridement*. Biofouling, 2020. 36(7): p. 792-9.
304. Retamozo, B., et al., *Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate Enterococcus faecalis*. J Endod, 2010. 36(3): p. 520-3.
305. Virdee, S., et al., *The influence of irrigant activation, concentration and contact time on sodium hypochlorite penetration into root dentine: an ex vivo experiment*. Int Endod J, 2020. 53(7): p. 986-97.
306. Sarkees, M. and K. Al-Maarrawi, *Chitosan: A natural substitute of EDTA solution for final irrigation in endodontics treatment*. Niger J Clin Pract, 2020. 23(5): p. 697-703.
307. Teixeira, C.S., M.C. Felipe, and W.T. Felipe, *The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis*. Int Endod J, 2005. 38(5): p. 285-90.
308. Kaya, S., et al., *Effectiveness of three different application times of 17% EDTA and 7% maleic acid irrigation agents on the removal of debris and smear layer: a scanning electron microscope study*. Int Dent Res, 2011. 1(2): p. 48-54.
309. Bosaid, F., et al., *Surface and structural changes in root dentine by various chelating solutions used in regenerative endodontics*. Int Endod J, 2020. 53(10): p. 1438-1445.
310. Nagata, J.Y., et al., *Microbial evaluation of traumatized teeth treated with triple antibiotic paste or calcium hydroxide with 2% chlorhexidine gel in pulp revascularization*. J Endod, 2014. 40(6): p. 778-83.

311. Orti, V., et al., *Pulp Regeneration Concepts for Nonvital Teeth: From Tissue Engineering to Clinical Approaches*. Tissue Eng Part B Rev, 2018. **24**(6): p. 419-42.
312. Smith, A.J., et al., *Exploiting the Bioactive Properties of the Dentin-Pulp Complex in Regenerative Endodontics*. J Endod, 2016. **42**(1): p. 47-56.
313. Frankenberger, R., et al., *Dentin bond strength and marginal adaptation after NaOCl pre-treatment*. Oper Dent, 2000. **25**: p. 40-5.
314. Essner, M.D., A. Javed, and P.D. Eleazer, *Effect of sodium hypochlorite on human pulp cells: an in vitro study*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2011. **112**(5): p. 662-666.
315. Galler, K., et al., *EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells*. Int Endod J, 2016. **49**(6): p. 581-90.
316. Taweewattanapaisan, P., et al., *The Effects of EDTA on Blood Clot in Regenerative Endodontic Procedures*. J Endod, 2019. **45**(3): p. 281-6.
317. Kim, S.G., et al., *Regenerative endodontics: a comprehensive review*. Int Endod J, 2018. **51**(12): p. 1367-88.
318. Laureys, W.G., et al., *The critical apical diameter to obtain regeneration of the pulp tissue after tooth transplantation, replantation, or regenerative endodontic treatment*. J Endod, 2013. **39**(6): p. 759-63.
319. Andreasen, J.O., et al., *A long-term study of 370 autotransplanted premolars. Part II. Tooth survival and pulp healing subsequent to transplantation*. Eur J Orthod, 1990. **12**(1): p. 14-24.
320. Estefan, B.S., et al., *Influence of age and apical diameter on the success of endodontic regeneration procedures*. J Endod, 2016. **42**(11): p. 1620-5.
321. Kim, S.G., *Infection and Pulp Regeneration*. Dent J (Basel), 2016. **4**(1): p. 4.
322. Galler, K., et al., *European Society of Endodontology position statement: revitalization procedures*. Int Endod J, 2016. **49**(8): p. 717-23.
323. Kabil, E., et al., *Micro-computed Evaluation of Canal Transportation and Centering Ability of 5 Rotary and Reciprocating Systems with Different Metallurgical Properties and Surface Treatments in Curved Root Canals*. J Endod, 2021. **47**(3): p. 477-84.
324. Boessler, C., O.A. Peters, and M. Zehnder, *Impact of lubricant parameters on rotary instrument torque and force*. J Endod, 2007. **33**(3): p. 280-3.
325. Álvarez-Sagües, A., et al., *Efficacy of EDTA and HEDP Chelators in the Removal of Mature Biofilm of Enterococcus faecalis by PUI and XPF File Activation*. Dentistry Journal, 2021. **9**(4): p. 41.
326. Solutions, S., *Common Buffers, Media, and Stock Solutions*. 2000.
327. Fu, X.-M., et al., *Electrochemical aptasensor for the detection of vascular endothelial growth factor (VEGF) based on DNA-templated Ag/Pt bimetallic nanoclusters*. Chin Chem Lett, 2016. **27**(6): p. 920-6.
328. Li, J., et al., *A fluorescence biosensor for VEGF detection based on DNA assembly structure switching and isothermal amplification*. Biosens Bioelectron, 2017. **89**(Pt 2): p. 964-9.

329. Wu, D., et al., *Colorimetric detection of proteins based on target-induced activation of aptazyme*. Anal Chim Acta, 2016. **942**: p. 68-73.
330. Chen, H., et al., *Detection of vascular endothelial growth factor based on rolling circle amplification as a means of signal enhancement in surface plasmon resonance*. Biosens Bioelectron, 2014. **61**: p. 83-7.
331. Dincer, G.A., A. Erdemir, and U. Kisa, *Comparison of neurokinin A, substance P, interleukin 8, and matrix metalloproteinase-8 changes in pulp tissue and gingival crevicular fluid samples of healthy and symptomatic irreversible pulpitis teeth*. J Endod, 2020. **46**(10): p. 1428-37.
332. Dong, J., et al., *A highly sensitive colorimetric aptasensor for the detection of the vascular endothelial growth factor in human serum*. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2020. **226**: p. 117622.
333. Naganobu, K., et al., *A comparison of distilled water and normal saline as diluents for endobronchial administration of epinephrine in the dog*. Anesth Analg, 2000. **91**(2): p. 317-21.
334. Itoh, Y., et al., *Pulp Regeneration by 3-dimensional Dental Pulp Stem Cell Constructs*. J Dent Res, 2018. **97**(10): p. 1137-43.
335. Zhang, W., et al., *Osteo-/odontogenic differentiation of BMP2 and VEGF gene-co-transfected human stem cells from apical papilla*. Mol Med Rep, 2016. **13**(5): p. 3747-54.





# EK-1: Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul Kararı

## KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

### GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

**Toplantı Tarihi:** 26/06/2019

**Toplantı Sayısı:** 2019/10

**Karar No:** 2019.06.11

Kırıkkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu 26/11/2020 tarihinde Perşembe günü saat 10:00'da Prof. Dr. Sema ZERGEROĞLU'nun başkanlığında toplanmıştır.

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, Prof. Dr. Ali ERDEMİR'in danışmanlığında yürütülecek olan Araş. Gör. Deniz ERDOĞAN'ın doktora tezi "**Farklı Şelasyon Ajanlarının Farklı Sürelerde Uygulanmasının Kök Kanal Dentininden Büyüme Faktörlerinin Salınımına Etkisi**" isimli araştırma konusu yardımcı araştırmacılar, Asistan Dr. Ercan TEKİN'in, katılımıyla yürütülecek olan doktora tezi başvurusu Kırıkkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkeleri gereğince değerlendirilmiştir.

**KARAR:** Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, Prof. Dr. Ali ERDEMİR'in danışmanlığında yürütülecek olan Araş. Gör. Deniz ERDOĞAN'ın doktora tezi "**Farklı Şelasyon Ajanlarının Farklı Sürelerde Uygulanmasının Kök Kanal Dentininden Büyüme Faktörlerinin Salınımına Etkisi**" isimli araştırma konusu yardımcı araştırmacılar, Asistan Dr. Ercan TEKİN'in, katılımıyla yürütülecek olan doktora tezi başvurusu Kırıkkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Sema ZERGEROĞLU  
Başkan

**(Katılmadı)**

Prof. Dr. Teoman Zafer APAN  
Üye

Prof. Dr. Sinan AYAN  
Üye

Doç. Dr. Oktay AYDIN  
Üye

Doç. Dr. Mehmet Zahit  
ADIŞEN  
Üye

Doç. Dr. Meral SERTEL  
Üye

Doç. Dr. Yasın DEMİRBAŞ  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Funda  
ERDOĞAN  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Birhan OKTAŞ  
Üye

## EK-2: Akademik Kurul Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 28/05/2019-E.3795



T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı



Sayı : 78767462-900-  
Konu : Akademik Çalışma

### İLGİLİ MAKAMA

Fakültemiz Klinik Bilimler Bölümü Endodonti Anabilim Dalı doktora öğrencisi Dt. Deniz Erdoğan'ın "Farklı Şelasyon Ajanlarının Farklı Sürelerde Uygulanmasının Kök Kanal Dentininden Büyüme Faktörlerinin Salınımına Etkisi" başlıklı Doktora Tez çalışması Akademik bir çalışma olup, bu çalışmayı Endodonti Anabilim Dalı'nda görev yapan Öğretim Üyesi Prof.Dr.Ali ERDEMİR'in danışmanlığında yürütmesi Dekanlığımızca uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi arz/rica ederim.

**e-imzalıdır**  
Prof. Dr. Ali ERDEMİR  
Dekan

Evrakı Doğrulamak İçin : <http://dogrulama.kku.edu.tr/envision.sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE6E4KEVP>

Yenişehir Mahallesi Çelebi Sokak No: 1 Yahşihan/KIRIKKALE  
Telefon No: 0318 224 49 27 Faks: 0318 225 06 85  
E-Posta: dis@kku.edu.tr İnternet  
Adresi: <http://www.dis.kku.edu.tr>

Bilgi için: Zübeyir ATALAY  
Unvan: Teknisyen  
Telefon No: 03182243618



# ÖZGEÇMİŞ

