

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI**

**KÖK KANAL TEDAVİSİNDE UYGULANAN NANOPARTİKÜL
İÇERİKLİ İRRİGASYON PROTOKOLÜNÜN DENTİNİN
FİZİKSEL VE MEKANİK ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ**

Dt. Sena Nihan ŞENGÜL

**Endodonti Programı
UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA
2022**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI**

**KÖK KANAL TEDAVİSİNDE UYGULANAN NANOPARTİKÜL
İÇERİKLİ İRRİGASYON PROTOKOLÜNÜN DENTİNİN
FİZİKSEL VE MEKANİK ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ**

Dt. Sena Nihan ŞENGÜL

**Endodonti Programı
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Selen KÜÇÜKKAYA EREN**

**ANKARA
2022**

ONAY SAYFASI

Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığına

Dt. Sena Nihan Şengül'ün 06/10/2022 tarihinde jürimiz önünde yaptığı savunmasında “Kök Kanal Tedavisinde Uygulanan Nanopartikül İçerikli İrrigasyon Protokolünün Dentinin Fiziksel ve Mekanik Özelliklerine Etkisi” başlıklı çalışması jürimiz tarafından Diş Hekimliğinde Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı ve Tez Danışmanı : Doç. Dr. Selen KÜÇÜKKAYA EREN

Üye : Prof. Dr. Mehmet Özgür UYANIK

Üye : Doç. Dr. Berkan ÇELİKTEN

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

Prof. Dr. Tülin TANER
Dekan

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

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

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

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

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

i

Dt. Sena Nihan ŞENGÜL

...../...../2022

ⁱ“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

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

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

ETİK BEYAN

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

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

Dt. Sena Nihan ŞENGÜL

TEŞEKKÜR

Öğrencisi olduğum ilk günden şu ana kadar bilgisini, tecrübesini, sabrını ve manevi desteğini benden esirgemeyen, klinik ve akademik olarak gelişimime her daim katkıda bulunan, bu tezin oluşmasında en az benim kadar emek harcayan, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum değerli hocam Doç. Dr. Selen Küçükkaya Eren'e,

Eğitim sürecim boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen, bana mesleğimi öğreten Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı ailesindeki tüm değerli hocalarıma,

Kitosan nanopartikül ve genipin solüsyonlarının hazırlığı aşamasında, büyük bir özveriyle, günlerini laboratuvarında çalışmamıza ayıran değerli hocam Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Temel Bilimler Anabilim Dalı'ndan Öğr. Gör. Dr. Şükrü Öztürk'e, çalışmamızın protokolünün oturtulmasında bize yol gösteren Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Temel Bilimler Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Kezban Ulubayram'a, FTIR analizlerinin sonuçlarının eldesinde ve yorumlanmasındaki çok değerli katkıları için Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nden Prof. Dr. Nursel Pekel Bayramgil'e, Çalışmamızın istatistiksel analizlerini gerçekleştiren Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi Sevilay Karahan'a,

Eğitimimin bana kazandırdığı iş arkadaşlıklarından çok daha fazlası dostlukları için, her konuda desteklerini hissettiğim sevgili arkadaşlarım Uzm. Dt. Mert Deniz Ertekin, Dt. Fatma Nur Yiğitçe, Dt. Büşra Tavşan, Uzm. Dt. Begüm Cömert, Uzm. Dt. Nilay Ezentaş, Uzm. Dt. Gizem Özdemir ve Dt. Gonca Zelal Şahin'e,

Sevgisi ve desteğini her zaman hissettiğim, her zaman yanımda olan Fatma Sezgin, Nafiye Sezgin Akünel ve Dilara Şengül'e,

Beni bugünlere getirmek için kendi hayatlarından fedakarlık eden, sonsuz emek ve çaba gösteren, maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim anneannem Ayşe Sezgin'e, dedem Ahmet Sezgin'e, annem Asiye Ulu'ya ve babam Recep Erhan Şengül'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: THD-2020-18995).

ÖZET

ŞENGÜL, S. N. Kök Kanal Tedavisinde Uygulanan Nanopartikül İçerikli İrrigasyon Protokolünün Dentinin Fiziksel ve Mekanik Özelliklerine Etkisi. Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara, 2022. Bu çalışmanın amacı kitosan nanopartikülleri (KNP) kullanımını ve genipin (GE) ile çapraz bağlamayı içeren final irrigasyon protokollerinin, enzimatik çözünmeye karşı, dentininin mikrosertliği, yüzey özellikleri ve kimyasal yapısı üzerindeki etkilerini araştırmaktır. KNP iyonik jelyasyon yöntemi ile sentezlendi ve stabilitesi partikül boyutu, polidispersitesi ve zeta potansiyeli ölçülerek değerlendirildi. Doksan adet çekilmiş tek köklü dişin kök kanalları şekillendirildi ve sodyum hipoklorit (NaOCl) ile irrigate edildi. Dentin diskleri elde edildi ve mikrosertlik (n=15), ATR-FTIR (n=5) ve SEM/EDS (n=6) analizlerinde kullanılmak üzere gruplara ayrıldı, ve aşağıdaki solüsyonlarda bekletildi: (1) NaOCl+Etilendiamintetraasetik asit (EDTA), (2) NaOCl+KNP, (3) NaOCl+EDTA+KNP, (4)NaOCl+KNP+GE, (5)NaOCl+EDTA+KNP+GE veya (6) distile su. Örneklerin başlangıç ve irrigasyon protokolleri sonrası dentin mikrosertliği ölçüldü. ATR-FTIR ve SEM/EDS analizleri, irrigasyon protokolleri uygulandıktan sonra gerçekleştirildi. Tüm analizler, disklerin 24 saat kolajenaz solüsyonunda bekletilmesinden sonra tekrarlandı. Verilerin istatistiksel analizleri yapıldı (p=0,05). Kolajenaz uygulaması sonrasında, final irrigasyon sonrasına göre, NaOCl+EDTA+KNP+GE grubu hariç, tüm gruplarda dentin mikrosertliği azaldı (p<0,05). NaOCl+EDTA+KNP ve NaOCl+KNP+GE gruplarının kolajenaz uygulaması sonrası mikrosertlik değerleri, başlangıç değerlerine benzerdi (p>0,05). Kolajenaz sonrası, Amid III/PO₄⁻³ oranında NaOCl+EDTA+KNP, NaOCl+KNP+GE ve NaOCl+EDTA+KNP+GE gruplarında önemli bir değişim oluşmazken (p>0,05), diğer gruplarda azalma oldu (p<0,05). Kolajenaz, gruplardaki CO₃⁻²/ PO₄⁻³ oranında bir değişime yol açmadı (p>0,05). Kolajenaz öncesi ve sonrasında, gruplarda elemental düzeyde önemli bir değişim görülmedi (p>0,05). Kök kanal tedavisinin final irrigasyon protokolünde KNP ve GE kullanımı, enzimatik çözünmeye karşı dentinde olumlu etkiler oluşturması nedeniyle önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: çapraz bağlama, genipin, kitosan, kolajenaz, nanopartikül

ABSTRACT

ŞENGÜL, S. N. Effect of Irrigation Protocol with Nanoparticles on the Physical and Mechanical Properties of Dentin in Root Canal Treatment. Hacettepe University Faculty of Dentistry, Department of Endodontics, Specialization Thesis, Ankara, 2022. The aim of this study is to investigate the effects of final irrigation protocols including the use of chitosan nanoparticles (CSNPs) and crosslinking with genipin (GE) on the microhardness, surface properties and chemical structure of dentin against enzymatic dissolution. CSNPs were synthesized using ionic gelation method and its stability was evaluated by measuring the particle size, polydispersity and zeta-potential. The root canals of 90 extracted single-rooted teeth were prepared and irrigated with sodium hypochlorite (NaOCl). Dentin discs were obtained and divided into groups for use in microhardness (n=15), ATR-FTIR (n=5) and SEM/EDS (n=6) analyses, and kept in the following solutions: (1)NaOCl+Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), (2)NaOCl+CSNPs, (3)NaOCl+EDTA+CSNPs, (4)NaOCl+CSNPs+GE, (5)NaOCl+EDTA+CSNPs+GE or (6)distilled water. Dentin microhardness was measured before and after treating the specimens with the irrigation protocols. ATR-FTIR and SEM/EDS analyses were performed after the specimens were treated with the irrigation protocols. All analyses were repeated after the discs were soaked in collagenase solution for 24 hours. Data were analyzed statistically (p=0.05). After collagenase application, dentin microhardness decreased in all groups, except for the NaOCl+EDTA+CSNPs+GE group, compared to the values after final irrigation (p<0.05). Microhardness values of NaOCl+EDTA+CSNPs and NaOCl+CSNPs+GE groups after collagenase application were similar to the initial microhardness values (p>0.05). After collagenase, the Amid III/PO₄⁻³ ratio presented no significant change in the NaOCl+EDTA+CSNPs, NaOCl+CSNPs+GE and NaOCl+EDTA+CSNPs+GE groups (p>0, 05), while decreased in other groups (p<0.05). Collagenase did not change the CO₃⁻²/ PO₄⁻³ ratio in the groups (p>0.05). There were no significant changes in the groups in terms of elemental level before and after collagenase application (p>0.05). The use of CSNPs and GE in the final irrigation protocol of root canal treatment can be recommended as they have positive effects on dentin against enzymatic dissolution.

Key words: chitosan, collagenase, crosslinking, genipin, nanoparticle

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Dentin.....	4
2.2. Smear Tabakası.....	4
2.3. Kök Kanallarının İrrigasyonu	5
2.3.1. Endodontide Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları.....	6
2.4. Nanopartiküller	18
2.4.1. Metal İçerikli Nanopartiküller	20
2.4.2. Biyoaktif Cam Nanopartikülleri	22
2.4.3. Karbon Bazlı Nanopartiküller.....	22
2.4.4. Kitosan	22
2.5. Çapraz Bağlayıcı Ajanlar	28
2.5.1. Genipin.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Örneklerin Hazırlanması.....	31
3.2. Kitosan Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	33
3.2.1. Kitosan Nanopartiküllerinin Sentezi.....	34
3.2.2. Kitosan Nanopartiküllerin Karakterizasyonu ve Stabilitesinin Tespit Edilmesi	37

3.3. İrrigasyon Solüsyonlarının Dentin Üzerindeki Etkisinin Tespit Edilmesi	40
3.3.1. Mikrosertlik Analizi	40
3.3.2. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	42
3.3.3. Yüzey Özellikleri Analizi.....	43
3.4. Verilerin Analizi	44
4. BULGULAR	45
4.1. Mikrosertlik Analizi.....	45
4.2. FTIR Analizi	46
4.2. SEM/EDS Analizi.....	48
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
7. KAYNAKLAR.....	60
8. EKLER.....	80
EK-1: Etik Onay Belgesi	80
EK-2: Tez Çalışması Orjinallik Raporu	81
EK-3: Tez Çalışması Dijital Makbuz	84

SİMGELER ve KISALTMALAR

Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂	: Hidroksiapatit kristalleri
%	: Yüzde
°C	: Santigrat
µm	: Mikrometre
ATR-FTIR	: Zayıflatılmış Toplam Yansıma-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
AgNP	: Gümüş nanopartikülleri
C	: Karbon
Ca	: Kalsiyum
Ca(OH)₂	: Kalsiyum hidroksit
C. albicans	: Candida albicans
C. histolyticum	: Clostridium histolyticum
CHX	: Klorheksidin
CLSM	: Konfokal lazer taramalı mikroskopu
cm	: Santimetre
CMCS	: Karboksimetil kitosan solüsyonu
CO₃⁻²	: Karbonat iyonları
CSNPs	: Kitosan nanopartikülleri
dk	: Dakika
E. coli	: Escherichia coli
EDC	: Etil karbodiimid
EDS	: Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
E. faecalis	: Enterococcus faecalis
ER-YAG	: Erbium-Yttrium Aluminium Garnet
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spektrofotometre
g	: Gram
GSH	: Glutasyon
GE	: Genipin
HCl	: Hidroklorik asit
HEDP	: Etidronik asit

HOCl	: Hipokloröz asit
Hz	: Hertz
ISO	: International Standardization Organization (Uluslararası Standartlar Organizasyonu)
J/cm²	: Enerji/ ışık alanı
kDa	: Kilodalton
KNP	: Kitosan nanopartikülü
K-tipi	: Kerr-tipi
M	: Mol
m	: Metre
Mg	: Magnezyum
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
MRI	: Manyetik rezonans görüntüleme
MS	: Milattan sonra
MTA	: Mineral trioksit agregat
Na	: Sodyum
Na₂O	: Sodyum oksit
NaCl	: Sodyum klörür
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
NaOH	: Sodyum hidroksit
ND-YAG	: Neodymium-Doped Ytrium Aluminium Garnet
NF-PLLA	: Nanofibröz polilaktik asit
NH₂	: Amin
NH₃⁺	: Amonyum iyonları
NHS	: N-hidrosüksinimid
Ni-Ti	: Nikel Titanyum
nm	: Nanometre
O	: Oksijen
OCl⁻	: Hipoklorit iyonu
OH⁻	: Hidroksil iyonu
O/C	: Oksijen/Karbon

p	: İstatistiksel anlamlılık değeri
P	: Fosfor
PDI	: Polidispersite indeksi
P. aeruginosa	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PO₄⁻³	: Fosfat iyonları
P₂O₅	: Fosfor pentoksit
RB	: Rose Bengal
S. mutans	: <i>Streptococcus mutans</i>
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SH	: Sülfidril
SiO₂	: Silisyum dioksit
sn	: Saniye
TAP	: Üçlü antibiyotik patı
TES	: Tris(hidroksimetil)-metil-2-aminoetan sülfonat
TPP	: Tripolifosfat
V	: Hacim
ZP	: Zeta potansiyeli

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil 1. NaOCl'nin sudaki dinamik dengesi.	7
Şekil 2. Sabunlaşma reaksiyonu.	7
Şekil 3. Nötralizasyon reaksiyonu.	7
Şekil 4. Kloraminasyon reaksiyonu.	8
Şekil 5. EDTA'nın şelasyon mekanizması.	14
Şekil 6. Klorheksidinin moleküler yapısı.	16
Şekil 7. Nanopartiküllerin sınıflandırılması.	20
Şekil 8. Kitosanın formülasyonu.	23
Şekil 9. Örneklerin hazırlanması.	32
Şekil 10. Örneklerin akrilik rezin içine gömülmesi.	32
Şekil 11. Kesit alma cihazı.	33
Şekil 12. Dentin kesitlerinin alınması.	33
Şekil 13. Hassas tartıda NaCl miktarının ölçümü.	35
Şekil 14. A) Toz formundaki kitosan, B) Kitosan miktarının ölçümü, C) NaCl içeren ultrasaf suda kitosanın çözdürülmesi.	36
Şekil 15. A) Asetik asit B) Manyetik karıştırıcı üzerinde 24 saat bırakılan solüsyon.	36
Şekil 16. Manyetik karıştırıcı üzerinde, farklı deney setlerine ait, TPP ve kitosan içeren solüsyonlar.	37
Şekil 17. Malvern Nano ZS ZetaSizer.	37
Şekil 18. A) Boyut stabilite grafiği B) PDI stabilite grafiği C) ZP stabilite grafiği.	38
Şekil 19. Deneylerde kullanılan KNP solüsyonuna ait ölçümler A) Boyut ve PDI grafiği, B) ZP grafiği.	38
Şekil 20. Dimetil sülfoksit.	39
Şekil 21. Final irrigasyon solüsyonlarının uygulanması.	39
Şekil 22. Genipin uygulaması.	40
Şekil 23. A) Mikrosertlik cihazı, B) Yük uygulandıktan sonra dentinin görüntüsü.	41

Şekil 24. Etüv.	41
Şekil 25. 100 mg/mL kolajenaz.....	42
Şekil 26. FTIR cihazı.....	42
Şekil 27. Taramalı elektron mikroskobu.	43
Şekil 28. Her bir gruptan temsili örneklerle ait dentin üzerinden alınan A) kolajenaz öncesi ve B) kolajenaz sonrası karşılaştırmalı olarak çizdirilmiş FTIR spektrumları.	46
Şekil 29. Kolajenaz uygulaması öncesi grupların SEM görüntüleri (x1000 büyütme).....	49
Şekil 30. Kolajenaz uygulaması sonrası dentin kesitlerine ait SEM görüntüleri (x250 büyütme).....	50
Şekil 31. Kitosan nanopartikülünün SEM görüntüsü (x10000 büyüme).....	50

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Kök kanal irrigasyonunda kitosan kullanan çalışmaların özeti	27
Tablo 2. Gruplardaki dentin disklerine ait mikrosertlik değerleri (ortalama±standart sapma).....	45
Tablo 3. FTIR analizi sonrası gruplardaki median (minimum-maksimum) değerleri	47
Tablo 4. SEM/EDS analizi sonrası gruplardaki median (minimum- maksimum) değerleri	48

1. GİRİŞ

Kök kanal tedavisinin amacı, kök kanal sisteminin etkin bir şekilde temizlenmesi, şekillendirilmesi ve sızdırmaz bir şekilde doldurulması ile apikal periodontitisi tedavi etmek ve oluşumunu önlemektir (1). Apikal periodontitis, genellikle kök kanal sisteminden kökün çevresine yayılan mikrobiyal enfeksiyon nedeniyle oluşur (2). Bu mikrobiyal enfeksiyonun başlıca sebepleri diş çürüğü, travma, diş yüzeyindeki çatlak veya abrazyon gibi defektler, kenar uyumu yetersiz olup mikrosızıntıya neden olan restorasyonlar ve önceden yapılan yetersiz kalitedeki kök kanal tedavisine bağlı olarak kanal içerisine yerleşen mikroorganizmalar olarak sıralanabilir. Kök kanal sisteminde bulunan mikroorganizmaların dentin yüzeyinde oluşturduğu ve dentin tübüllerinin içerisine kadar uzanabilen tabakaya biyofilm tabakası denir (3). Biyofilm tabakası, mikroorganizmalara, proliferasyon için daha geniş bir habitat aralığının oluşturulmasını sağlamaktadır. Artan metabolik çeşitlilik ve verimlilik, konak savunmalarına, antimikrobiyal ajanlara ve çevresel strese karşı mikroorganizmalara avantaj sağlar (3). Mikroorganizmalar, biyofilm tabakası sayesinde bir ekstraselüler matriks ile çevrelenirler ve böylece dış etkenlere karşı daha dayanıklı hale gelirler (4). Kök kanal anatomisinin kompleks yapısından dolayı, biyofilm tabakasını sadece mekanik yolla kök kanalından uzaklaştırmak pek mümkün değildir (5). Biyofilm tabakasının kök kanalından uzaklaştırılabilmesi için, mekanik olarak kanalların genişletilip şekillendirilmesinin yanında etkin bir irrigasyona da ihtiyaç duyulmaktadır (6). Bu sebeple kemomekanik temizleme ile nekrotik pulpa, mikroorganizmalar ve ürünleri kök kanal sisteminden uzaklaştırılır ve sonrasında enfeksiyonun tekrarlamaması için kök kanal sistemi kanal anatomisine uygun bir şekilde üç boyutlu olarak sızdırmaz bir şekilde doldurulur (1).

Kök kanallarının irrigasyonu, kök kanal tedavisinin başarıya ulaşması için kritik öneme sahip aşamalardan biridir (7). Hem biyofilm tabakasının, hem de kanal şekillendirmesi sırasında dentin yüzeyinde oluşan organik ve inorganik bileşenleri içeren smear tabakasının kök kanal sisteminden uzaklaştırılması irrigasyon yoluyla sağlanmaktadır (8). Sodyum hipoklorit (NaOCl), kök kanal tedavisinde başlıca kullanılan irrigasyon ajanıdır (9). NaOCl, kök kanal sisteminde bulunan organik artıkları eriterek hem geniş spektrumlu antimikrobiyal etki gösterir, hem de biyofilm

tabakasının uzaklaştırılmasına katkı sağlar (10). Öte yandan, NaOCl sadece organik yapıya etki gösterdiği için tek başına smear tabakasını uzaklaştırılmaz (11). Bu nedenle smear tabakasının inorganik yapısına etki edecek şelatörlerin de kanal tedavisi sırasında kullanımı, irrigasyonun önemli bir parçasıdır. Etilendiamintetraasetik asit (EDTA), NaOCl ile kombine olarak en yaygın kullanılan şelasyon ajanıdır (8). Smear tabakasının kaldırılmasıyla, hem daha etkili bir dezenfeksiyon sağlanmış olur hem de kök kanal dolgu patları dentin tübüllerine daha iyi penetre olur (12). Ancak, yapılan *ex-vivo* çalışmalarda, EDTA'nın, NaOCl ile kombine veya tek başına kullanımının dentinin mikrosertliğini önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur, bu da klinik olarak kök kanal tedavisi geçirmiş dişlerde kırık oluşumu riskini artırabilmektedir (13-16). Bu dezavantajından dolayı endodontide yeni bir şelasyon ajanı arayışına gidilmiştir.

Nanoteknoloji ilaç dağıtımı, doku rejenerasyonu, antimikrobiyal uygulamalar, gen transfeksiyonu ve görüntüleme gibi birçok biyomedikal alanda önemli gelişmeler sağlamaktadır (17). Nano-diş hekimliği terimi, ağız ve diş sağlığını geliştirmek amacıyla teşhis ve tedaviye yönelik nanomalzemelerin kullanılmasını ifade eder (17). Nanomalzemeler, çapları nano-ölçekli boyutlarda olan nanopartiküllerden oluşur ve bu partiküller sayesinde daha büyük yüzey alanı ve yük yoğunluğuna sahip olabilirler (18). Son yıllarda, endodonti alanında nanomalzemelerin geliştirilmesi ve kullanılması ile antimikrobiyal etkinliğin artırılmasına, dentin matriksinin mekanik olarak güçlendirilmesine ve doku rejenerasyonunun iyileştirilmesine odaklanılmaktadır (17).

Kitosan, yengeç ve karides kabuğunda bulunan kitinin deasetilasyonu yoluyla elde edilen, biyouyumlu ve biyoçözünür bir polisakkarittir (19). Kitosanın fonksiyonel fosfat gruplarının, kalsiyum iyonlarıyla şelasyon göstermesi ile demineralize dentin yapısında remineralizasyonu indüklediği ve böylece kalsiyum fosfat tabakası oluşturduğu gösterilmiştir (20). Kitosan uygulamasından sonra, dentinin kolajenaz yıkımına daha dirençli olduğu bildirilmiştir (21). Kitosan asidik pH'a sahip olmasından dolayı metal iyonlarına şelasyon kapasitesi gösterir (22). Kitosan polikationik yapısı sayesinde, negatif yüklü bakteri yüzeyiyle etkileşime girerek bakterinin hücre permeabilitesinin değişimine ve intraselüler komponentlerin sızmasına neden olur ve bu şekilde antibakteriyel özellik sergiler (23-25). Kitosan direkt mikroorganizmaların çekirdeğindeki DNA'ya bağlanarak mRNA sentezini inhibe eder ve mRNA ile protein sentezini engeller (25).

Kolajen yapı iskeletinin mekanik özelliklerini iyileştirmek ve bakteri kaynaklı kolajenaza karşı dayanıklılığını artırmak için çapraz bağlayıcı ajanlar kullanılabilir (26). Genellikle kısa sürede çapraz bağlama yapması ve yüksek dayanıklılığı sebebiyle gluteraldehit en fazla kullanılan çapraz bağlama ajanıdır (27). Ancak yüksek sitotoksosite gösterdiği için farklı ajan arayışlarına gidilmiştir (28, 29). Genipin, gardenya bitkisinin meyvesinden doğal yollarla oluşan bir organik bileşiktir ve kolajen çapraz bağlama ajanı olarak etkili olduğu gösterilmiştir (30). Ayrıca yapılan çalışmalarda, gluteraldehitin gösterdiğinden anlamlı derecede düşük sitotoksosite ve inflamatuvar reaksiyon gösterdiği bulunmuştur (31-33). Bunun yanında, genipinin antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etkileri olduğu da bildirilmiştir (34).

Kitosan nanopartikül uygulamasının, kanal tedavisinin rutin irrigasyon protokolleri ile beraber yapılmasının kök dentini üzerine etkilerine dair literatürde yeterli bilgi yoktur. Çalışmamızın amacı, NaOCl irrigasyonun ardından, EDTA ile beraber veya EDTA yerine kitosan nanopartiküllü solüsyon ile irrigasyon yapılmasının ve genipinin çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılmasının, enzimatik çözünmeye karşı, kök dentininin mikrosertliğine, moleküler yapısına ve yüzey özelliklerine etkilerini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dentin

Dentinin %70'i inorganik, %20'si organik yapıdan ve %10'u sudan oluşur (35). Kron kısmında mine ile çevrili olup, kök kısmında sement ile çevrilidir. İnorganik yapısının büyük bir bölümünü hidroksiapatit kristalleri ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) oluştururken (36), organik matriksin %90'ı fibriller tip I kolajenden, kalan %10'u fosfoproteinler ve proteoglikanlar gibi proteinlerden oluşur (37).

Dentinin yapısında yoğunlukları milimetrekarede 40.000 ile 70.000 arasında değişen, toplam sayıları milyonlarla ifade edilen dentin tübülleri bulunmaktadır (38). Her bir tübül lümeni, kolajenden fakir, apatit kristallerinden oluşan, oldukça mineralize, yaklaşık 0,5-1 μm kalınlığında peritübüler dentin ile çevrilidir (39). İntertübüler dentin ise, tübüller arasındaki bölgeyi kaplar ve apatit kristalleri ile güçlendirilmiş organik bir matriksten oluşur (40). Tübüllerin çapları mine-dentin birleşiminde 1 μm , pulpal yüzeyde ise 3 μm kadar olabilmektedir. Dentin tübül çapının pulpal yüzeyde daha fazla olması, yoğunluğunun da mine-dentin birleşimine göre daha fazla olduğu anlamına gelmektedir (41). Bir araştırmaya göre, mine-dentin birleşiminde tübüllerin yoğunluğu %1 iken, pulpa odası komşuluğunda bu oran %45'e kadar çıkmaktadır (38). İki yüzey arasındaki bu yoğunluk farkı pulpal hastalıkların patogeneğinde rol oynar.

Dentin tübülleri içinde bulunan dentin sıvısı, içerik bakımından ekstraselüler sıvıya benzemektedir (42). Eğer bu sıvı çürük, restoratif materyal, diş yüzeyindeki çatlak veya atrizyon gibi sebeplerle bakteri toksinleri ile kontamine olursa, dentin tübülleri yoluyla pulpada inflamasyon başlatabilir ve zaman içerisinde dentin tübülleri aracılığıyla mikroorganizma ve ürünleri pulpaya ulaşabilir (43). Özetle, dentin kaybıyla birlikte, kök kanal sistemi mikrobiyal ve kimyasal iritanlara daha açık hale gelmektedir.

2.2. Smear Tabakası

Kök kanallarının şekillendirilmesi sırasında oluşan ve kanal duvarlarında biriken organik ve inorganik bileşenlerden oluşan yapıya smear tabakası denmektedir

(44). İlk olarak 1970 yılında, smear tabakası taramalı elektron mikroskobu kullanılarak görüntülenmiştir (45). Fakat ilk kez tanımlanması, 1975 yılında McComb ve Smith tarafından yapılmıştır (46). Kalınlığı dentin yüzeyinde 1-5 µm olup, dentin tübülleri içerisine ise yaklaşık 4-60 µm kadar uzanabilmektedir (47-49). Kanalin kuru veya ıslak prepare edilmesine, kullanılan frezlere ve eğelere bağlı olarak kalınlığı değişebilmektedir (47-49).

Smear tabakasının uzaklaştırılması ile ilgili endodontide fikir ayrılıkları mevcuttur. Bir görüş, smear tabakasının dentin tübülleri tıkayarak mikroorganizmaların geçişi açısından tıkaç görevi gördüğünü ve böylece sızdırmazlığı iyileştirdiğini savunmaktadır (50). Ancak günümüzde, smear tabakasının nekrotik pulpa, mikroorganizma ve artıklarını içerebilmesi nedeniyle uzaklaştırılması gerekliliği öne çıkmaktadır (46). Ayrıca smear tabakasının uzaklaştırılması, antimikrobiyal ajanların ve kanal dolgu patlarının dentin tübülleriye penetrasyonunu iyileştirmesi nedeniyle de önem arz etmektedir (46, 51-54). Kök kanal duvarından smear tabakasının uzaklaştırılabilmesi için, organik çözücü olan NaOCl ve inorganik yapılarla şelasyon yapan EDTA'nın kombine kullanılması önerilmektedir (55).

2.3. Kök Kanallarının İrrigasyonu

Kök kanal tedavisinin başlıca hedefleri, kök kanal sistemindeki enfeksiyonun ortadan kaldırılması, tekrar oluşumunun önlenmesi ve dişin yapısal dayanıklılığının korunarak ağız içerisinde işlevinin sürdürülmesinin sağlanmasıdır (56). Kök kanal irrigasyonu, bu hedeflere ulaşılmasında önemli rol oynayan bir işlemdir.

Kök kanal irrigasyonunun amaçları aşağıdaki şekilde sıralanabilir:

1. Kök kanal sistemindeki organik ve inorganik doku artıklarını uzaklaştırmak
2. Antimikrobiyal etkinlik göstererek kök kanal sistemindeki mikroorganizmaları elimine etmek
3. Smear tabakasını uzaklaştırmak
4. Kök kanal sisteminin kompleks anatomisi nedeniyle şekillendirme sırasında ulaşılabilen alanları temizlemek

5. Kök kanalı içerisinde kayganlaştırıcı etki sağlayarak kanal aletlerinin çalışmasını kolaylaştırmak ve şekillendirme sırasındaki işlemsel hataların önüne geçmek

Bu amaçlara ulaşabilmesi için bir irrigasyon ajanından beklenen özellikler aşağıdaki şekilde sıralanabilir:

1. Bakterilere karşı bakterisid ve bakteriyostatik etki göstermelidir.
2. Sitotoksik ve alerjen olmamalıdır.
3. Doku çözücü etkinliği bulunmalıdır.
4. Yüzey gerilimi düşük olmalı ve dentin yüzeyine rahatlıkla yayılabilmelidir.
5. Dolgu malzemelerinin sızdırmazlığını ve kanala bağlanmasını olumsuz etkilememelidir.
6. Kullanımı sonrası rezidüel etki göstererek antibakteriyel etkinliğini sürdürebilmelidir.
7. Kronda renklenmeye sebep olmamalıdır.
8. Maliyeti düşük olmalıdır.
9. Saklama koşulları kolay olmalıdır.
10. Raf ömrü uzun olmalıdır.
11. Uygulanabilirliği kolay olmalıdır.

Ancak, günümüzde bu özelliklerin hepsini sağlayan bir irrigasyon ajanı bulunmamaktadır. Bu nedenle, kök kanal tedavisi sırasında irrigasyon ajanlarının kombine kullanımı önerilmektedir.

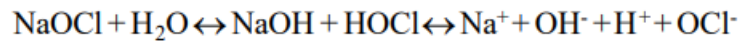
2.3.1. Endodontide Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları

2.3.1.1. Sodyum Hipoklorit

Sodyum hipoklorit (NaOCl), doku çözücü etkisi, antimikrobiyal özelliği, biyofilm tabakasına etki edebilmesi, düşük yüzey gerilimi ile kanal duvarlarına difüzyonunun kolay olması ve ucuz olması gibi avantajları ile endodonti alanında en sık kullanılan irrigasyon solüsyonudur (57). İlk olarak, Dakin solüsyonu olarak da bilinen %0,5 konsantrasyonlu NaOCl'nin, I. Dünya Savaşı sırasında enfekte yaraların dezenfeksiyonu amacıyla kullanılması önerilmiştir (58).

Etki mekanizması

NaOCl'nin sudaki dinamik dengesi Şekil 1'de formülle gösterilmektedir (59). Bu formüle göre, oluşan hipokloröz asit (HOCl) ve hipoklorit iyonları (OCl⁻), doku çözücü özelliği ile organik dokularla tepkimeye girip hücre ölümlerine sebep olmaktadır (59). Aynı zamanda yapısındaki hidroksil (OH⁻) iyonları sayesinde ortamın pH değerini bazik hale getirmektedir. Yüksek pH hücre zarı bütünlüğünü bozarak hücre lizisine yol açmaktadır (59).

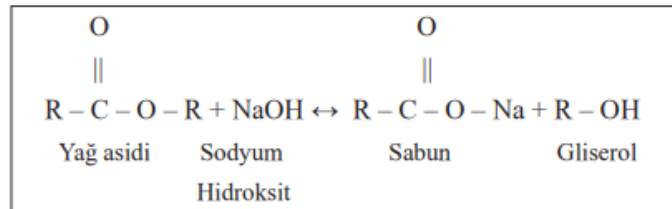


Şekil 1. NaOCl'nin sudaki dinamik dengesi.

Kimyasal olarak çok aktif olan bu solüsyon, aşağıdaki reaksiyonları göstermektedir:

Sabunlaşma reaksiyonu

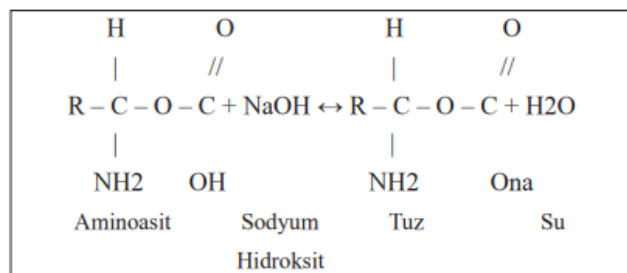
NaOCl, yağ asitlerini parçalar ve onları yağ asidi tuzlarına (sabun) ve gliserole (alkol) dönüştürür (Şekil 2), böylece organik ve yağ çözücü görevi görür (59).



Şekil 2. Sabunlaşma reaksiyonu.

Nötralizasyon reaksiyonu

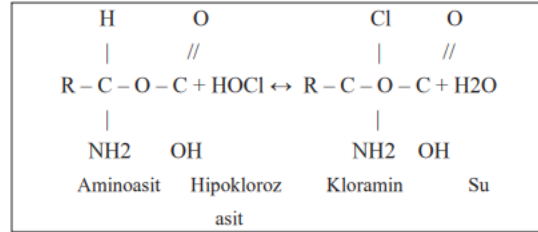
NaOCl, su ve tuz oluşturarak amino asitleri nötralize eder ve hidroksil iyonlarının çıkışı ile pH düşer (Şekil 3) (59).



Şekil 3. Nötralizasyon reaksiyonu.

Kloraminasyon reaksiyonu

NaOCl, doku çözücü görevi görerek protein amino gruplarıyla birleşir, böylece kloraminleri oluşturan klor serbest kalır (Şekil 4). Kloramin hücre metabolizmasını bozar. Güçlü bir oksidan olan klor, sülfidril gruplarının geri dönüşümsüz oksidasyonu ile bakteriyel enzim inhibisyonuna sebep olur (59).



Şekil 4. Kloraminasyon reaksiyonu.

Konsantrasyon

Literatürde, kök kanal irrigasyonu sırasında NaOCl'nin %0,5 ile %8,25 konsantrasyonları arasında kullanımı mevcuttur (60). Yüksek konsantrasyonda NaOCl kullanımının, dentinin elastisite modülünü ve eğilme dayanımını düşürdüğünü gösteren çalışmalar mevcuttur (61). Ayrıca her ne kadar NaOCl'nin yüksek konsantrasyonda antimikrobiyal etkinliği artsa da, sitotoksik etkileri de artmaktadır (62). Düşük konsantrasyonlarda bol miktarda yapılan NaOCl uygulamasının pulpa dokusunu, yüksek konsantrasyondaki NaOCl kadar etkin çözebildiği gösterilmiştir (62).

En çok tercih edilen konsantrasyon %2,5 olmakla beraber, NaOCl konsantrasyonu ile ilgili günümüzde hala çalışmalar yapılmaktadır (7, 63-66). Bir çalışmada, NaOCl'nin %0,5 ile %3'lük konsantrasyonları arasında postoperatif ağrı açısından anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen, postoperatif şişlik oluşumu %3'lük NaOCl kullanımında anlamlı olarak daha sık görülmüştür (63). Başka bir çalışmada, NaOCl'nin %2,5, %5,25 ve %8,25'lik konsantrasyonları arasında postoperatif ağrı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (64). Farzaneh ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (65), geri dönüşümsüz pulpitisli mandibular molar dişlere uygulanan %2,5 ve %5,25 konsantrasyonlu NaOCl solüsyonları postoperatif ağrı açısından değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, tedaviden sonra ilk 72 saat içinde %2,5 konsantrasyonlu NaOCl'nin, %5,25 konsantrasyonlu NaOCl'ye göre anlamlı olarak daha fazla postoperatif ağrıya sebep olduğu bildirilmiştir. Nekrotik pulpalı mandibular

molarlarda NaOCl konsantrasyonunun postoperatif ağrıya etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise, %1,3'lük NaOCl kullanımının, %5,25'lik NaOCl'ye göre daha az postoperatif ağrıya sebep olduğu bildirilmiştir (66).

NaOCl'nin etkinliğini artırmak için aşağıdaki yollara başvurulmuştur:

Solüsyonun sıcaklığının artırılması

Düşük konsantrasyonlu NaOCl çözeltilerinin sıcaklığının artırılması ile, doku çözme kapasitesinin ve antimikrobiyal etkinliğinin arttığı bildirilmiştir (57). Yapılan bir araştırmada, 45°C'deki NaOCl'nin, 20°C'deki NaOCl'ye kıyasla, *Enterococcus faecalis*'i (*E. faecalis*) elimine etmede 100 kat daha etkin olduğu gösterilmiştir (67). Başka bir çalışmada ise, önceden ısıtılmış NaOCl'nin sıcaklığının, solüsyon kök kanal duvarına değdiği anda düşmeye başladığı ve birkaç dakika içinde vücut sıcaklığına ulaştığı bildirilmiştir (68). Bu sebeple, bu yöntem klinik uygulamalarda pek tercih edilmemektedir.

Solüsyonun pH'ının düşürülmesi

Endodontide kullanılan NaOCl solüsyonlarının pH'ı 12'dir (62). NaOCl suda sodyum (Na⁺) ve hipoklorit iyonlarına (OCl⁻) ayrılmakta ve hipokloröz asit (HOCl) ile bir denge kurmaktadır (57). Asidik ve nötr pH'da klorun çoğu HOCl olarak bulunurken, 9 ve üzeri pH'da OCl⁻ şeklinde bulunmaktadır. Hipokloröz asit daha güçlü antimikrobiyal etkinliğe sahipken, OCl⁻ iyonu daha az etkilidir (57). Hipokloröz asit, mikroorganizmaların hayati fonksiyonlarını doğrudan etkileyerek hızla hücre ölümüne neden olmaktadır. Ancak tamponlanıp pH'ı düşürülen çözeltilerin, tamponlanmayanlara göre daha kararsız bir yapıda oldukları görülmüştür (69). Bu durum, raf ömürlerinin kısılmasına sebebiyet verdiği için, bu yöntem pek sık tercih edilen bir yöntem olmamaktadır. Ayrıca bir araştırmada, düşük pH'ın NaOCl'nin antimikrobiyal etkinliğini artırdığı ancak doku çözücü etkinliğini azalttığı bildirilmiştir (70). NaOCl'nin, diğer solüsyonlardan farklı olarak kanal içindeki organik dokuları çözebilme kapasitesinden dolayı, bu etkinliğinin azalması istenilen bir durum değildir. Bu nedenle, bu durum bu yöntemin bir diğer dezavantajı olarak kabul edilebilir.

Solüsyon aktivasyonu

Kök kanal anatomisinin kompleks yapısından dolayı, doku artıkları ve mikroorganizmaları kök kanal sisteminden tamamen uzaklaştırmak tek başına mekanik preparasyonla mümkün olmamaktadır (71). Doğru irrigasyon solüsyonu seçimi ve bunların etkili bir şekilde kullanımı endodontik tedavinin başarısını önemli ölçüde etkileyebilmektedir. İrrigasyon işlemi aşağıdaki yöntemler ile gerçekleştirilebilir:

1. Manuel irrigasyon yöntemleri

1.1. Geleneksel şırınga irrigasyonu

Kök kanal tedavisinde en sık tercih edilen irrigasyon yöntemidir (72). Enjektör kanal içerisinde ileri geri hareket ettirilirken, solüsyon pozitif basınç ile kanal içerisine verilir (73). Bu yöntemde, solüsyon kök kanal sisteminin tüm alanlarına yeterince ulaşamayabilir. Bu sebeple solüsyon etkinliğini artırmak amacıyla ek aktivasyon yöntemleri kullanılabilir.

1.2. Fırça ile irrigasyon

İrrigasyon fırçaları, kanal içerisindeki irrigasyon solüsyonunu manuel olarak aktive etmesi ve kılları yardımıyla kanal duvarındaki debris temizlemeye katkıda bulunmasından dolayı tercih edilen bir yöntemdir (74). Bu yöntemde, fırçanın kıl kısımlarının kopup kanal içerisinde kalabilme olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır.

1.3. Manuel dinamik aktivasyon

Bu yöntemde, şekillendirme işleminin bitiminden sonra kanal irrigasyon solüsyonu ile doldurulur ve ana kon olarak kullanılacak gütaperka kanal içerisine yerleştirilir. Ardından gütaperka kanal içerisinde 2-3 mm ileri geri hareket ettirilir ve bu şekilde irrigasyon solüsyonunun etkinliği artırılır (8).

2. Cihaz aracılı irrigasyon aktivasyon yöntemleri

2.1. Döner fırça ile irrigasyon

Döner başlıklarla kullanılan mikrofırçalar, şekillendirilmiş kök kanallarından debris ve smear tabakasının uzaklaştırılmasını kolaylaştırmak için Ruddle tarafından geliştirilmiştir (75). Bu fırçalar, merkezi bir telden radyal olarak uzanan çoklu kıllara

sahiptirler. Bu yöntem için geliştirilmiş bir diğer cihaz olan Canal Brush, tamamen polipropilenden üretilmiştir. Yüksek esneme özelliği sayesinde manuel olarak da kullanılabilir, ancak 600 rpm'de kullanıldığında daha etkin bir aktivasyon yaptığı bildirilmiştir (76).

2.2. Kök kanal şekillendirmesi sırasında yapılan devamlı irrigasyon yöntemi

Bu yöntemde, solüsyonun dentin duvarları ile olan teması ve hacmi artırılarak, kök kanalı içerisinde daha derine yayılımı amaçlanır. Kullanılan sistemlerden biri olan Quantec-E irrigasyon sistemi, kanal preparasyonu sırasında sürekli irrigasyon sağlaması için bir pompa konsolu, iki irrigasyon rezervuarı ve boru sisteminden oluşmaktadır (77). Ayrıca bu yöntem, şekillendirme ve irrigasyonu aynı anda sağlayan Self Adjusting File sisteminin (Re-Dent-Nova, Ra'anna, İsrail) kullanılması ile de gerçekleştirilebilir (78).

1.1. Sonik aktivasyon

Bu yöntemde, kanal içerisindeki solüsyon, sonik sisteme takılan özel uçların dakikada 1500-6000 Hz titreşim yayması ile aktive edilir (8).

1.2. Ultrasonik aktivasyon

Bu yöntemde, kanal içerisindeki solüsyon, ultrasonik sisteme takılan özel uçların dakikada 25.000-30.000 Hz titreşim yayması ile aktive edilir. Bu sayede, irrigasyon solüsyonu içerisinde akustik akış ve kavitasyon indüklenerek irrigasyonun etkinliği artırılır (79). Bu yöntem kullanılan ultrasonik uç tipine göre ikiye ayrılmaktadır:

a) Pasif ultrasonik aktivasyon: Kesici özelliğe sahip olmayan uçlar ile kanal duvarı değişikliğe uğratılmadan solüsyon aktive edilir (80).

b) Aktif ultrasonik aktivasyon: Irrigasyon aktivasyonu sırasında kesici özelliğe sahip ultrasonik uçlar kanal duvarında değişikliğe neden olabilir (57).

1.3. Negatif basınçlı sistemler ile irrigasyon

Negatif basınç ilkesiyle çalışarak, kök kanal sistemine gönderilen solüsyonun geri emilimini sağlayan EndoVac (Discus Dental, Culver City, CA, ABD) gibi cihazların, irrigasyon solüsyonlarının apikalden periapikal sahaya taşmasını

önleyebildiği bildirilmiştir (81). Bununla birlikte, kök kanal sistemine nüfuz etme ve dezenfeksiyon açısından bu sistemin net bir üstünlüğü gösterilmemiştir (81).

1.4. Lazer ile aktivasyon

Uygun dalga boyuna sahip Erbium-Yttrium Aluminium Garnet (Er:YAG) ve Neodymium-Doped Yttrium Aluminium Garnet (Nd:YAG) gibi lazer sistemleriyle irrigasyon solüsyonları aktive edilerek etkileri artırılabilir (82). Lazerler, bu etkiyi akustik akış mekanizması ile sağlarlar (82).

NaOCl'nin alerjik reaksiyonları

NaOCl'yi oluşturan elementlerden sodyum ve klor insan vücudunun temel yapı taşlarında bulunsa da, NaOCl nadiren alerjik reaksiyonlara neden olabilir (83). Hipokloröz asit, fagositoz sürecinde nötrofiller tarafından da üretilen kimyasal bir maddedir ve fazla üretildiğinde lokal doku hasarı oluşturabilir (84). Hastada NaOCl'nin sebep olduğu aşırı hassasiyet ve alerji durumlarından şüpheleniliyorsa, içinde klor barındıran herhangi bir solüsyon da alternatif olarak tercih edilmemelidir. Alternatif solüsyon olarak iyodin potasyum iyodür gibi içinde klor barındırmayan bir solüsyon düşünülebilir (85).

NaOCl'nin toksisitesi

Yanlışlıkla NaOCl enjeksiyonu yapılırsa ve/veya kök apeksinden NaOCl ekstrüzyonu meydana gelirse bu durum ciddi yaralanmalara sebebiyet verebilir. NaOCl'nin ekstrüzyonundan sonra şiddetli ağrı, komşu yumuşak dokularda ödem, deride renk değişimi, kök kanalında aşırı kanama, ekimoz, geçici/kalıcı anestezi veya parestezi görülmesi mümkündür (86). Bu komplikasyonları yönetmek için klinisyen hastayı bilgilendirmeli ve antiinflamatuvar analjeziklerle tedaviyi desteklemelidir. Ödemi azaltmak için ekstraoral soğuk kompres uygulanması da etkili olabilmektedir (86). Bir gün sonra, dolaşımın uyarılması için ılık kompres ve ağız gargarası uygulamasına geçilebilir. Sürecin takibi için hastalar günlük olarak görülmelidir. Sekonder enfeksiyon oluşumunun önüne geçmek için, antibiyotik de reçete edilebilir (86).

2.3.1.2. Dekalsifiye edici ajanlar (Şelatörler)

Kök kanal sistemindeki organik ve inorganik artıkların tam olarak temizlenebilmesi için, şelatörlerin de irrigasyon sırasında kullanılması gereklidir (44). Şelatlar, metal iyonlarının organik maddelerle halka şeklinde bağ oluşturmasıyla elde edilen kararlı kompleks yapılarıdır. Bu kararlılık, bir çiftten fazla serbest elektrona sahip olan şelatör ile merkezi metal iyonu arasındaki bağın bir sonucu oluşur (87).

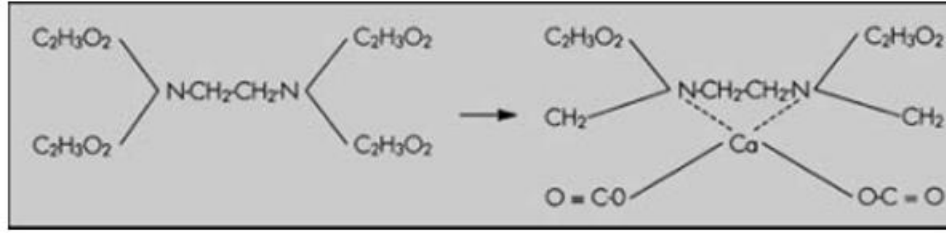
2.3.1.2.1. Etilendiamintetraasetik asit (EDTA)

Endodonti alanında, ilk olarak 1957 yılında, EDTA solüsyonu kullanılmaya başlanmıştır (88). EDTA, bir aminopolikarboksilik asittir, renksizdir ve toz hali suda çözünebilir. Endodontide sıklıkla kullanılan EDTA solüsyonunun içeriği aşağıdaki şekildedir:

1. EDTA'nın disodyum tuzu (17,00 g)
2. Distile su (100,000 mL)
3. 5 M sodyum hidroksit (9,25 mL)

Nygaard–Ostby (88), EDTA ve sodyum tuzu ile dental sert dokunun demineralizasyonunu açıklamak için sabit çözünürlük ürünü prensibini kullanmıştır. Doymuş tuz çözeltisi ve birleştirilmiş çökelti arasında bir denge kurulur, çünkü çökeltiden gelen iyonlar sürekli olarak çözeltilmeye giderken, aynı zamanda çözeltideki iyonlar katı olarak çöker. Nygaard–Ostby'e göre, mineral bileşenleri esas olarak fosfat ve kalsiyum olan dentin gibi liyofobik maddeler bile suda çözülebilir. Bu dengeye EDTA'nın disodyum tuzu ilave edildiğinde, kalsiyum iyonları çözeltiden ayrılır. Bu da dentinden daha fazla iyonun çözünmesine yol açar. Böylece şelatörler dekalsifikasyona sebep olur. EDTA gibi şelatörler kalsiyumla stabil kompleksler oluştururlar (Şekil 5). Bütün uygun iyonlar bağ yaptıktan sonra, denge kurulduğunda daha fazla çözünme olmaz (89). EDTA'nın kendini sınırlayıcı özelliği vardır. Bu özelliğin dentinin demineralizasyonu sırasında oluşan pH değişiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nötral koşullarda, EDTA'nın %99'u EDTAHNa₃ şeklinde bulunur. Hidrojen yoluyla dentinden kalsiyumun uzaklaşması pH düşüşüne sebep olur. Asit

salınımla da EDTA'nın etkisi zamanla düşer (90). Diğer yandan, asidin hidroksiapatit kristalleriyle reaksiyonu dentinde çözünmeye yol açar.



Şekil 5. EDTA'nın şelasyon mekanizması.

EDTA, smear tabakasının mineralize kısmını şelatlayabildiği ve kaldıracabildiği için genellikle bir irrigasyon solüsyonu olarak önerilmektedir (44). Endodontik irrigasyon solüsyonu olarak genellikle %15-17'lik konsantrasyonlarında kullanılmaktadır. EDTA solüsyonunun pH'ı, etkinliğini önemli ölçüde etkilemektedir. Asidik veya nötr pH'larda, kalsiyum iyonlarının bağlanması, hidroksiapatitin ayrışmasını ve şelasyon için kalsiyum iyonu mevcudiyetini artırma eğiliminde olmaktadır (91).

Konsantrasyon ve uygulama zamanına bağlı olarak EDTA'nın, NaOCl irrigasyonu sonrası dentinde erozyona yol açtığı gösterilmiştir (92, 93). Zapparoli ve arkadaşlarının çalışmasında (13), %17 EDTA solüsyonu, %1'lik NaOCl ile kombine veya tek başına kullanıldığında dentin mikrosertliğinde anlamlı ölçüde azalma görülmüştür. Ayrıca Sayın ve arkadaşları (14), EDTA'nın tek başına veya %2,5 NaOCl ile beraber kullanımında dentin mikrosertliğinde anlamlı derecede büyük bir azalmaya yol açtığını doğrulamışlardır. Benzer şekilde, başka bir çalışmada da EDTA'nın dentinin mikrosertliğini anlamlı derecede düşürdüğü gösterilmiştir (15). EDTA'nın farklı zaman aralıklarında farklı konsantrasyonlarda uygulandığının kök kırılmasına etkisini inceleyen bir çalışma, yüksek konsantrasyonlarda uzun süreli EDTA uygulamasının dişin kırılma dayanımını azalttığını bildirmiştir (16). Kullanılan solüsyonlara bağlı olarak dentinin mikrosertliğinin azalması ve dişin kırılma dayanımının azalması, klinik olarak kök kanal tedavisi sonrası dişlerde kırık oluşumu riskini artırabilir. Bu dezavantajlarından dolayı endodontide farklı şelasyon ajanları kullanımı araştırılmaktadır.

2.3.1.2.2. Sitrik Asit

Sitrik asit, kök kanal boşluğundaki inorganik tabakayı çözerek, smear tabakasının uzaklaştırılmasına katkıda bulunur (94). Literatürde, %1 ile %50 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanıldığı görülmektedir (95). Bir çalışmada, toz haline getirilmiş dentin-rezin karışımının, 0,5 M EDTA'ya göre 0,5, 1 ve 2 M sitrik asitte daha fazla çözüldüğü gösterilmiştir (96). Bunun aksine, başka bir çalışmada, ticari EDTA preparatları ile smear tabakasının kanal duvarından daha iyi uzaklaştırıldığı bildirilmiştir (97). Yapılan diğer çalışmalar, sitrik asit ile %15 EDTA arasında smear tabakasını uzaklaştırma kapasitelerinde çok az fark olduğunu veya hiç fark olmadığını göstermişlerdir (98, 99). Bir araştırmada, %6 konsantrasyonundaki sitrik asidin %17 konsantrasyonundaki EDTA'ya göre, intertübüler dentini daha çok demineralize ettiği ve tübüler açıklıkları daha belirgin kıldığı gösterilmiştir (100).

2.3.1.2.3. Etidronik asit

EDTA'ya kıyasla daha zayıf bir şelatör olan etidronik asit (HEDP), temel olarak kemik rezorpsiyonunu önlediği için tıp alanında osteoporoz ve Paget gibi sistemik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (101). Dentinde daha az yapısal değişiklik yapması nedeniyle, endodontide irrigasyon ajanı olarak kullanımı düşünülmüştür (101). Bazı araştırmacılar kombine edilmiş NaOCl-HEDP solüsyonunu irrigasyon ajanı olarak kullanımını önermişlerdir (102). Bu sayede, NaOCl antimikrobiyal etkinliğini korurken HEDP smear tabakasının inorganik bileşenlerini aynı anda uzaklaştırabilir (103, 104). Bu kombine irrigasyon solüsyonu %5 NaOCl ve %18 HEDP'nin 1:1 oranında karıştırılması ile hazırlanmaktadır (105).

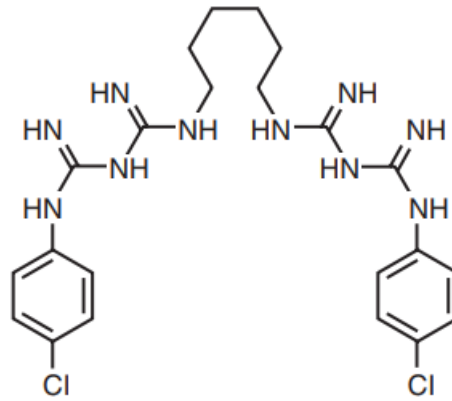
2.3.1.3. Klorheksidin

Katyonik bisguanid olan klorheksidin (CHX), İngiltere'de üretilmiş olup ilk olarak antiseptik krem olarak piyasaya sürülmüştür (106). Geniş antimikrobiyal etkinliğinden dolayı, endodonti alanında irrigasyon solüsyonu ve kanal içi medikament olarak kullanılmaktadır (107). CHX, NaOCl'nin aksine kötü kokuya sahip değildir, periapikal dokulara karşı daha az sitotoksiktir ve kıyafetlerde beyaz

lekelere sebep olmamaktadır. Ancak, doku çözücü özelliğinin bulunmamasından dolayı NaOCl'nin yerine kullanımı önerilmemektedir (107).

Moleküler Yapısı

CHX, bir merkezi heksametilen zinciri ile birbirine bağlanan iki bisbiguanid grubundan oluşan, pH'ı 5.5 ile 7 arasında olan güçlü bir moleküldür (Şekil 6) (107). CHX diglukonat tuzu suda kolayca çözünmektedir ve çok kararludur.



Şekil 6. Klorheksidin'in moleküler yapısı.

Etki mekanizması

Klorheksidin, katyonik yükleri nedeniyle bakterilerin negatif yüklü hücre duvarlarına elektrostatik olarak penetrasyon göstermektedir ve hücre geçirgenliğini artırmaktadır (108). Konsantrasyonuna bağlı olarak, CHX hem bakteriyostatik hem de bakterisidal etkilere sahip olabilmektedir. CHX, yüksek konsantrasyonlarda bir deterjan görevi görür ve bakterisit etkisini hücre zarına zarar vererek gösterir. Düşük konsantrasyonlarda ise bakteriyostatiktir ve düşük moleküler ağırlıklı maddelerin, hücre kalıcı olarak hasar görmeden dışarı sızmasına neden olmaktadır (109).

Antimikrobiyal aktivitesi

Gram pozitif, gram negatif, fakültatif ve anaerob bakterilere ve *Candida albicans* (*C. albicans*) başta olmak üzere bazı mantar türlerine karşı etkili olan CHX, geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliğe sahiptir (106). CHX'in irrigasyon solüsyonu olarak antimikrobiyal etkinliği konsantrasyonuna bağlıdır. %2 konsantrasyonlu CHX'in, %0,12 konsantrasyonlu CHX'ten daha iyi antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu bir çalışmada gösterilmiştir (110). NaOCl ve CHX'in etkinliğinin

karşılaştırıldığı bir meta-analizde iki solüsyonun antimikrobiyal etkinliği arasında anlamlı bir fark bulunmamışken (111), biyofilm üzerine yapılan bir çalışmada, %6'lık NaOCl biyofilmi tamamen uzaklaştırırken, CHX çözeltisinin biyofilm yapısı üzerinde hiçbir etkisi olmadığı görülmüştür (112).

2.3.1.4. Deterjan İçeren İrrigasyon Solüsyonları

İrrigasyon solüsyonu olarak çeşitli kombinasyon ürünleri piyasaya sürülmüştür. Örnek olarak yüzey aktif maddeler (deterjan) ve/veya antimikrobiyal bileşenler ile karıştırılmış EDTA veya sitrik asit solüsyonları verilebilir. Deterjan eklemekteki amaç, irrigasyon solüsyonunun yüzey gerilimini düşürerek dentin tübüllerine penetrasyonunu artırmak ve solüsyonun antimikrobiyal etkinliğini artırmaktır.

2.3.1.4.1. BioPure MTAD

Torabinejad ve Johnson tarafından (113), 2003 yılında geliştirilen BioPure MTAD (Dentsply/Tulsa, Tulsa, OK), %3 doksisisiklin, %4,25 sitrik asit ve deterjan (Tween 80) bileşenlerinden oluşan bir irrigasyon ajanıdır. İçeriğindeki doksisisiklin antimikrobiyal etkinliği sağlarken, sitrik asit şelatör ajan görevi görür. İçeriğindeki deterjan ise, solüsyonun yüzey gerilimini düşürme amacıyla kullanılır (114).

MTAD'nin, sitrik asit içermesi ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olması nedeniyle pH'ı (2,15) düşüktür (12). Uygun kullanım olarak, kök kanal tedavisi sırasında %1,3 NaOCl ve ardından smear tabakasını uzaklaştırmak için MTAD kullanılması önerilmiştir (115). MTAD ile EDTA'nın smear tabakasının inorganik kısmını uzaklaştırma açısından etkinliği kıyaslandığında, anlamlı bir fark bulunmamıştır (116). Ancak yapılan çalışmalarda MTAD'nin içeriğindeki sitrik asitten dolayı daha fazla dentin erozyonuna yol açtığı bazı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (117).

2.3.1.4.2. QMix

QMix (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK), NaOCl'nin ardından final irrigasyon ajanı olarak kullanılmak üzere üretilmiş bir solüsyondur (118). İçerik olarak CHX, deterjan olarak triklosan ve dekalsifiye edici ajan olarak EDTA

içermektedir (119). QMix'in kök kanal duvarından smear tabakası uzaklaştırma kapasitesinin, EDTA'ya benzer olduğu bildirilmiştir (120). İçeriğindeki CHX'ten dolayı, NaOCl'nin ardından kullanıldığında renkli çökelti oluşmaması amacıyla, iki solüsyon arasında distile su ile kök kanalları irrije edilmelidir (121).

2.4. Nanopartiküller

Nanobilim çok küçük boyuttaki yapı ve moleküllerin incelenmesini ve nanoteknoloji de bu yapı ve moleküllerin kimya, biyoloji, fizik, sağlık, materyal bilimi ve mühendislik gibi birçok alanda uygulanmasını ifade eder (122). 'Nano' ön eki Yunanca 'cüce' anlamına gelen kelimedenden türemiş olup, bir metrenin milyarda birine (10^{-9} m) karşılık gelmektedir. Nanoteknolojinin tarihçesine bakıldığında, MS 4. yüzyılda, Romalılar tarafından, cam bir kupada (Lycurgus Kupası) altın ve gümüş nanopartiküllerinin kullanılmış olduğu gösterilmiştir (123). 9-17. yüzyıllarda İslam dünyasında ve daha sonraki dönemlerde Avrupa'da kullanılan parlak, ışıltılı seramiklerde gümüş ve bakır gibi nanopartiküllerin bulunduğu gösterilmiştir (124). 1857 yılında Michael Faraday altın nanopartikülleri üzerine çalışmıştır (123). Nanoteknoloji konsepti ilk olarak 1959 yılında Richard Feynman tarafından tanıtılmıştır (123). Sonrasında, 1974'te, Norio Taniguchi "nanoteknoloji" terimini ilk kez kullanmış ve "nanoteknoloji esas olarak malzemelerin bir atom veya bir molekül tarafından ayrılması, birleştirilmesi ve deformasyonunun işlenmesinden oluşur" şeklinde tanımlamıştır (125). 1991 yılında Drexler, Peterson ve Pergamit, tıp uygulamalarında "nanobotlar" veya "birleştiriciler" terimlerini ve ardından "nanotıp" terimini tanıtmışlardır (126).

Avrupa Komisyonu, bir materyalin nanomateryal olarak kabul edilebilmesi için, içindeki doğal veya üretilmiş partiküllerin %50 veya daha fazlasının en az bir dış uzunluğunun 1-100 nm arası boyutlarda olması gerektiğini bildirmiştir (127). Yüksek yüzey alanı/hacim oranı, ultra küçük boyutları ve yüksek bağlanma kapasiteleri gibi birçok avantaja sahip olan nanopartiküllerin mekanik, optik, kimyasal ve elektriksel özellikleri modifiye edilebilmektedir (128). Etki mekanizmaları, elektrostatik etkileşim ile hücre membranını kesintiye uğratma, metal nanopartiküllerin metal iyon homeostazı ile hücre fonksiyonunu bozma, reaktif oksijen ürünlerinin hücrede oksidatif stres oluşturması ile hücre membranında kesintiye yol açma, amino asitlerin

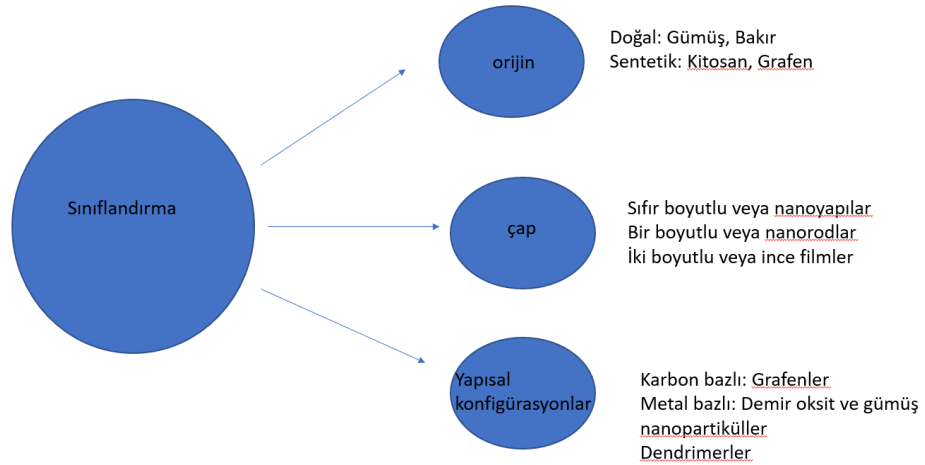
oksidatif sürecini katalize ederek protein ve enzim disfonksiyonuna sebep olma, elektriksel yol ile nükleik asit molekülleri ile etkileşime girerek DNA replikasyonu sürecini bozma olarak sıralanabilir (128).

Diş hekimliğinde nanopartiküller, düşük sitotoksisiteli, antimikrobiyal özellikleri ve gelişmiş protein-yüzey etkileşimleri nedeniyle kullanılabilir (129). Nanopartiküllerin biyomateryaller ile birleştirilmesi, materyallerin optik, kimyasal, elektriksel ve mekanik özelliklerini iyileştirebilir (130). Örneğin, kompozit dolgu maddeleri ve adeziv sistemler içerisinde nanopartiküllerin eklenmesi ile bu materyallerin gerilme ve sıkışma dayanımı gibi mekanik özellikleri iyileştirilebilmektedir (129). Nanopartikül içerikli biyomateryaller, diş remineralizasyonu, yumuşak ve sert doku rejenerasyonu, anestezi solüsyonlar, hipersensitivite tedavileri, periodontal hastalık ve restoratif diş tedavisi dahil olmak üzere çeşitli diş hekimliği uygulamaları için kullanılır hale gelmiştir (131). Protetik diş tedavisi alanında, protezlerin içeriğinde bulunan nanopartiküller protez stomatiti ihtimalini düşürmektedir ve protezin kırılmaya karşı direncini artırmaktadır (132). Titanyum implantların yüzeylerine yapılan nanopartikül kaplamalar, antibakteriyel etkileri nedeniyle peri-implantitis enfeksiyonunu önlemektedir (129). Nanopartiküller, periodontal ligament hücrelerini stimüle edebilir ve periodonsiyumun rejenerasyonunda etkili olabilir (129). Ayrıca, nanopartiküller, kontrollü ilaç dağıtım sistemlerine eklendiğinde, tümoral oluşumlara karşı hücre apoptozisine sebep olabilir ve tümörün yayılımını engelleyebilir (129).

Endodonti alanında nanopartiküllere ilişkin araştırmalar antimikrobiyal etkinlik, dentinin mekanik özelliklerini iyileştirme, biyofilm eliminasyonu, dentin aşırı duyarlılığının tedavisi ve rejenerasyon tedavisi konularını kapsamaktadır (133-135). Nanopartiküller, kanal dolgu patlarında, kök tamir materyallerinde ve irrigasyon solüsyonlarında kullanılabilir (136). Ayrıca rejenerasyon tedavisinde de nanopartiküllerin çeşitli formları kullanılmaktadır (136). Bir çalışmada, nano hidroksiapatit içerikli nanofibrlerin in vitro ve in vivo modellerde dental pulpa kök hücrelerinin odontoblast benzeri hücrelere doğru farklılaşmasını artırdığı bildirilmiştir (137). Bir başka çalışmada, dental pulpa kök hücrelerinin odontojenik farklılaşmasının nanofibröz polilaktik asit (NF-PLLA) yapı iskelesi, kemik morfogenetik protein 7 ve deksametazon kombinasyonunun tek başına deksametazondan daha etkili bir şekilde

indüklediğini göstermektedir (138). Nanopartiküllerin kök kanalında enfeksiyona sebep olan mikroorganizmalara karşı etkili olduğu bilinmektedir (17). Bu nedenle, son yıllarda endodonti alanında nanopartiküllerin irrigasyon ve kanal içi medikamentlerin içeriğinde kullanımı popüler hale gelmiştir (17). Irrigasyon sırasında nanopartiküllerin kullanımı, küçük boyutlarından dolayı kök kanalının kompleks anatomisine ve dentin tübüllerine solüsyonun daha iyi diffüze olmasını sağlayabilir (136). Nanopartikül içerikli solüsyonların, enfekte kök kanallarında sıklıkla bulunan *E. Faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinlik sağladığı gösterilmiştir (139, 140). Ayrıca, kanal irrigasyonu sırasında nanopartikül içerikli solüsyon kullanımının dentinin mekanik özelliklerini iyileştirebileceğini bildiren çalışmalar vardır (141-144).

Nanopartiküller köken aldıkları yapıya, yapısal konfigürasyonlarına ve çaplarına göre sınıflandırılırlar (128). Köken aldıkları yapıya göre doğal ve sentetik, çaplarına göre sıfır, bir ve iki boyutlu olarak, yapısal konfigürasyonlarına göre karbon bazlı, metal ve dendrimer olarak ayrılırlar (Şekil 7).



Şekil 7. Nanopartiküllerin sınıflandırılması.

2.4.1. Metal İçerikli Nanopartiküller

Gümüş nanopartiküller (AgNP), antimikrobiyal etkinliğe sahip materyallerin, elektronik ve kozmetik ürünlerin ve kompozit fiberlerin yapısında kullanılabilir (145). AgNP biyomateryallerin içerisine eklenerek, mikrobiyal biyofilm oluşumunu azaltabilir (146). Geniş yüzey alanı ve küçük boyutları sayesinde, bakteri hücre zarını kolayca kesintiye uğratarak antimikrobiyal etkinlik sağlarlar (129). Bakterisidal etkinliğin, boyutu 10 nm'den küçük olan nanopartiküllerde daha

fazla olduğu gösterilmiştir (147). AgNP, DNA replikasyonunu önleyerek bakterilerin çoğalmasını da engelleyebilir (148). AgNP biyoyumludur, düşük toksisite ve uzun süreli antimikrobiyal etkinlik gösterir (123).

Kanal dolgu patlarının içeriğine AgNP eklendiğinde, düşük konsantrasyonlarda yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği gösterilmiştir (149). Kanal dolgu patlarına AgNP eklenmesi, *E. faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ve *Escherichia coli* (*E. coli*)'ye karşı antimikrobiyal etkinliği artırmıştır (150). Ayrıca, AgNP içerikli pat kullanımının, dentin remineralizasyonunu indüklediği bildirilmiştir (151). Bunların yanında, nanopartikül eklenmesinin kanal dolgu patlarının fiziksel özellikleri üzerinde olumsuz etki yaratmadığı gösterilmiştir (150). Başka çalışmalarda ise AgNP ile kaplamanın, merkezi kanal dolgu maddesi olan gutaperkanın, antimikrobiyal özelliğini artırdığı bildirilmiştir (152, 153).

Altın nanopartiküller, şekil ve yüzey özelliklerine bağlı olarak kanser teşhisi, tedavisi ve radyoterapide kullanılmaktadır (154). Altın nanopartiküller, antibakteriyel ve antifungal etkinlik gösterir (146). Altın nanopartiküllerin, diğer metal içerikli nanopartiküllerden daha düşük toksisiteye sahip olduğu bildirilmiştir (155).

Demir oksit nanopartiküller, manyetik rezonans görüntüleme (MRI), ilaç uygulamaları ve gen terapisi gibi alanlarda kullanılırlar (156). Ayrıca bu nanopartiküller, hücrelerde biyosensör olarak işlev gören benzersiz optik özellikleri nedeniyle çeşitli teşhis ve görüntüleme tekniklerinde kullanılırlar (157).

Bir çalışmada, AgNP ile karıştırılmış kalsiyum hidroksit (Ca(OH)_2) patı, üçlü antibiyotik pat (TAP) ile karşılaştırıldığında, anlamlı fark olmasa da, daha yüksek bir antibiyofilik etkisi göstermiştir (158). Bir başka çalışmada, kanal içi medikament olarak kullanılan AgNP içerikli Ca(OH)_2 patının, AgNP içermeyen Ca(OH)_2 patına kıyasla daha fazla renklenmeye yol açmadığı belirtilmiştir (159). Diğer bir çalışmanın sonucunda, kök kanal dezenfeksiyonu sırasında AgNP'lerin Nd: YAG lazer ile uygulanması önerilmiştir (160). Altın nanopartikülleri ile yapılan bir çalışmada ise, dental verniklerin içine eklenen nanopartiküllerin mine remineralizasyonunu önemli ölçüde indüklediği bulunmuştur (161). Ancak, metal içerikli nanopartiküller renklenmeye neden olabildikleri için diş hekimliği alanında kullanımları sınırlıdır.

2.4.2. Biyoaktif Cam Nanopartikülleri

İlk olarak 1970'lerde üretilen biyoaktif cam nanopartikülleri, değişen konsantrasyonlarda silisyum dioksit (SiO_2), sodyum oksit (Na_2O) ve fosfor pentoksit (P_2O_5) ana bileşenlerinden oluşmaktadır (162). Alkalin pH'ı ve osmotik basınca etkisi antimikrobiyal etkinliğini sağlamaktadır (123). Ayrıca, kalsiyum-fosfat çökeltisi ile demineralize dentin yüzeyinin remineralizasyonunu sağlamaktadır (128). Bir çalışmada, biyoaktif cam nanopartiküllerinin *E. faecalis*'e karşı etkili olduğu bulunmasına rağmen, etkinliğinin CHX ile birlikte kullanıldığında önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (163). Başka bir çalışmada da, biyoaktif cam nanopartiküllerinin, *E. faecalis* biyofilmine karşı oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (164). Bir çalışmada biyoaktif cam nanopartikülleri kök ucu dolgu materyali içeriğine ilave edilmiş ve materyalin fizikokimyasal özelliği ve biyoyumluluğu, mineral trioksit agregattan (MTA) daha üstün bulunmuştur (165).

2.4.3. Karbon Bazlı Nanopartiküller

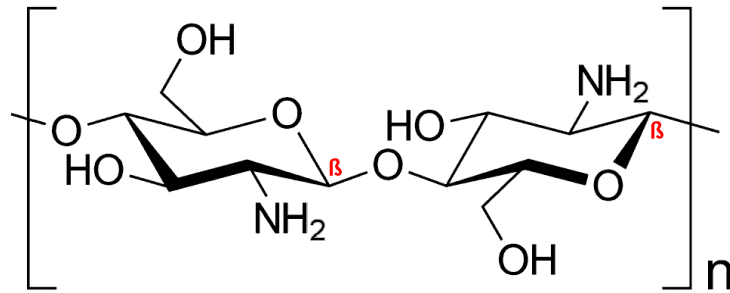
Karbon bazlı nanopartiküller, ana sınıfı olan karbon nanotüpler, tek duvarlı ve çok duvarlı türleri içerir (166). Karbon nanotüpler fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde ilaç taşıyıcılığı ve doku mühendisliği uygulamaları gibi biyomedikal alanlarda kullanılırlar (167). Ayrıca stabilite değerleri yüksektir. Araştırmacılar, olumlu fizikokimyasal özellikler sergilemesi ve ayrıca antimikrobiyal etkinliğe sahip olmasından dolayı karbon nanopartiküllerinin endodontide kanal içi medikament olarak kullanılabilen bir antibiyotik olan amoksisilin içine ilave edilebileceğini göstermiştir (168). Bununla birlikte, uzun süreli kullanımla beraber canlı dokular için toksik oldukları tespit edilmiştir, bu sebeple karbon nanopartiküllerinin güvenilirliği şüphelidir (169).

2.4.4. Kitosan

Kitosan, yengeç ve karides kabuğunda bulunan kitinin deasetilasyonu yoluyla elde edilen, biyoçözünür bir polisakkarittir (Şekil 8) (19). Kitin doğal bir madde olduğu için, kullanımı hem ekolojik hem de ekonomik olarak tercih edilen bir materyaldir (170). Kitosan, yüksek biyoyumluluk, biyoaktivite, seçici geçirgenlik,

adsorpsiyon kapasitesi, antimikrobiyal aktivite ve şelasyon özelliği gösterir (171). Bunların yanında kitosanın, antioksidan, antitümoral ve antiinflamatuvar özellikleri de bulunmaktadır (172). Kitosan, toz (mikro ve nanopartiküller), hidrojel, film, iskele ve kapsül gibi çeşitli formlarda bulunması nedeniyle tıp alanında kullanımı artmıştır (173). Kitosan nanopartikülleri, başta deri ve kemik olmak üzere farklı doku tiplerinin rejenerasyonunda ve ayrıca birçok biyomedikal ve farmasötik uygulamada kullanılmaktadır (174).

Molekül ağırlığı, deasetilasyon derecesi, partikül boyutu ve yüzey alanı gibi faktörler, kitosanın kalitesini belirlemektedir (175). Kitosanın molekül ağırlığı, viskozite ve çözünürlüğünü etkilediği için önemli bir parametredir (176). Kitosanın molekül ağırlığı 20 ila 1200 kDa arasında değişmektedir (177). Molekül ağırlığına göre kitosan düşük, orta ve yüksek molekül ağırlıklı olarak üçe ayrılır. Molekül ağırlığı ışık difüzyonu ile belirlenebilir ancak viskozimetri yöntemi en sık kullanılan yöntemdir (178).



Şekil 8. Kitosanın formülasyonu.

Kitosanın ekstraselüler matriksin moleküler bileşenine benzer yapıya sahip hidrofilik bir polimer olduğu ve çok sayıda hidroksil ve amin gruplarından oluştuğu gösterilmiştir (179). Kitosan asidik pH'a sahip olmasından dolayı metal iyonlarına anlamlı derecede şelasyon kapasitesi gösterir (22). Kitosan çok iyi antibakteriyel, antiviral ve antifungal özelliklere sahiptir (23). Bu özellikleri sayesinde, diğer nanomalzemelere göre daha sık biyomedikal alanda kullanımı tercih edilmektedir (180). Kitosan polikationik yapısı sayesinde, negatif yüklü bakteri yüzeyiyle etkileşime girerek bakterinin hücre permeabilitesinin değişimine ve intraselüler bileşenlerin sızmasına neden olur (23-25). Bunu, kitosanın amonyum iyon ((NH₃)⁺) grupları ile hücre zarı bileşeni olan fosfolipidin fosforil grupları arasındaki

elektrostatik etkileşim sağlamaktadır (181). Ayrıca, kitosan mikroorganizmaların çekirdeğindeki DNA'ya bağlanarak mRNA sentezini inhibe eder ve böylece protein sentezini engeller (25). Endodonti alanında, antimikrobiyal etkinliği nedeniyle, kanal içi medikament olarak sıklıkla kullanılan Ca(OH)_2 ile karşılaştırıldığında, kitosan nanopartiküllerinin enfekte kök kanal sisteminde bulunan dirençli bir mikroorganizma olan *E. faecalis*'i elimine etmede etkili olduğu gösterilmiştir (182).

Bir araştırmada, kitosanın nanopartikül oluşturarak CHX'i tutabildiği ve en az 48 saat boyunca sürekli salınımını sağladığı, glutatyon (GSH) ile konjuge edilerek ilaç salınımı yapabildiği ve kitosan-GSH-CHX üçlüsünün diş yüzeylerine tutunabildiği gösterilmiştir (183). Bu nedenle, kitosan nanopartikülleri, günlük ağız bakımına yönelik terapötik ajanlara ilave edilebilir ve erken çürük lezyonlarının remineralizasyonunda etkili olabilir (184). Düşük moleküler ağırlıklı kitosan nanopartiküllerinin, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) üzerinde yüksek antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (185). *S. mutans*'ın çürükle en sık ilişkilendirilen mikroorganizmalardan biri olduğu göz önünde tutulduğunda, kitosan nanopartiküllerinin kullanımı diş çürüklerini önlemede etkili bir yol olabilir.

Literatürde, kitosan nanopartiküllerinin epoksi rezin, biyoseramik ve Ca(OH)_2 esaslı kanal dolgu patlarının içeriğine eklendiği çalışmalar mevcuttur (186-188). Del-Carpio ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (186), kitosan nanopartikülleri Ca(OH)_2 içerisine eklendiğinde, patın *E. faecalis* üzerine etkinliğinin arttığı görülmüştür. Del-Carpio ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada (187) ise, epoksi rezin ve kalsiyum silikat bazlı iki farklı patın içeriğine kitosan nanopartikülleri eklendiğinde kontrol grubuna kıyasla çok daha düşük miktarda biyofilm oluştuğu görülmüştür. Pattanaik ve arkadaşları (188), %2 konsantrasyonlu kitosan nanopartikülleri eklenmiş kanal dolgu patlarının, *C. albicans* üzerindeki antifungal etkinliği artırdığını bildirmiştir. Antimikrobiyal ve antiplak özelliklerinden dolayı kitosan nanopartikülleri, konsantrasyona bağlı olarak flor iyonlarının salınımını ve materyalin dayanıklılığını artırdığı için cam iyonomer simanın içeriğine de ilave edilebilmektedir (189).

Kitosanın irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldığı birçok çalışma literatürde mevcuttur (Tablo 1). Bir çalışmada, kök yüzeyine çapraz bağlanmış biyopolimerik

nanopartikül uygulaması sonrası fonksiyonel gerilme dağılım paterni değerlendirilmiştir (143). Çalışmada kök kanal preparasyonu ve %2,5 NaOCl ile %17 EDTA uygulaması sonrası, kök dentini suda çözünen karboksimetil kitosan solüsyonu (CMCS) içindeki kitosan nanopartikülleri ve etil karbodiimid (EDC)/ N-hidroksüsinimid (NHS) ile 8 saat boyunca çapraz bağlanmıştır. Çalışma sonucunda, çapraz bağlı kitosan uygulamasının, prepare edilmiş kök dentinindeki gerilme dayanım kuvvetlerinin dağılımını iyileştirdiği bulunmuştur (143). Aydın ve arkadaşları (190), %6 NaOCl irrigasyonu sonrası, %0,2 kitosan, Qmix ve %17 EDTA uygulamasının bir kalsiyum silikat esaslı kök kanal dolgu patının dentin tübülü penetrasyonuna etkilerini konfokal lazer taramalı mikroskopu (CLSM) kullanarak araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda, kitosan ile yapılan final irrigasyon en düşük kanal dolgu patı penetrasyonu ile ilişkilendirilmiş ve buna sebep olarak, kitosanın smear tabakasını diğer ajanlar kadar uzaklaştırmamış olma ihtimali gösterilmiştir. Diğer yandan, Silva ve arkadaşlarının (191), çekilmiş dişlerin kök kanallarını %1'lik NaOCl ile yıkadığı ve ardından %0,2 kitosan, %15 EDTA, %10 sitrik asit veya %1 asetik asit ile irrigasyon yaptığı çalışmalarında, solüsyonların smear tabakası uzaklaştırma kapasiteleri değerlendirilmiş ve EDTA ve kitosanın smear uzaklaştırma kapasiteleri yüksek ve birbirlerine benzer bulunmuştur. Benzer şekilde, Kamble ve arkadaşlarının çalışmasında (192), %3 NaOCl irrigasyonu sonrası %17 EDTA veya %0,2 kitosan ile kanallar yıkanmış ve taramalı elektron mikroskopu altında yapılan incelemelerde kitosanın smear uzaklaştırma açısından etkili bir solüsyon olduğu bulunmuştur. Özlek ve arkadaşları (170), %5,25 NaOCl irrigasyonu sonrası, %0,2 kitosan, %17 EDTA veya salin ile kök kanallarını yıkamışlar ve bir kök kanal dolgu patının itme-bağlanma dayanımını analiz etmişler ve kitosan grubu için, EDTA grubuna göre anlamlı derecede daha fazla bağlanma dayanımı değeri bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada, farklı solüsyonların dentinin mikrosertliğine etkileri incelenmiş ve EDTA ile kitosan solüsyonlarının dentin mikrosertliğini düşürdüğü, NaOCl'nin ise dişlerin mikrosertliğini değiştirmediği gösterilmiştir (193). Diğer yandan, başka bir çalışmada dentin kolajeni kimyasal ve fotodinamik çapraz bağlı CMCS ile muamele edilmiş ve kolajenin yapısal özelliklerinde değişimleri ve enzimatik çözünmeye karşı direnci araştırılmıştır (21). Çalışmada kimyasal çapraz bağlama %2,5 glutraldehit, 1-etil-3-(3-dimetil aminopropil)-karbodiimide (EDC)/ N-

hidroksisüksinamid (NHS) (2:1; EDC/NHS) veya %1 CMCS+EDC/NHS ile 6 saat süre boyunca uygulanarak gerçekleştirilmiştir (21). Fotodinamik çapraz bağlama ise rose bengal (RB) veya %1 CMCS+RB ile 15 dakika uygulanarak ve ışıkla 6,5 dakika (540 nm, 20 J/cm²) aktive edilerek yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda, CMCS ile çapraz bağlı kolajenin sertliğinin ve direncinin arttığı gösterilmiştir (21). Kishen ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada (194) ise, kitosan nanopartikülleri (KNP) ile çapraz bağlanan dentin kolajeninin stabilitesi ve kolajenaz enzimine direnci değerlendirilmiştir. KNP kimyasal olarak 5 mM EDC ve 5 mM NHS kullanılarak RB ile çapraz bağlanmıştır. RB ile çapraz bağlı kitosanın fotoaktivasyonu canlı *E. faecalis* sayısını azaltmış ve biyofilm tabakasına zarar vermiştir (194). Nanopartiküllerin biyofilme penetre olabilmesi için boyutlarının 50 nm'den küçük olarak hazırlanması önerilmektedir (195). Ayrıca, RB ile çapraz bağlı kitosanın fotoaktivasyonu dentin kolajeninin mekanik direncini artırmıştır (21). Benzer şekilde bir başka çalışmada da, dentinin kitosan nanopartikülleri ve çapraz bağlayıcı ajanlar ile muamelesi sonrası bakteriyel yıkıma daha dirençli hale geldiği gösterilmiştir (142). Kitosan, içeriğindeki yüksek nitrojen (%6,89) seviyesinden dolayı şelasyon ajanı olarak da kullanılabilir (196). Bir çalışmada, kitosan-sitrik asit solüsyonunun kanal duvarından smear tabakasını uzaklaştırma kapasitesi araştırılmıştır (197). Kitosan-sitrik asit solüsyonunun smear tabakası uzaklaştırma etkinliği, %10 sitrik asitten anlamlı ölçüde daha iyi bulunmuştur (197).

Tablo 1. Kök kanal irrigasyonunda kitosan kullanan çalışmaların özeti

Yayın	Kullanılan solüsyonlar	Solüsyon miktarı	Uygulama süresi	İncelenen etki
Silva ve ark. (2012) (198)	NaOCl ara irrigant Kitosan	1 mL 5 mL	3 dk 5 dk	Smear tabakasının uzaklaştırılması
Silva ve ark. (2013) (191)	NaOCl+EDTA NaOCl+Kitosan NaOCl+Sitrik asit NaOCl+Asetik asit	5 mL	3 dk	Smear tabakasının uzaklaştırılması
Perochena ve ark. (2015) (171)	NaOCl NaOCl+EDTA NaOCl+EDTA+KNP NaOCl+KNP	3 mL	NaOCl 20dk EDTA 3dk KNP 3dk	Antibakteriyel etkinlik
Kishen ve ark. (2016) (142)	Gluteraldehit EDC/NHS KNP+EDC/NHS KNP	100 µL	12 saat	Çapraz bağlı kitosanın kolajen stabilizasyonuna etkisi
Thota ve ark. (2017) (87)	Kitosan+ 1 dk NaOCl EDTA+ 1 dk NaOCl	5 mL	-	İrrigasyon sonrası kök kanal dolgu patınının dentin tübül penetrasyonuna etkisi
Saha ve ark. (2017) (193)	NaOCl EDTA Kitosan Morinda Citrifolia Juice	-	15 dk	Dentin mikrosertliğine etkisi
Jaiswal ve ark. (2017) (199)	NaOCl Asetik asit Propolis Kitosan Klorheksidin Salin	3 mL	10 dk	Antibakteriyel etkinlik
Yadav ve ark. (2017) (200)	Kitosan Klorheksidin NaOCl Salin	1 mL	10 dk	Antibakteriyel ve antifungal etkinlik
Li ve ark. (2018) (143)	Ara irrigant NaOCl Son irrigant EDTA Karboksümetil kitosan	6 mL 1 mL -	3 dk 8 saat	Dentin kolajenlerinin nanopartiküllerle çapraz bağlanması sonrası kolajenin mekanik stabilizasyonu
Özlek ve ark. (2019) (170)	NaOCl+Kitosan NaOCl+EDTA NaOCl+Salin	5 mL	NaOCl 1 dk, diğerleri 2 dk	İrrigasyon sonrası kök kanal dolgu patınının itme-bağlanma dayanımına etkisi
Aydın ve ark. (2019) (190)	NaOCl ara irrigant EDTA Qmix Kitosan	20 mL 5 mL	1 dk	İrrigasyon sonrası kök kanal dolgu patınının dentin tübül penetrasyonuna etkisi

dk: dakika, EDC/NHS:1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimide/N-hidroksisüksinamid, EDTA: Etilendiamidtetraasetik asit, KNP: Kitosan nanopartikülü, NaOCl: Sodyum hipoklorit

2.5. Çapraz Bağlayıcı Ajanlar

Kolajen fibriller, ekstraselüler matriksin ana mekanik bileşenidir (201). Dentinin organik matriksinin %90'ını tip I kolajen fibriller oluşturmaktadır (37). Kolajen molekülleri biyolojik olarak parçalanabilir, biyouyumlu ve kendi kendine birleşen fibril oluşturma özelliklerine sahiptir (202). Doğal kolajenin potansiyeli zayıf mekanik dayanıklılığı, yetersiz termal stabilitesi ve enzimlere karşı direncinin düşük olması sebebi ile sınırlıdır (202). Bu sebeple kolajen bozunmasını azaltmak ve mekanik stabiliteyi geliştirmek için kolajenin moleküler yapısını değiştirebilen dış kaynaklı kimyasal, fiziksel veya biyolojik çapraz bağlama yöntemleri araştırılmaya başlanmıştır (203, 204). Çapraz bağlama uygulandığında kolajenin sertliğinde, gerilme kuvvetinde ve sıkıştırma dayanımında artış görülmektedir (205-209). Kolajen yapı iskeletinin mekanik özelliklerini iyileştirmek ve bakteri kaynaklı kolajenaza karşı dayanıklılığını artırmak için çapraz bağlayıcı ajanlar kullanılabilir (210).

Kimyasal çapraz bağlayıcı ajanlar ve kolajen arasındaki bağ yoluyla, kolajen fibrilleri arasında ve içinde eksojen çapraz bağlar meydana gelmektedir (202). Genellikle kısa sürede çapraz bağlama yapması ve yüksek dayanıklılığı sebebiyle glutaraldehit en sık kullanılan kimyasal çapraz bağlama ajanıdır (27). Glutaraldehit, kolajen fibrillerinin peptidil lizin/hidroksilizin amino gruplarıyla reaksiyona girerek, kendileri ve kolajen molekülleri arasında çapraz bağlar oluşmasını sağlar (211). Ancak çapraz bağlamadan sonra, kolajende asılı kalan molekülleri yüksek sitotoksisite gösterdiği için farklı ajan arayışlarına gidilmiştir (29, 212).

Glutaraldehyde alternatif olarak, suda çözünür ve biyouyumlu bir karbodiimid olan etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid (EDC), amino bağlarını çapraz bağlamak için kullanılabilir (213). Ayrıca, N-hidroksisüksinimit (NHS) çapraz bağlantı etkinliğini artırmak için stabilizatör olarak kullanılabilir (213). Ancak, bu kimyasal ajanların uygulama süreleri zaman alıcıdır ve belirli konsantrasyonların üzerindeki EDC ve NHS sitotoksisite riski oluşturabilir (214).

Reaktif oksijen molekülleri bakterilerin proteinlerine, membran lipidlerine ve nükleik asitlerine zarar vererek hücre ölümüne yol açmaktadır (215). Fotodinamik terapi, bu reaktif oksijen moleküllerinin oluşumuna yol açan biyouyumlu bir ışığa duyarlılaştırıcıyı aktive etmek için belirli bir ışık dalga boyunu kullanmaktadır (216).

Ayrıca, reaktif oksijen molekülleri, hastalıklı veya yapısı değişmiş kolajenin enzimatik bozunmaya karşı direncini artırabilen kolajen fibrilleri arasındaki çapraz bağların sayısını artırmaktadır (216). Fotodinamik terapi, özellikle *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliğin artması için nanopartiküllerle birlikte geliştirilmiştir (136). Bir çalışmada, fotodinamik terapi RB ile konjuge edilmiş kitosanın, sadece endotoksinleri inaktive etmekle kalmayıp aynı zamanda bir gün sonra mikroorganizmaları tamamen ortadan kaldırdığı (217) ve ayrıca kolajen fibriller arası çapraz bağlanmayı artırarak dentin matriksinin stabilitesini artırdığı bildirilmiştir (21).

2.5.1. Genipin

Genipin, gardenya bitkisinin meyvesinden doğal yollarla oluşan bir organik bileşiktir ve kolajen çapraz bağlama ajanı olarak etkili olduğu gösterilmiştir (30). Ayrıca çalışmalarda, glutraldehite kıyasla anlamlı derecede daha düşük sitotoksisite gösterdiği ve inflamatuvar reaksiyona neden olduğu bulunmuştur (32, 33, 218). Bunun yanında, genipinin antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etkileri olduğu da bildirilmiştir (34). Genipin, kolajen moleküllerinde molekül içi veya moleküller arası çapraz bağlar oluşturmak için lizin, hidroksilizin veya arjinin serbest amino gruplarıyla reaksiyona girebilir (219).

Çekilmiş dişler üzerinde yapılan bir çalışmada, genipin %0,5 konsantrasyonda 1 saat uygulandığında, kompozit rezinin dentine bağlanma dayanımı üzerinde anlamlı bir iyileştirme oluşturmamıştır (220). Bu sonuç, uygulama süresi yetersizliği ile açıklanmıştır (220). Bir diğer çalışmada, farklı genipin konsantrasyonlarının (%0,01, %0,1 ve %0,5) diş renklenmesine ve dentin stabilizasyonuna etkileri incelenmiştir (221). Sonuç olarak, hem renklenmede ve hem kolajenaz enzimine karşı kolajen stabilitesinde konsantrasyona ve zamana bağlı bir artış görülmüştür (221). Benzer şekilde başka bir çalışmada, %0,625 konsantrasyonlu genipinin hem diş dokusunda renklenmeye sebep olduğu, hem de kontrol grubuna göre, kolajen stabilizasyonunu anlamlı derecede artırdığı bildirilmiştir (222). Bir çalışmada, genipinin dental pulpa hücrelerinin odontojenik farklanmasını uyardığı gösterilmiş ve kolajenin yüzey pürüzlülüğü ile sıkışma dayanımını olumlu yönde etkilediği bulunmuştur (223). Bu çalışmada, genipin 0,001, 0,01 ve 0,1 mmol/L olmak üzere farklı dozlarda uygulanmış ve 0,1 mmol/L genipinin kolajeni renklendirdiği tespit edilmiştir (223). Çapraz

bağlayıcı ajanların dentinin gerilme dayanımına etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise, %0,625 konsantrasyonlu genipinin dentinin gerilme dayanımını kontrol grubuna ve glutraldehite kıyasla anlamlı olarak artırdığı bildirilmiştir (35).

Günümüzde çürüğün yalnızca bakteriyel ürünlerle temastan kaynaklanan diş minerallerinin fiziksel-kimyasal çözünmesiyle değil, aynı zamanda dentin organik matriksinde bulunan kolajenazların indüklenmesiyle de oluşabileceği bilinmektedir (224). Dentin kolajenazları kolajen çözünmesine ve sonuç olarak lezyonun ilerlemesine yol açar (225). Kolajenin bu çözünmesi, yeterli bir kolajen ağına bağlı olan dentinin remineralizasyonunu engeller (226). Bu sebeple, bu çözünmeyi en aza indirmek, dentini güçlendirmek ve böylece olası kök kırıklarının da önüne geçmek klinik olarak öneme sahip bir konudur.

Kitosan nanopartikül uygulamasının, kanal tedavisinin rutin irrigasyon protokolleri ile beraber yapılmasının kök dentini üzerine etkilerine dair literatürde yeterli bilgi yoktur. Çalışmamızın amacı, NaOCl ve/veya EDTA solüsyonları ile irrigasyonun ardından, tek başına veya genipin ile çapraz bağlama sonrası kitosan nanopartikül uygulamasının, enzimatik çözünmeye karşı, kök dentininin mikrosertliğine, yüzey özellikleri ve kimyasal yapısındaki değişimine etkilerini incelemektir.

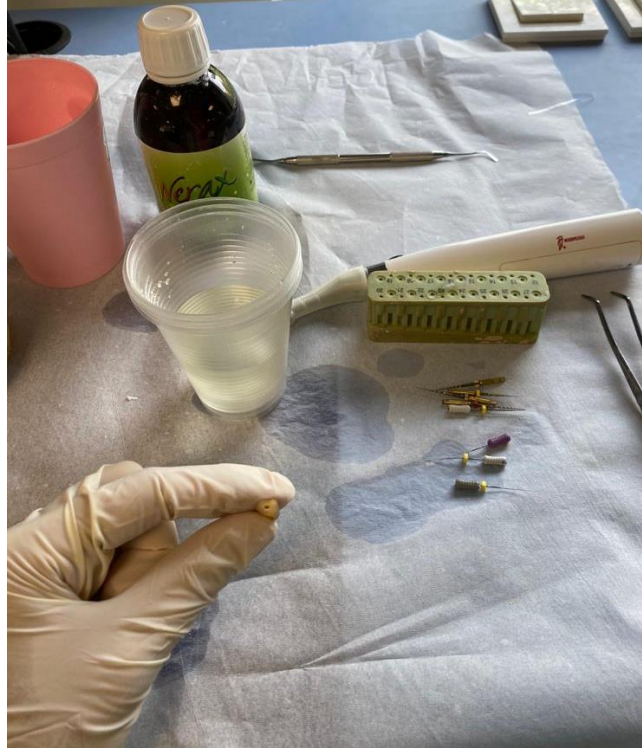
3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu laboratuvar çalışması GO 20/504 numaralı, 09.06.2020 tarihli Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından uygun bulunmuş (Ek-1) ve Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından THD-2020-18995 numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışmamızın deney ve analizleri Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ar-Ge Laboratuvarı, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Temel Bilimler Anabilim Dalı, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı ve Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir.

3.1. Örneklerin Hazırlanması

Bu çalışmada, yeni çekilmiş 90 adet kök gelişimini tamamlamış, çürüksüz, kök rezorpsiyonu bulunmayan, kök kırığı veya çatlak içermeyen, benzer uzunluk ve çapa sahip tek köklü ve tek kanallı insan dişleri kullanıldı. Dişlerin tek kanallı olduğu, meziodistal ve bukkolingual yönden çekilen periapikal radyograflarla doğrulandı. Her bir örneğin uzunluğunun 15 mm olması amacıyla, kron kısımları soğuk su altında elmas separe ile uzaklaştırıldı. Elde kalan kök örneklerinin kanal yolu devamlılığı 15 numaralı K-tipi eğe (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) ile kontrol edildi ve ardından kök kanalları Protaper döner eğe sisteminin (Dentsply Maillefer) SX eğesi ile başlayarak, son eğe F3 eğesi olacak şekilde şekillendirildi (Şekil 9). Bu çalışmada, dental kullanım için üretilmiş %5 NaOCl (Werax, İzmir, Türkiye) ve %17 EDTA (Werax, İzmir, Türkiye) solüsyonları kullanıldı. Her eğe arasında, kanallar %5 konsantrasyonlu NaOCl ile irrije edildi. Kanal şekillendirilmesi bittikten sonra, örnekler koronal yüzeyleri açıkta kalacak şekilde akrilik rezin (Meliodent, Bayer Co., Almanya) içine gömüldü (Şekil 10). Her bir örneğin yatay olarak ilk 1 mm'si koronal düzensizlikleri gidermek ve standardizasyon sağlamak amacıyla hassas kesit alma cihazında (IsoMet® 1000 Precision Sectioning Saw, Buehler, Lake Bluff, IL, ABD) uzaklaştırıldı (Şekil 11). Ardından örneklerden mikrosertlik analizi için 3 mm kalınlığında, fouirer dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) için 1,5 mm kalınlığında ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi için 1,5 mm kalınlığında

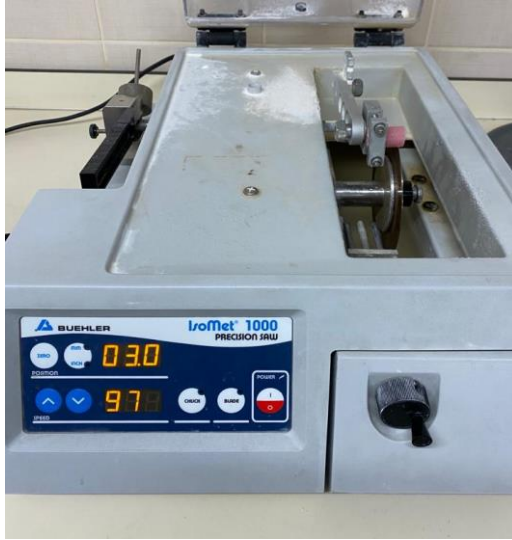
olmak üzere üç yatay kesit alındı (Şekil 12). Elde edilen kesitler, dentin yüzeylerinin pürüzlerden arındırılması amacıyla, akan su altında polisaj makinesi (Mecapol P230, Presi, Fransa) kullanılarak silisyum karbür aşındırıcı kağıtları (180, 320, ve 600 grit) (Buehler, Lake Bluff, IL, ABD) ile polisajlandı.



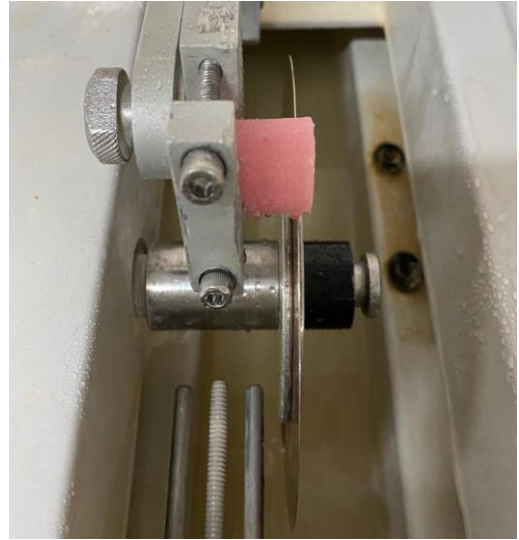
Şekil 9. Örneklerin hazırlanması.



Şekil 10. Örneklerin akrilik rezin içine gömülmesi.



Şekil 11. Kesit alma cihazı.



Şekil 12. Dentin kesitlerinin alınması.

Mikrosertlik analizi için 90 kesit, FTIR analizi için 30 kesit ve SEM analizi için 36 kesit olacak şekilde ayrılan örnekler, final irrigasyonda uygulanacak solüsyonlara göre, rastgele olacak şekilde aşağıdaki 6 gruba dağıtıldı:

Grup 1 (%5 NaOCl+%17 EDTA)

Grup 2 (%5 NaOCl+%0,5 KNP)

Grup 3 (%5 NaOCl+%17 EDTA+%0,5 KNP)

Grup 4 (%5 NaOCl+%0,5 KNP +%0,5 GE)

Grup 5 (%5 NaOCl+%17 EDTA+%0,5 KNP +%0,5 GE)

Grup 6 (Distile su)

3.2. Kitosan Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Kitosan nanopartikülleri (KNP) içeren solüsyonun hazırlanması, önceki bir çalışmanın rehber alınmasıyla gerçekleştirildi (227). KNP hazırlama sürecinde nanopartikül boyutu, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli (ZP) olmak üzere 3 parametre esas alındı (227). Literatüre göre, nanopartikül boyutunun, KNP solüsyonu içerisinde yapılan ölçümlerde, 10-1000 nm arasında yer alması beklenmektedir (228). Endodonti çalışmaları incelendiğinde, genellikle 70-200 nm boyutları arasında nanopartiküllerin elde edildiği görülmektedir (171, 190). PDI, solüsyon içerisindeki nanopartiküllerin boyut olarak birbiriyle tutarlı olması anlamına

gelmektedir. Bu indeksin büyük olması nanopartikül boyutlarının geniş bir aralıkta, küçük olması ise istenildiği şekilde dar bir aralıkta olması anlamına gelmektedir (227). ZP, solüsyonun yükünü ifade etmektedir. Kitosan pozitif yüklü olduğu için, bu değer artan pozitif yükte olması, solüsyonun stabilitesini ifade etmektedir (229). Bir diğer deyişle, ZP'si yeterince yüksek olan KNP solüsyonu, agregat oluşturmayacak ve günler sonra bile kullanılabilir halde olacaktır.

3.2.1. Kitosan Nanopartiküllerinin Sentezi

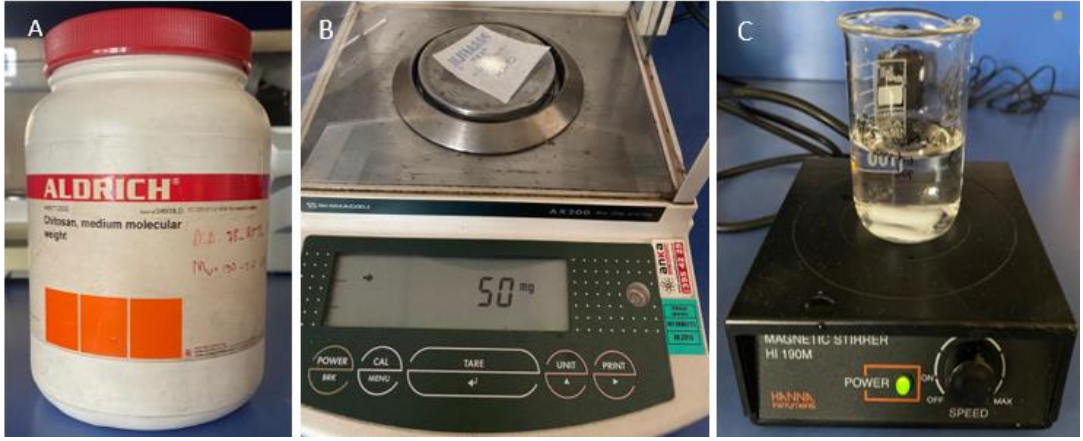
KNP solüsyonu, sodyum tripolifosfat (TPP) ile beraber iyonik jelasyon yöntemi ile üretildi (227). Kitosan, TPP ve asetik asit konsantrasyonlarının nanopartikül boyutu ve dağılımı üzerindeki etkilerini belirleyip, stabil bir solüsyon hazırlayabilmek için, farklı konsantrasyonlar kullanılarak hazırlanan farklı deney setleri ile farklı günlerde birçok kere solüsyon hazırlandı ve analizleri yapıldı. Örnek alınan çalışmalara göre, 200 nm'ye kadar, PDI değerinin 1'in altında olduğu ve ZP yükünün +15'in üzerinde olması hedeflenen KNP, aşağıdaki adımlar izlenerek elde edildi (171, 227, 230):

Çalışma boyunca istenilen konsantrasyonda istenilen miktarda herhangi bir solüsyon hazırlanması için $M1 \times V1 = M2 \times V2$ formülü kullanıldı. Literatür bilgisine dayanarak, sodyum klorür (NaCl) varlığında hazırlanan solüsyonun daha stabil olması beklenmektedir (231). Bu nedenle, hassas tartı (Hanna Instruments, HI 190, RI, ABD) kullanılarak ağırlık ölçümü yapılan tuz, ultrasaf su içerisinde çözdürülerek 0,1M NaCl hazırlandı (Şekil 13). 1 mg/mL konsantrasyonunda kitosan solüsyonu hazırlamak için 50 mg orta molekül ağırlıklı kitosan tozu (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, ABD) NaCl içeren ultrasaf su içerisinde çözdürüldü (Şekil 14). Kitosanı çözdürmek için %0,175 konsantrasyonlu asetik asit (Riedel-de Haen, Seelze, Almanya) hazırlandı (Şekil 15A). Çözdürme işlemi, manyetik karıştırıcı (HI 190, Hanna Instruments, RI, ABD) üzerinde, %0,175 asetik asit solüsyonundan damla damla kitosan içeren solüsyonunun üzerine eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kitosan tozu tamamen çözünene kadar asetik asit eklenmeye devam edildi. Kitosan tamamen solüsyon içerisinde çözüldükten sonra, oda sıcaklığında 24 saat manyetik karıştırıcı üzerinde bırakıldı (Şekil 15B). Elde edilen 1 mg/mL kitosan solüsyonu ana stok olarak kullanıldı. 1 mg/mL ana stoktan, 0,5 mg/mL konsantrasyonlu kitosan solüsyonu hazırlandı. pH'ın asidik olması daha

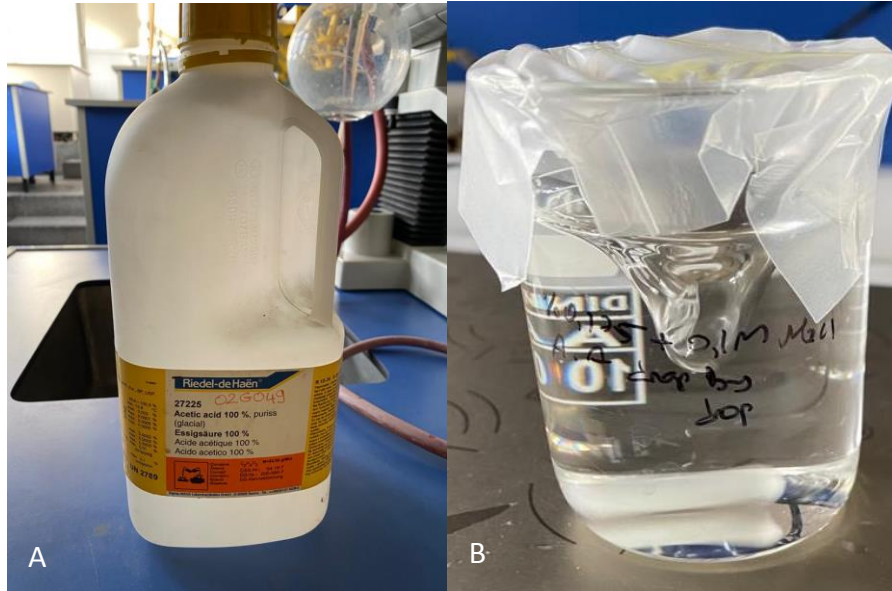
küçük boyutlu nanopartiküllerin oluşumunu sağlamaktadır (227). Bu nedenle, pH değerini 5 olarak ayarlayabilmek için, duruma göre sodyum hidroksit (NaOH) veya hidroklorik asit (HCl), solüsyon içerisine mikropipetler yardımıyla ilave edildi. 1 mg/mL konsantrasyonunda TPP solüsyonu, TPP'nin ultra saf su ile karıştırılması ile ana stok olarak hazırlandı. Ardından, 1 mg/mL ana stoktan, 0,35 mg/mL konsantrasyonlu TPP solüsyonu elde edildi. pH değerini 9 olarak ayarlayabilmek için, duruma göre NaOH veya HCl, solüsyon içerisine mikropipetler yardımıyla ilave edildi. Kitosan ve TPP oranı 3'e 1 olacak şekilde, bir beher içerisine ilk önce hazırlanan kitosan solüsyonu eklendi ve üzerine insülin enjektörü yardımıyla, damla damla olacak şekilde, TPP solüsyonu ilave edildi. Karışım 700 rpm'de manyetik alanda hazırlandıktan sonra, 30 dk manyetik karıştırıcıda bırakıldı (Şekil 16). Bu sürenin sonunda, elde edilen karışım santrifüj cihazında 14000 rpm'de 30 dk santrifüj edildi ve üstte kalan kısım (süpernatant) uzaklaştırıldı.



Şekil 13. Hassas tartıda NaCl miktarının ölçümü.



Şekil 14. A) Toz formundaki kitosan, B) Kitosan miktarının ölçümü, C) NaCl içeren ultrasaf suda kitosanın çözündürülmesi.



Şekil 15. A) Asetik asit B) Manyetik karıştırıcı üzerinde 24 saat bırakılan solüsyon.



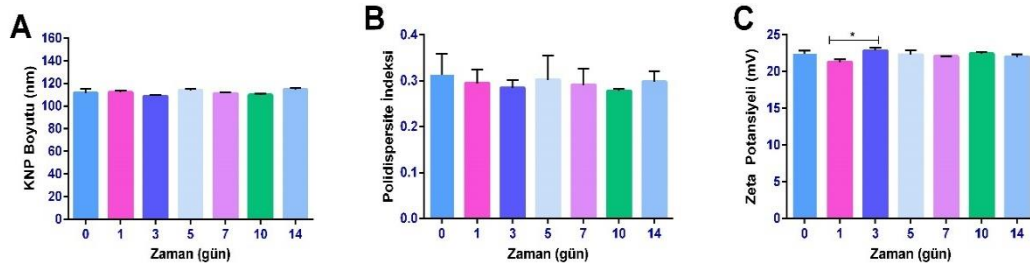
Şekil 16. Manyetik karıştırıcı üzerinde, farklı deney setlerine ait, TPP ve kitosan içeren solüsyonlar.

3.2.2. Kitosan Nanopartiküllerin Karakterizasyonu ve Stabilitésinin Tespit Edilmesi

Sentezlenen KNP'nin stabil olup olmadığının tespit edilmesi için farklı zaman dilimlerinde (0, 1, 3, 5, 7, 10 ve 14 gün) Malvern Nano ZS ZetaSizer (Malvern Instrument, İngiltere) ile ölçüm yapılarak partikül boyutu, PDI ve ZP değişimleri ölçüldü (Şekil 17). Partikül boyutu, PDI ve ZP parametrelerinin günler içerisindeki değişimi istatistiksel olarak Kruskal Wallis testi kullanılarak analiz edildi ($p=0,05$). 3. gündeki ZP değeri, 1. güne göre anlamlı olarak fazlaydı ($p<0,05$). Bunun dışında, analiz sonuçlarında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Bu sonuçlar, elde edilen partikülün stabil olduğunu göstermektedir (Şekil 18).



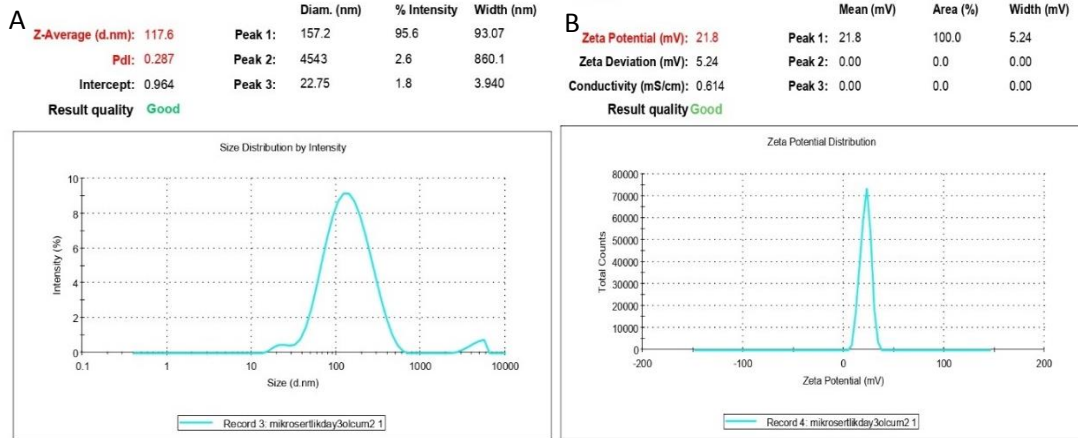
Şekil 17. Malvern Nano ZS ZetaSizer.



Şekil 18. A) Boyut stabilite grafiği B) PDI stabilite grafiği C) ZP stabilite grafiği.

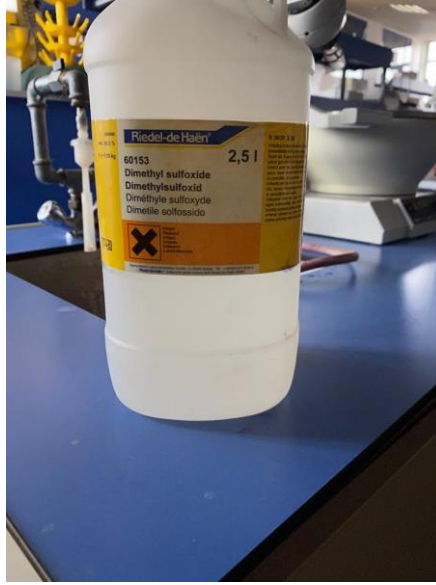
3.2.2.1. Kitosan Nanopartiküllerin Boyut, Polidispersite ve YüzeYükünün Tespit Edilmesi

Kitosan nanopartikül solüsyonunu hazırlamak için izlenecek adımlar yukarıda anlatıldığı şekilde oturtulduktan sonra, bu adımlar takip edilerek, deneylerde kullanılacak olan nihai solüsyon hazırlandı. Elde edilen final solüsyonun stabilitesi, aynı gün, Malvern Nano ZS ZetaSizer (Malvern Instrument, İngiltere) ile nanopartikül boyutu, PDI ve ZP ölçümleri 3 kere yapıлып ortalaması alınarak değerlendirildi. Ölçümlerin birinden elde edilen sonuç grafiği Şekil 19’da gösterilmektedir.



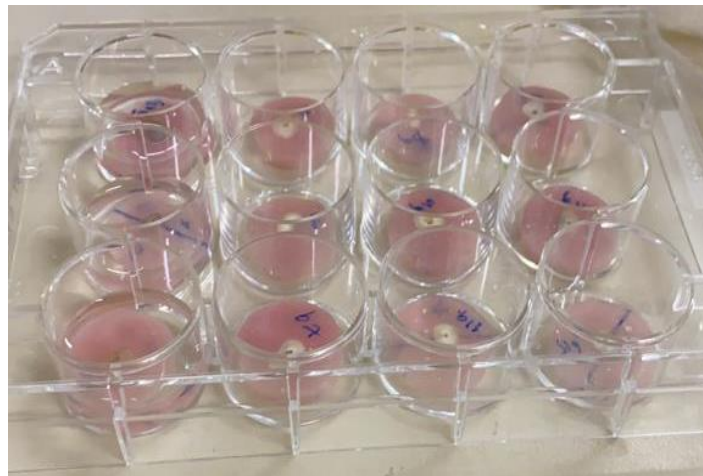
Şekil 19. Deneylerde kullanılan KNP solüsyonuna ait ölçümler A) Boyut ve PDI grafiği, B) ZP grafiği.

%0,5 konsantrasyonlu genipin elde etmek için, toz halindeki genipin ($\geq 98\%$ (HPLC), 125 mg, (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) dimetil sülfoksitte (Riedel-de Haen, Seelze, Almanya) çözdürüldü (Şekil 20).

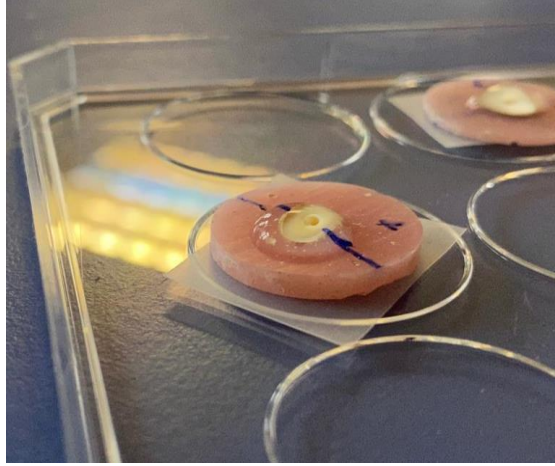


Şekil 20. Dimetil sülfoksit.

Tüm solüsyonlar üretildikten sonra, yukarıdaki final irrigasyon prosedürleri örneklere uygulandı. Bunun için, dentin diskleri 12-kuyulu plaklara yerleştirildi (Şekil 21). Final irrigasyon solüsyonları, her biri 1 mL olacak şekilde 1 dakika süre boyunca disklerin kuyularda bekletilmesi ile uygulandı. Her bir solüsyon ile muamele sonrasında, diskler kuyulardan çıkarılıp distile su ile yıkandı. Genipin içeren gruplarda, diskler genipin solüsyonu ile 30 dakika muamele edildi (Şekil 22) ve sürenin sonunda genipin etkinliğini sonlandırmak amacıyla diskler distile su ile yıkandı.



Şekil 21. Final irrigasyon solüsyonlarının uygulanması.

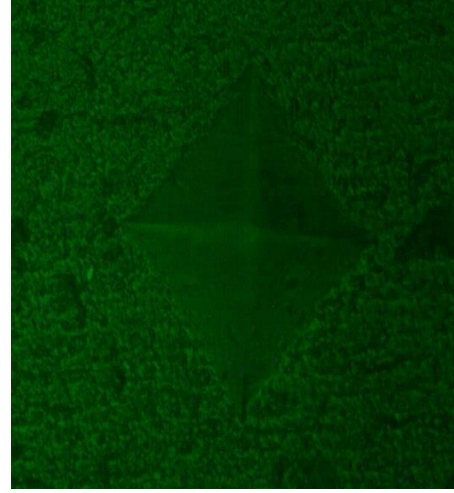


Şekil 22. Genipin uygulaması.

3.3. İrrigasyon Solüsyonlarının Dentin Üzerindeki Etkisinin Tespit Edilmesi

3.3.1. Mikrosertlik Analizi

Örneklerin başlangıç dentin mikrosertlik değerleri, final irrigasyon prosedürlerinden önce Vickers sertlik ünitelerinde (VHU) HMV mikrosertlik cihazı (Shimadzu Corporation, Japonya) ile ölçüldü (n=15) (Şekil 23A). Mikrosertlik değerleri, orta kök seviyesindeki pulpa-dentin ara yüzünün 100 µm derinliğinde, kök kanal lümenine paralel 3 farklı noktadan yüzeye dik gelecek şekilde 300 g yük ve 20 sn bekletme süresi parametreleri kullanılarak ölçüldü (Şekil 23B). Her bir örneğin mikrosertlik değeri, 3 farklı noktadan elde edilen değerlerin ortalaması alınarak hesaplandı.

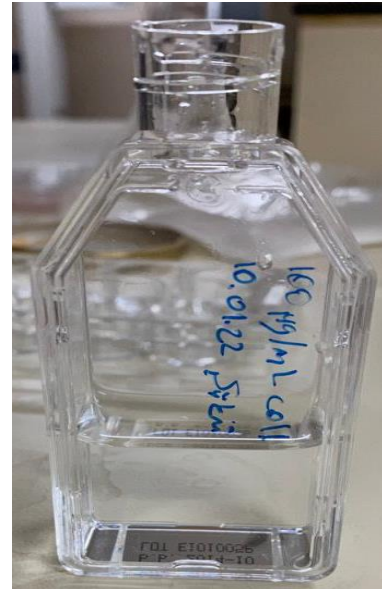


Şekil 23. A) Mikrosertlik cihazı, B) Yük uygulandıktan sonra dentinin görüntüsü.

Final irrigasyon protokolleri sonrası, aynı yöntem izlenerek örneklerin mikrosertlik değerleri tekrar ölçüldü. Sonrasında, tüm örnekler 50 mM tris(hidroksimetil)-metil-2-aminoetan sülfonat (TES) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ile hazırlanan 125 CD/mg kolajenaz enzimi (Sigma Aldrich) içerisinde etüv ortamında 37°C sıcaklıkta 24 saat süre ile bekletildi ve örneklerin mikrosertlik değerleri bir kez daha ölçüldü (Şekil 24 ve 25).



Şekil 24. Etüv.



Şekil 25. 100 mg/mL kolajenaz.

3.3.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Örneklerin kimyasal yapılarındaki değişimleri incelemek amacıyla, örneklere zarar gelmeden tekrarlı ölçümler yapabilmek için, zayıflatılmış toplam yansıma-fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (ATR-FTIR) kullanıldı (n=5). Analiz, 600-4000/cm tarama aralığını kapsayan 2/cm çözünürlüğünde Thermo Scientific Nicolet iS50 FTIR spektrometresi (Nicolet Instrument Technologies, Inc, Madison, WI, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 26). Elde edilen FTIR spektrumları, OMNIC Spectra Software (Nicolet) kullanılarak analiz edildi. Bu çalışma için değerlendirmeye alınan kızılötesi bantlar, Amid III ($1298-1216\text{ cm}^{-1}$), fosfat (PO_4^{-3}) ($1170-1000\text{ cm}^{-1}$) ve karbonat (CO_3^{-2}) ($888-816\text{ cm}^{-1}$) idi. Taban çizgisi düzeltmesinden sonra, bu bantların altındaki alanlar belirlendi. Alan hesaplaması sonucu elde edilen değerler ile Amid III/ PO_4^{-3} (organik) ve CO_3^{-2} / PO_4^{-3} (inorganik) oranları hesaplandı. Böylece dentinin organik ve inorganik bileşenlerindeki bağlı değişiklikler analiz edildi. Sonrasında tüm örnekler, 50 mM TES ile hazırlanan 125 CD/mg kolajenaz enzimi içerisinde 24 saat süre ile 37°C etüv ortamında bekletildi ve FTIR analizleri tekrarlandı.



Şekil 26. FTIR cihazı.

3.3.3. Yüzey Özellikleri Analizi

Örneklerin yüzey morfolojisi ve elemental içeriğini değerlendirmek amacıyla, enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS) ile donatılmış taramalı elektron mikroskobu (SEM) (JSM-6400, JEOL Ltd., Tokyo, Japonya) ile analizler gerçekleştirildi (Şekil 27). Bunun için örnekler analiz öncesi altın ile kaplandı (n=3). Her bir örneğin dentin yüzeyinin elemental seviyeleri ölçüldü ve kalsiyum (Ca), fosfor (P), oksijen (O) ve karbon (C) seviyeleri Excel dosyasına aktararak hesaplamalar yapıldı. Sonrasında grupta yer alan altın ile henüz kaplanmamış başka örnekler (n=3), 50 mM TES ile hazırlanan 125 CD/mg kolajenaz enzimi içerisinde 24 saat süre ile 37°C etüv ortamında bekletildi, ardından altın ile kaplandı ve SEM/EDS analizleri yukarıdaki şekilde tekrar gerçekleştirildi. Ayrıca, kitosan nanopartiküllerinin görseli için, alüminyum folyo üzerinde kurumaya bırakılan solüsyondan da SEM görüntüsü elde edildi.



Şekil 27. Taramalı elektron mikroskobu.

3.4. Verilerin Analizi

Sonuçlar SPSS programında istatistiksel testler ile analiz edildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov–Smirnov testi ile analiz edildi. Mikrosertlik analizi için, parametrik testlerden tekrarlı ölçümlerde varyans analizi ve Bonferroni düzeltmesi kullanıldı ($p=0,05$). FTIR ve SEM/EDS analizleri için, parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis ve Wilcoxon testleri kullanıldı ($p=0,05$).

4. BULGULAR

4.1. Mikrosertlik Analizi

Mikrosertlik analizine ait veriler Tablo 2’de gösterilmektedir. Sonuçlara göre, Grup 1’de NaOCl ve EDTA uygulaması mikrosertliğin azalmasına neden oldu ($p<0,05$) ve kolajenaz uygulamasının ardından mikrosertlikte azalma görüldü ($p<0,05$). Grup 2’de NaOCl ve KNP uygulaması mikrosertlikte anlamlı bir değişiklik oluşturmadı ($p>0,05$) ancak kolajenaz uygulamasının ardından mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,05$). Grup 3 ve Grup 4’te final irrigasyon solüsyonları ile muamele sonrası mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$). Bu gruplarda kolajenaz uygulaması sonrası, mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir azalma görülmekle beraber ($p<0,05$), başlangıç mikrosertlik değerleri ile kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Grup 5’te final irrigasyon solüsyonları ile muamele sonrası mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$). Bu grupta kolajenaz uygulaması sonrası mikrosertlik değerleri ile final irrigasyon sonrasındaki değerler arasında anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$), kolajenaz uygulamasının ardından ölçülen mikrosertlik değerleri, başlangıç mikrosertlik değerlerine göre anlamlı olarak artış gösterdi ($p<0,05$). Grup 6’da, distile su uygulaması sonrası başlangıç mikrosertlik değerleri ile final irrigasyon sonrası ölçülen mikrosertlik değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$), kolajenaz sonrası mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,05$).

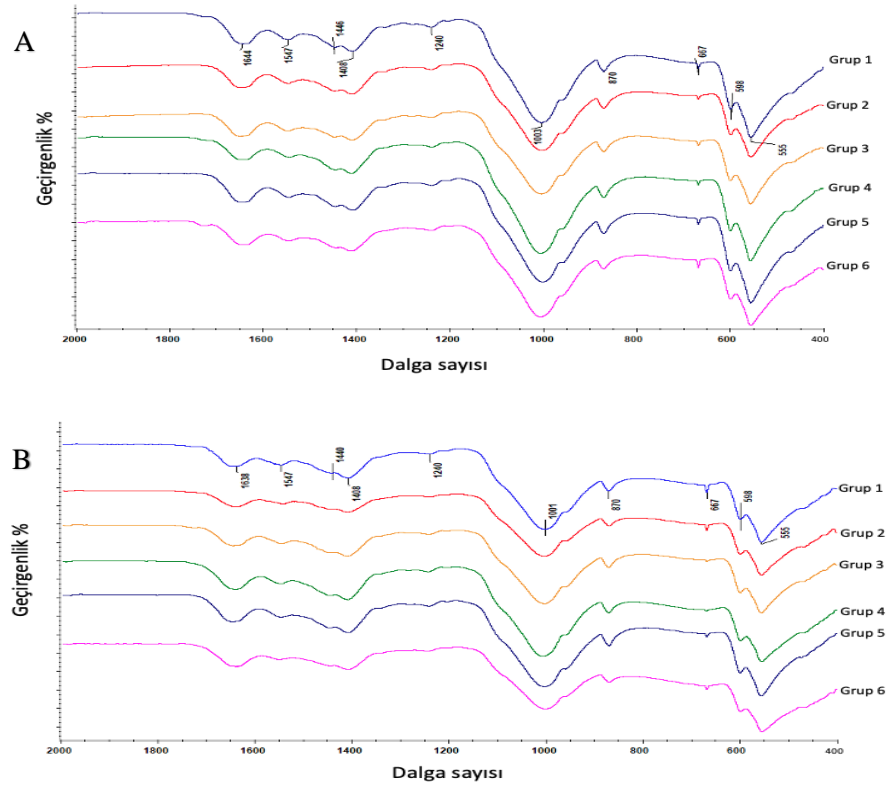
Tablo 2. Gruplardaki dentin disklerine ait mikrosertlik değerleri (ortalama±standart sapma)

Gruplar	Başlangıç	Final İrrigasyon Sonrası	Kolajenaz Sonrası
Grup1 (NaOCl+EDTA)	33,352 ^a ±0,551	29,127 ^b ±0,629	24,616 ^c ±0,642
Grup 2 (NaOCl+KNP)	31,346 ^a ±0,554	30,007 ^a ±0,632	23,603 ^b ±0,621
Grup 3 (NaOCl+EDTA+KNP)	30,860 ^a ±0,542	33,851 ^b ±0,618	30,263 ^a ±0,619
Grup 4 (NaOCl+KNP+GE)	30,858 ^a ±0,57	32,612 ^b ±0,651	30,435 ^a ±0,665
Grup 5 (NaOCl+EDTA+KNP+GE)	30,761 ^a ±0,568	33,515 ^b ±0,649	32,543 ^b ±0,645
Grup 6 (Distile Su)	30,7 ^a ±0,675	30,583 ^a ±0,77	25,474 ^b ±0,786

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit, GE: Genipin, KNP: Kitosan nanopartikülü, NaOCl: Sodyum hipoklorit. / Farklı harf, her bir grup için satır içerisindeki istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

4.2. FTIR Analizi

FTIR analizine ait veriler Tablo 3'te gösterilmektedir. Sonuçlara göre, kolajenaz uygulaması öncesi Grup 6'nın Amid III/PO₄⁻³ oranı, Grup 2 ve 4'ten anlamlı olarak fazlaydı (p<0,05). Kolajenaz uygulaması öncesi gruplar arasında CO₃⁻²/ PO₄⁻³ oranı açısından anlamlı bir fark yoktu (p>0,05). Kolajenaz uygulaması sonrası, Grup 5'in Amid III/PO₄⁻³ oranı Grup 1 ve 2'den anlamlı olarak fazlaydı (p<0,05). Kolajenaz uygulaması sonrası, gruplar arasında CO₃⁻²/ PO₄⁻³ oranı açısından anlamlı bir fark yoktu (p>0,05). Kolajenaz uygulaması Grup 1, Grup 2 ve Grup 6'da Amid III/PO₄⁻³ oranında anlamlı bir azalmaya neden olurken (p<0,05), diğer gruplarda anlamlı bir fark oluşturmadı (p>0,05). Kolajenaz uygulaması, grupların CO₃⁻²/ PO₄⁻³ oranında anlamlı bir değişime neden olmadı (p>0,05). Kolajenaz öncesi ve sonrası FTIR spektrum grafikleri Şekil 28'de gösterilmektedir.



Şekil 28. Her bir gruptan temsili örneklere ait dentin üzerinden alınan A) kolajenaz öncesi ve B) kolajenaz sonrası karşılaştırmalı olarak çizdirilmiş FTIR spektrumları.

Kolajenaz sonrası Amid I (1644-1638 cm⁻¹) ve Amid III band şiddetinin (1240 cm⁻¹) Grup 1, 2 ve 6'da hem diğer gruplara göre hem de kolajenaz öncesine göre daha az olduğu görülmektedir. Kolajenaz sonrası fosfat (PO₄⁻³) (1003-1001 cm⁻¹) ve karbonat (CO₃⁻²) (870 cm⁻¹) band şiddetinin, kolajenaz öncesine göre grup 5 hariç tüm gruplarda azaldığı dikkat çekmektedir.

Tablo 3. FTIR analizi sonrası gruplardaki median (minimum-maksimum) değerleri

Gruplar	Final İrrigasyon Sonrası		Kolajenaz Sonrası	
	Amid III/PO ₄ ⁻³	CO ₃ ⁻² /PO ₄ ⁻³	Amid III/PO ₄ ⁻³	CO ₃ ⁻² /PO ₄ ⁻³
Grup1 (NaOCl+EDTA)	0,027 ^{A*&} (0,023-0,031)	0,08 ^{a*} (0,075-0,09)	0,02 ^{B*} (0,017-0,025)	0,079 ^{a*} (0,078-0,091)
Grup 2 (NaOCl+KNP)	0,023 ^{A*} (0,019-0,027)	0,073 ^{a*} (0,069-0,082)	0,018 ^{B*} (0,016-0,024)	0,077 ^{a*} (0,07-0,082)
Grup 3 (NaOCl+EDTA+KNP)	0,025 ^{A*&} (0,025-0,026)	0,077 ^{a*} (0,071-0,084)	0,022 ^{A*&} (0,014-0,026)	0,08 ^{a*} (0,072-0,089)
Grup 4 (NaOCl+KNP+GE)	0,021 ^{A*} (0,019-0,024)	0,076 ^{a*} (0,07-0,08)	0,024 ^{A*&} (0,022-0,025)	0,077 ^{a*} (0,067-0,081)
Grup 5 (NaOCl+EDTA+KNP+GE)	0,028 ^{A*&} (0,018-0,029)	0,08 ^{a*} (0,073-0,088)	0,028 ^{A&} (0,025-0,03)	0,081 ^{a*} (0,08-0,089)
Grup 6 (Distile Su)	0,04 ^{A&} (0,037-0,042)	0,072 ^{a*} (0,064-0,086)	0,025 ^{B*&} (0,023-0,029)	0,079 ^{a*} (0,076-0,08)

CO₃⁻²: Karbonat, EDTA: Etilendiamintetraasetik asit, GE: Genipin, KNP: Kitosan nanopartikülü, NaOCl: Sodyum hipoklorit, PO₄⁻³: Fosfat

Farklı büyük harf, satır içerisindeki Amid III/PO₄⁻³ değişiminin anlamlı olduğunu ifade etmektedir (p<0,05). Farklı küçük harf, satır içerisindeki CO₃⁻²/ PO₄⁻³ değişiminin anlamlı olduğunu ifade etmektedir (p<0,05). Sütun içerisinde aynı işarete sahip gruplar arasında anlamlı fark yoktur (p>0,05).

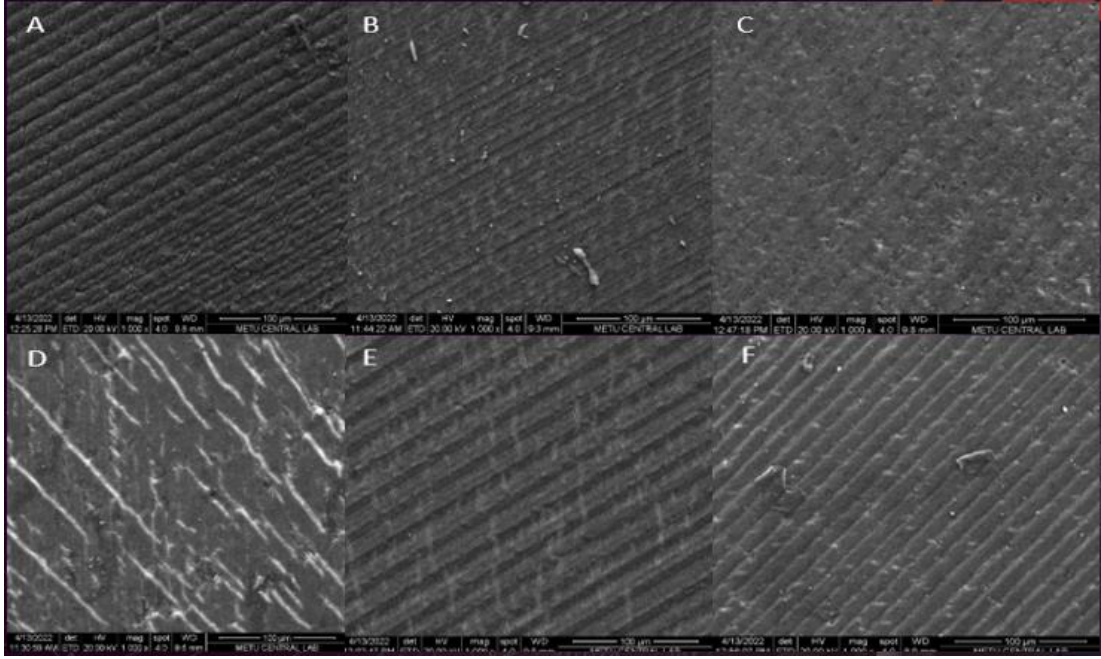
4.2. SEM/EDS Analizi

SEM/EDS analizine ait veriler Tablo 4’te gösterilmektedir. Sonuçlara göre, kolajenaz uygulaması, tüm gruplar için Ca, P, Ca/P ve O/C değerlerinde anlamlı bir değişim oluşturmadı ($p>0,05$). Gruplar arasında hem kolajenaz öncesi hem de sonrasında Ca, P, Ca/P ve O/C değerleri açısından anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). SEM görüntülerinde, final irrigasyon protokollerinde kullanılan solüsyonların, yüzeyde görsel olarak farklı bir etki oluşturmadığı görülmektedir (Şekil 29). Kolajenazın etkisine dair SEM görüntüleri ise Şekil 30’da görülmektedir. Ayrıca, Şekil 31 kitosan nanopartiküllerine ait SEM görüntüsünü sunmaktadır.

Tablo 4. SEM/EDS analizi sonrası gruptaki median (minimum-maksimum) değerleri

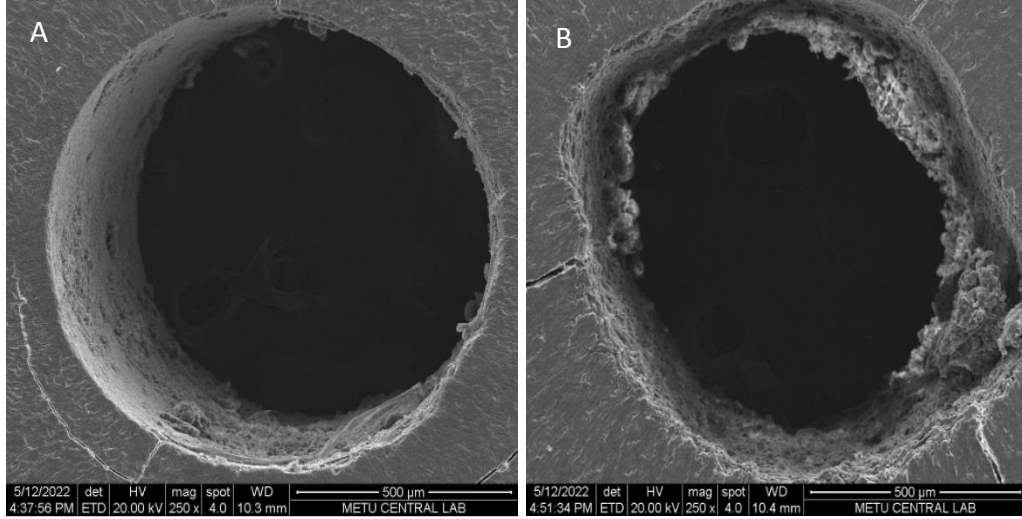
Gruplar	Final İrrigasyon Sonrası				Kolajenaz Sonrası			
	Ca	P	Ca/P	O/C	Ca	P	Ca/P	O/C
Grup1 (NaOCl+EDTA)	26,99 (26,71- 28,64)	14,46 (14,14- 14,83)	1,89 (1,87- 1,93)	1,16 (1,03- 1,30)	21,29 (21,07- 21,07)	9,48 (8,45- 10,77)	2,28 (1,98- 2,49)	0,65 (0,56- 0,69)
Grup 2 (NaOCl+KNP)	29,02 (26,13- 29,19)	14,92 (14,28- 15,23)	1,92 (1,83- 1,95)	1,29 (1,12- 1,48)	22,57 (21,82- 23,24)	9,91 (9,13- 10,38)	2,34 (2,17- 2,39)	0,64 (0,60- 0,71)
Grup 3 (NaOCl+EDTA+ KNP)	28,09 (26,04- 28,99)	14,76 (14,13- 14,93)	1,94 (1,76- 1,99)	1,29 (1,22- 1,33)	22,63 (17,87- 24,01)	9,51 (8,50- 10,67)	2,12 (2,10- 2,52)	0,63 (0,62- 0,64)
Grup 4 (NaOCl+KNP+ GE)	28,09 (28,15- 29,44)	14,80 (14,73- 15,17)	1,94 (1,91- 1,96)	1,38 (1,11- 1,48)	21,88 (18,85- 26,68)	9,56 (9,54- 9,96)	2,29 (1,89- 2,80)	0,70 (0,68- 0,97)
Grup 5 (NaOCl+EDTA+ KNP+GE)	28,08 (27,34- 28,38)	14,99 (13,93- 15,16)	1,87 (1,82- 2,02)	1,19 (1,13- 1,26)	22,94 (15,07- 27,17)	9,30 (7,80- 11,20)	2,43 (1,93- 2,47)	0,78 (0,75- 0,83)
Grup 6 (Distile Su)	28,22 (28,15- 28,51)	14,90 (14,40- 15,09)	1,89 (1,87- 1,98)	1,14 (1,12- 1,25)	21,62 (17,21- 25,58)	9,46 (7,98- 10,17)	2,28 (2,16- 2,52)	0,62 (0,61- 0,68)

C: Karbon, Ca: Kalsiyum, EDTA: Etilendiamintetraasetik asit, Genipin: GE, KNP: Kitosan nanopartikülü, NaOCl: Sodyum Hipoklorit, P: Fosfor, O: Oksijen



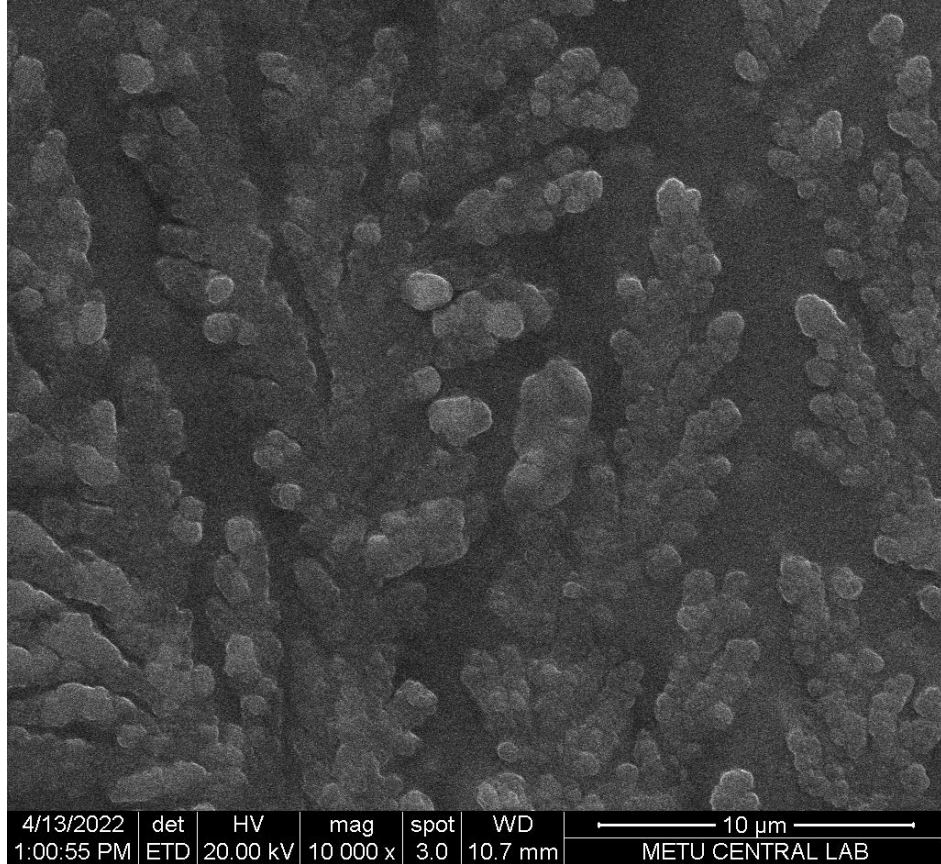
Şekil 29. Kolajenaz uygulaması öncesi grupların SEM görüntüleri (x1000 büyütme)

A) NaOCl+EDTA B) NaOCl+KNP C) NaOCl+EDTA+KNP D) NaOCl+KNP+GE
E) NaOCl+EDTA+KNP+GE F) Distile su.



Şekil 30. Kolajenaz uygulaması sonrası dentin kesitlerine ait SEM görüntüleri (x250 büyütme).

A) Kitosan nanopartikül ve genipin uygulaması sonrası kanal lümeninde kolajen yapısı göreceli olarak bütünlüğünü korumaktadır B) Final irrigasyon protokolünde sadece distile su uygulanmış grupta kolajen yapısının bütünlüğünün genel olarak bozulduğu görülmektedir.



Şekil 31. Kitosan nanopartikülünün SEM görüntüsü (x10000 büyüme).

5. TARTIŞMA

Endodontik tedavi görmüş dişlerin koronal yapıları çürük, kırık veya önceki restorasyonlara bağlı madde kayıpları nedeniyle zayıf olabilmektedir (232). Bunun yanında, endodontik tedavi sırasında açılan giriş kavitesi, kanalların genişletilip şekillendirilmesine bağlı olarak dentinin uzaklaşması ve irrigasyon sırasında kullanılan solüsyonlar endodontik tedavi görmüş dişlerin daha kırılabilir hale gelmesine neden olabilmektedir (233, 234). Ayrıca kök kanal anatomisinin kompleks yapısından dolayı temizlenemeyen alanlarda kalan veya mikrosızıntı ile kanala ulaşan mikroorganizmalar dentin yıkımına devam edebilir (235). Bunlara dayanarak, kök dentinine direnç kazandıracak yöntemler endodontik tedavili dişin sağ kalımı açısından önem arz etmektedir. Bu çalışmanın amacı, kök kanal tedavisinde rutinde uygulanan final irrigasyon solüsyonlarına alternatif veya ek olarak uygulanan kitosan nanopartikül solüsyonunun ve çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan genipinin kök dentinine etkilerini incelemektir. Çalışmanın sonucunda, rutinde kullanılan NaOCl ve EDTA'nın ardından uygulanan kitosan nanopartikül ve genipinin dentin mikrosertliğini artırdığı, bakteriyel kolajenaza karşı dentinin mekanik stabilizasyonunu ve dentinin organik içeriğini koruduğu görüldü. Çalışmamızda kullanılan solüsyonların, dentinin yüzey özelliklerini ve elemental içeriğini belirgin şekilde değiştirmedikleri bulundu.

Kitosan, asidik sulu bir ortamda düşük pH'ta çözünür, nötr ve/veya yüksek pH değerlerinde çözünmez (236). Bu nedenle, çalışmamızda solüsyon hazırlığı sırasında asetik asit çözeltisi kullanıldı (227) ve böylece kitosanın asidik çözeltide çözünerek pozitif yükünü alması hedeflendi (236). Çalışmamızda, önceki çalışmalardaki gibi, kitosan nanopartikül solüsyonu, anyonik bir madde olan TPP ile çapraz bağlanarak iyonik jelasyon yöntemiyle üretildi (227, 237). İyonik jelasyon yönteminde, asetik asit içerisinde, bir kitosan molekülünün $-NH_2$ 'si $-NH_3^+$ olacak şekilde protonlanır ve TPP ile mikrojel partikülleri oluşturmak için iyonik etkileşime girer (238). Literatürde stabil bir kitosan nanopartikül solüsyonunun üretilmesi için tam anlamıyla standart bir yöntem bulunmamaktadır (227). Rehber alınan çalışmada, üretilen nanopartikül solüsyonunda 6. günde bozulmalar görüldüğü bildirilmiştir (227). Bu çalışmadaki amaçlarımızdan biri, stabilitesini daha uzun süre sürdüreceği bir solüsyon hazırlamaktır.

Çalışmamızda, birçok denemeden sonra, metodolojide detaylıca belirtilen adımlar izlendiğinde, 14 günlük ölçümler sonunda istenilen boyutlarda, homojen ve stabil bir nanopartikül solüsyonu eldesi gerçekleştirildiği görüldü. Solüsyon hazırlığında, daha önceden literatürde belirtilen pH ve konsantrasyonlar kullanıldığında, farklı nanopartikül boyutları elde edildiği görülmüştür (227). Bu nedenle solüsyon stabilitesi ve homojenitesi, PDI ve ZP parametreleri dikkate alınarak değerlendirildi. Kitosan ile çapraz bağlanan TPP'nin oranı arttıkça, hem kitosanın serbest birincil amino grupları azaldığı hem de kitosan zincirleri birbirine daha da yaklaştığı için, daha küçük boyutlu nanopartikül elde edilmesi mümkün olabilmektedir (239). Önceki bir çalışmada, düşük değerli PDI değeri eldesi için kitosan: TPP oranının 3:1 olması gerektiği vurgulanmıştır (227). Kitosan: TPP oranı 3:1'den daha düşük bir değere geldiğinde PDI değerinde büyük bir artış görüldüğü bildirilmiştir (227). Bunlara dayanarak, çalışmamızda kitosan: TPP oranı 3:1 olacak şekilde solüsyon hazırlığı gerçekleştirildi. Literatürle uyumlu bir şekilde, TPP solüsyona damla damla eklendi ve karışım manyetik karıştırıcı ile sürekli olarak karıştırılarak homojenleştirildi (236). Küçük nanopartikül boyutuna sahip kitosan nanopartikül solüsyonu eldesi için dikkat edilmesi gereken bir parametre de solüsyonun pH değeridir (227). Önceki bir çalışmaya göre, kitosan zincirleri, daha düşük pH'lı çözeltilerle kıyaslandığında, pH değeri 5 iken daha düşük amin protonasyonu nedeniyle yapısında daha fazla hidrojen bağı etkileşimi göstermiştir (240). Böylece, kitosan zincirlerinin daha çok yoğunlaşmasıyla, TPP ile çapraz bağlandığında daha küçük boyutlu nanopartikül oluşumu sağlanmıştır (230). Başka bir çalışmaya göre, pH değeri 6'nın üzerine çıktığında, çözeltinin bulanıklığı hızla artmakta, kitosan moleküllerinin pozitif yüklü amin grupları iyonik karakterlerini kaybetmeye başlamakta ve kitosan çökmesi meydana gelmektedir (236). Bu veriler ışığında, çalışmamızda kitosan nanopartikül solüsyonu pH değeri 5 olacak şekilde hazırlandı. Liu ve arkadaşlarının (241) yaptığı bir araştırmada, kitosan nanopartikülü solüsyonu içine ilave edilen NaCl'nin, partikül boyutunu azalttığı bildirilmiştir. Bu nedenle, çalışmamızda kitosan nanopartikül solüsyonunu hazırlarken, partikül boyutunun mümkün olduğunca küçük olabilmesi için solüsyon içerisine 0,1 M tuz ilave edildi. Kitosan nanopartikül solüsyonu hazırlığında rehber alınan çalışmada, boyut ve PDI parametrelerine göre uygun konsantrasyonu belirlemek için 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL ve 0,2 mg/mL

konsantrasyonda solüsyonlar test edilmiştir (227). Benzer şekilde yaptığımız deneylerde 0,5 mg/mL ve 0,25 mg/mL kitosan konsantrasyonlarını kıyasladığımızda, elde edilen nanopartiküllerin boyutu, ZP ve PDI parametreleri açısından, çalışmamızda kullanılacak uygun konsantrasyonun 0,5 mg/mL olduğuna karar verdik. Endodonti alanında irrigasyon solüsyonu olarak kitosan nanopartikül solüsyonu uyguladığını bildiren çalışmalarda, nanopartikül boyutundan bahsedilse de, PDI ve ZP parametrelerinden bahsedilmediği görülmektedir (171, 190). Bu nedenle, çalışmamız kitosan nanopartikül solüsyon kalitesi ve stabilitesi açısından diğer çalışmalardan ayrılmaktadır.

Mikrosertlik analizi, diş dokularındaki mineral değişiminin değerlendirilmesini sağlar ve dişin mekanik dayanımı hakkında bilgi verir (242, 243). Mikrosertlik analizi, diş sert dokularının demineralizasyon ve remineralizasyonunu değerlendirmede sıklıkla kullanılan pratik bir yöntemdir (244). Vickers mikrosertlik testinde, küçük boyutlu örneklerle ve yüzey koşullarına rağmen ölçümlerin doğruluk payı yüksektir (245). Bu nedenle, endodonti alanındaki diğer çalışmalara benzer şekilde (151, 243, 246), çalışmamızda Vickers mikrosertlik testi ile analizler gerçekleştirildi. Kök kanal tedavisinde uygulanan irrigasyon solüsyonlarının, dentinin mikrosertliği, eğilme dayanımı ve elastisite modülü gibi mekanik özelliklerini, ayrıca organik ve inorganik içeriğini etkileyebildiği bilinmektedir (247). Klinik olarak en yaygın kullanılan irrigasyon solüsyonları NaOCl ve EDTA'dır (72). Yapılan araştırmalar, bu irrigasyon solüsyonlarının dentinin fiziksel ve mekanik özelliklerini olumsuz yönde etkileyebildiğini bildirmektedir (16, 248). Bir çalışmada, irrigasyon solüsyonu olarak 1 ve 5 dakika süreyle uygulanan EDTA ve NaOCl-EDTA kombinasyonunun, distile su grubuna kıyasla dentinde daha fazla kalsiyum iyonu kaybına yol açtığı bildirilmiştir (249). Bir başka çalışmada, final irrigasyon prosedüründe EDTA'dan sonra 1 dakika ve daha fazla süreliğine NaOCl kullanımının kalsiyum ve fosfor kaybını artırdığı gösterilmiştir (250). Ancak aynı çalışmada, EDTA'nın ardından NaOCl uygulanmadığında dentinde çok az miktarda erozyon görüldüğü veya hiç görülmediği bildirilmiştir (250). Şelasyon ajanlarının dentin mikrosertliğine etkisini inceleyen başka bir çalışmada, Qmix ve %17'lik EDTA'nın, %10'luk sitrik asit ve %1'lik perasetik aside göre dentin mikrosertliğini daha fazla miktarda azalttığı bildirilmiştir (251). Bizim çalışmamızda da, literatürdeki verilere

paralel olarak, NaOCl ve EDTA uygulanan dentin disklerinin mikrosertliğinde anlamlı bir düşüş görüldü. Çalışmamızda, EDTA yerine şelatör ajan olarak kitosan nanopartikül solüsyonu uygulandığında, mikrosertlik değerinde anlamlı bir değişim görülmedi. Bu durum, pozitif yüklü kitosan nanopartiküllerinin negatif yüklü dentin kolajenleriyle bağlanması sonucu dentinin mekanik stabilizasyonunu korumasıyla açıklanabilir (142). Sonuçlarımıza benzer şekilde, yapılan bir başka çalışmada %17'lik EDTA ve %0,2'lik kitosan solüsyonunun dentin mikrosertliği üzerine etkisi incelenmiş olup; EDTA grubunun kitosan grubundan anlamlı olarak mikrosertliği daha fazla azalttığı bildirilmiştir (252). Bizim bulgularımıza benzer sonuç veren bir başka çalışmada da, kitosan solüsyonu uygulandıktan sonra kontrol grubuna göre dentinde mikrosertliğin değişmediği bildirilmiştir (253). Öte yandan, kitosan ve EDTA'nın final irrigasyonu olarak dentin mikrosertliğine etkisini inceleyen bazı çalışmalarda, bu iki irrigasyon solüsyonunun dentin mikrosertliğini benzer şekilde azalttığı bulunmuştur (193, 254, 255). Farklı sonuçlar, kullanılan solüsyonların konsantrasyonlarındaki ve uygulama sürelerindeki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca, nanopartikül oluşturulup oluşturulmaması gibi solüsyonların hazırlanma sürecine dair farklılıklar da farklı sonuçların oluşmasına yol açabilir. Çalışmamızın sonucunda, NaOCl+EDTA+KNP deney grubunda irrigasyon öncesi ve sonrası ölçülen mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir artış görüldü. EDTA'dan sonra uygulanan kitosan nanopartikül solüsyonunun dentin mikrosertliğini anlamlı olarak artırması, uygulanan EDTA solüsyonunun smear tabakasının inorganik içeriğini uzaklaştırdıktan sonra, negatif yüklü serbest kolajen yüzeylerine bağlanan pozitif yüklü kitosan nanopartiküllerinin kolajen yüzeylerini mekanik olarak daha dayanıklı hale getirmesiyle açıklanabilir (256-258).

Kolajen molekülleri içinde ve arasındaki çapraz bağları indüklemek ve mekanik stabilizasyonu kuvvetlendirmek amacıyla fiziksel, kimyasal ve fotodinamik çapraz bağlama yöntemleri kullanılmaktadır (142). Çapraz bağlayıcılar, bakteriyel kolajenaz enzimlerine karşı da kolajene direnç kazandırır (26). Çoğu çapraz bağlayıcı, polipeptid zincirlerinin lizin ve hidrosilizin kalıntılarının amino gruplarını çapraz bağlayarak bu etkiyi sağlar (223). Çalışmamızda, literatürde sıklıkla çapraz bağlayıcı olarak kullanılan glutraldehite kıyasla, daha düşük sitotoksitesi, iyi antibakteriyel ve antiinflamatuvar özellikleri ile öne çıkan organik bir çapraz bağlayıcı olan genipini

kullandık (32-34). Çapraz bağlayıcıların kolajeni stabilize etme etkinlikleri genellikle süre ve konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artar. Bir çalışmada, genipinin konsantrasyon ve süreye bağlı dentin kolajeni üzerindeki etkileri incelenmiştir (221). Deneyler %0,01, %0,1 ve %0,5 konsantrasyonlarda ve 30 dakika, 1, 4, 8, 12 ve 24 saatlik sürelerde gerçekleştirilmiştir (221). Çalışmada, %0,5 konsantrasyondaki genipin ile 30 dakika muamele edilen dentin örneklerinin hem diğer konsantrasyonlara hem de kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha az kolajen çözünmesine yol açtığı gösterilmiştir (221). Genipinin kolajen stabilizasyonu üzerindeki olumlu etkisi, süre arttıkça anlamlı olarak artsa da (221), 30 dakikalık uygulama süresi klinik olarak daha uygulanabilir olduğu için çalışmamızda genipin uygulaması için bu süreyi ve bu konsantrasyonu tercih ettik. NaOCl+KNP+GE uygulaması sonrası başlangıç mikrosertliğine göre, mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir artış görülürken, kolajenaz uygulamasının ardından mikrosertlik değerlerinde başlangıç değerlerine geri dönüş görüldü. Öte yandan, NaOCl+KNP uygulanan örneklerin kolajenaz sonrası mikrosertlik değerlerinde, başlangıç değerlerine göre anlamlı bir düşüş vardı. İki deney grubu arasındaki bu farklılık, genipinin dentin kolajenlerinin mekanik stabilizasyonunu artırdığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Benzer şekilde, NaOCl+EDTA+KNP+GE uygulanan örneklerin mikrosertlik değerlerinde anlamlı bir artış görülürken, kolajenaz sonrası mikrosertlik değerlerinde önemli bir düşüş görülmedi. Bu deney grubunda, EDTA'dan sonra demineralize dentinde açığa çıkan serbest kolajen liflerine bağlanan kitosan nanopartikül ve genipinin kolajen molekülleri arası çapraz bağları kuvvetlendirdiği düşünülebilir. Benzer şekilde, önceki bir çalışmada, demineralize dentin matriksine genipin uygulamasının maksimum gerilme dayanımını artırdığı gösterilmiştir (35). Kwon ve arkadaşları da (223), bizim bulgularımıza paralel olarak çapraz bağlama ajanı olarak genipin kullanıldığında kolajenin yüzey sertliğinin ve sıkışma dayanımının arttığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada da, genipin ile muamele edilmiş dentin örneklerinde kontrol grubuna göre, kolajenaz içerisinde bekletme sonrası, kolajenin çoğunun sindirilmediği gösterilmiştir (222).

Çalışmamızda kolajen sindirimi için enzim olarak, *Clostridium histolyticum*'dan (*C. histolyticum*) elde edilen kolajenaz kullanıldı. Bu enzim, ticari olarak kolay elde edilebilir olması ve güçlü kolajenolitik aktivitesi sebebiyle tercih

edildi (142). Bu bakteri diş enfeksiyonlarına doğrudan sebep olmasa da, yapısından elde edilen proteaz diğer bakteriyel proteazlarla benzer bir yapıya sahiptir (259). *C. histolyticum* kolajenazı, kolajen bağlayıcı karboksil terminal ucuna sahiptir. Katalitik çinko uçları, ayrıca kalsiyum bağlama bölgeleri de içermektedir (260). Katyonik moleküller bu aktif alanlara bağlanıp bu uçları nötralize edebilir (142). Bu çalışmada kitosan nanopartikülü solüsyonunu kullanmamızdaki amaç buna yöneliktir. Çalışmamızın sonuçlarına göre, NaOCl+EDTA, NaOCl+KNP ve distile su gruplarında, kolajenaz uygulaması dentin kolajenini yıktığı için mikrosertlik değerlerinde bir düşüş görüldü. Öte yandan, NaOCl+EDTA+KNP grubunda, kolajenaz uygulaması sonrası ile başlangıç mikrosertlik değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Bunun nedeni, yukarıda da belirtildiği gibi EDTA uygulaması sonrası inorganik yapının uzaklaşmasıyla açığa çıkan negatif yüklü serbest kolajen yüzeylerine bağlanan pozitif yüklü kitosan nanopartiküllerinin, kolajen yüzeylerini bakteriyel kolajenaza karşı kapatması olabilir (261, 262).

Bu çalışmada, farklı final irrigasyon protokollerinin kök dentininin mineral içeriğine ve yüzey morfolojisine etkisini incelemek için SEM/EDS analizi gerçekleştirildi. SEM dentin tübüllerini, smear tabakasını ve kök dentininin yüzey morfolojisinin detaylı bir şekilde incelenmesi için endodonti alanında sıklıkla kullanılan bir görüntüleme yöntemidir (263). SEM/EDS analizi ile kök dentininde istenilen bölgeden hem görüntü alınabilmekte, hem de aynı bölgedeki kimyasal yapı incelenip elemental analizi yapılabilmektedir (264). Ancak, örneklerin altın ile kaplanmasından dolayı pahalı olması, kaplandığı için aynı örneğin bir daha kullanılamaması, örneklerin dehidratasyonuna bağlı çatlama gibi dezavantajları da mevcuttur (265, 266). Ancak yukarıda belirtilen avantajlarından dolayı, çalışmamızda yüzey analizi ve elemental analiz için bu yöntem tercih edildi.

SEM/EDS analizi sonuçlarına göre, değerlendirilen parametrelerde grup içi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak, tüm gruplarda kolajenaz uygulaması sonrası Oksijen/Karbon (O/C) oranında azalma yönünde bir eğilim vardı. Önceki çalışmalarda, O/C oranının, incelenen örnekteki organik yapı içeriğinin değerlendirmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir (267-269). Kolajenaz enziminin, dentinin organik bileşenine etki etmesiyle O ve C atomları arasındaki bağları yıktığı ve böylelikle ortamdan uzaklaşan O atomlarından dolayı, O/C oranının

azaldığı düşünülmektedir. Kolajenaz uygulandıktan sonra tüm gruplarda Ca ve P seviyelerinde azalma yönünde bir eğilim olduğu görülmektedir. Bunun sebebi olarak kolajenaz uygulanmasıyla beraber azalan organik yapının ardından açığa çıkan inorganik yapının da yavaş yavaş çözülmeye başlaması gösterilebilir (270-272). Çalışmamızda şelatör ajanlar kullanılmasına rağmen, kontrol grubuna kıyasla Ca, P seviyeleri ve Ca/P oranında anlamlı bir fark oluşmadığı görüldü. Benzer şekilde, SEM/EDS ile analiz yapan önceki çalışmalarda da EDTA kullanımından sonra dentinin Ca ve P düzeylerinde veya Ca/P oranında anlamlı bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (250, 273). Bu durum, Ca ve P'un benzer oranlarda azalmasıyla ilgili olabilir.

ATR-FTIR analizi, dentindeki organik ve inorganik içeriğin moleküler seviyedeki değişimini değerlendirmede kullanılan bir yöntemdir (274). Fosfat, karbonat, organik madde ve su gibi dentinin kimyasal bileşenleri, kızılötesi radyasyonu güçlü bir şekilde absorbe ettiği için, ATR-FTIR analizi bu bileşiklerin dentindeki miktarlarını belirlemek için kullanılır (275). Bu analiz hassas ve güvenilir bir yöntem olmasının yanında, düz ve polisajlanmış dentin kesitinin, herhangi bir ek işleme gerek duyulmadan, doğrudan analizine izin vermesi ve böylece tedavi öncesi ve sonrası analizlerin aynı örnekten yapılabilmesine imkan tanınması nedeniyle (275), çalışmamızda kullanımı tercih edildi. Önceki çalışmalarda olduğu gibi, çalışmamızda dentinin organik ve inorganik içeriğini değerlendirmek için sırasıyla Amid III/ PO_4^{3-} ve CO_3^{2-}/PO_4^{3-} oranları incelendi (275, 276). Genel olarak sonuçlar incelendiğinde, Amid III/ PO_4^{3-} oranı, final irrigasyon aşamasında NaOCl kullanılan gruplarda, distile su kullanılan gruba göre daha düşük olma eğilimindeydi. Bunun sebebi olarak, NaOCl'nin dentinin organik içeriğine etki etmesi gösterilebilir (277-281). Benzer şekilde, önceki çalışmalarda da, NaOCl uygulandıktan sonra dentindeki Amid III/ PO_4^{3-} oranının anlamlı bir şekilde azaldığı bildirilmiştir (275, 276, 282). Anlamlı farklılık olmasa da, EDTA uygulanan gruplarda Amid III/ PO_4^{3-} oranı, EDTA içermeyen deney gruplarına göre daha yüksek olduğu görüldü. Bunun nedeni, EDTA uygulanan gruplarda görülen PO_4^{3-} kaybının, uygulanmayan gruplara göre daha yüksek olması şeklinde açıklanabilir (275). Sonuçlarımıza göre, Amid III/ PO_4^{3-} oranı NaOCl+EDTA ve NaOCl+KNP gruplarında NaOCl+EDTA+KNP+GE grubuna göre, kolajenaz uygulaması sonrası, anlamlı olarak daha düşük bulundu. Ayrıca,

kolajenaz uygulaması sadece NaOCl+EDTA, NaOCl+KNP ve distile su uygulanan gruplarda Amid III/PO₄⁻³ oranının anlamlı olarak düşmesine neden oldu. Bu sonuç, EDTA sonrası KNP uygulandığında, açığa çıkan kolajen fibrillerine KNP'nin etkili bir şekilde bağlanması ve KNP ile kolajen arasında oluşan iyonik komplekslerin çözünmeye daha dirençli olmasıyla açıklanabilir (262). Ayrıca genipin uygulamasının kolajeni çapraz bağlayarak koruyucu etki göstermiş olması da bu sonuçlara katkı sağlamış olabilir (283). Nagaoka ve arkadaşları (221), genipin ile indüklenen çapraz bağlanmanın, kolajene kolajenazın erişilebilirliğini engellediğini ve/veya büyük bir çapraz bağlı kolajen kompleksi oluşturduğunu, böylece kolajenazın oluşan kompleksi çözemediğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda, dentinin inorganik içeriğini ifade eden CO₃⁻²/PO₄⁻³, anlamlı fark olmasa da, EDTA uygulanan gruplarda daha yüksek olma eğilimindeydi. Bunun nedeni, PO₄⁻³ kaybının EDTA uygulanan gruplarda daha yüksek olması olabilir. Benzer şekilde, Verdelis ve arkadaşları (284), %17'lik EDTA uygulamasından sonra PO₄⁻³ miktarında azalma bildirmişlerdir. Çalışmamızda, kolajenaz uygulaması sonrası, gruplarda CO₃⁻²/PO₄⁻³ oranında anlamlı bir değişiklik oluşmadığı görüldü. Kolajenazın, esas olarak etkisi organik bileşenlere olsa da, hidroksiapatite de az da olsa etkisi olabilir. Bu etki, kolajenazın (-) yüklü grupları ile, hidroksiapatitin Ca⁺² iyonlarının etkileşime girmesi sonucu hidroksiapatitin çözünmesi ile açıklanmaktadır (285). SEM/EDS analizi bulguları ile beraber değerlendirildiğinde, FTIR analizinde genel olarak CO₃⁻² ve PO₄⁻³ iyonlarının çok önemli bir miktar olmamakla beraber benzer miktarlarda azaldığı ve bu nedenle CO₃⁻²/ PO₄⁻³ oranının değişmediği söylenebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın limitasyonları dahilinde, kitosan nanopartikül ve genipin solüsyonlarının dentinin mikrosertliğini artırırken, kolajenaz enzimine karşı mikrosertlik açısından dentine direnç kazandırdığı görüldü. Bu etki, kitosan nanopartikül ve genipin solüsyonlarının, EDTA'nın ardından kullanılması durumunda daha belirgindi. Benzer şekilde, EDTA'nın ardından kitosan nanopartikül solüsyonu veya genipin uygulandığında, kolajenaz enziminde bekletilmesine rağmen dentinin organik içeriğinin önemli ölçüde korunduğu görüldü. Genel olarak, uygulanan protokoller sonrası dentinin inorganik içeriğinde belirgin değişimler görülmedi. Bu sonuçlar ışığında, kitosan nanopartikül ve genipin solüsyonlarının kök kanal tedavisinin final irrigasyon protokolünde yer alması önerilebilir. Gelecek çalışmalar, kitosan nanopartikül ve genipin uygulamalarının diş renklenmesine etkisi, kanal dolgusuna etkisi ve çevre dokulara toksisitesi gibi konular üzerinde yoğunlaşabilir. Ayrıca, daha kısa süreli genipin uygulamalarının dentin üzerindeki etkileri de ileriki çalışmalarda araştırılabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Schilder H. Filling root canals in three dimensions. *Dent Clin North Am.* 1967;723-44.
2. Segura-Egea JJ, Martín-González J, Castellanos-Cosano L. Endodontic medicine: connections between apical periodontitis and systemic diseases. *Int Endod J.* 2015;48(10):933-51.
3. Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:7-15.
4. Bjarnsholt T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. *APMIS Suppl.* 2013(136):1-51.
5. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1984;58(5):589-99.
6. Swimberghe RCD, Coenye T, De Moor RJG, Meire MA. Biofilm model systems for root canal disinfection: a literature review. *Int Endod J.* 2019;52(5):604-28.
7. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J.* 2014;216(6):299-303.
8. Darcey J, Jawad S, Taylor C, Roudsari RV, Hunter M. Modern Endodontic Principles Part 4: Irrigation. *Dent Update.* 2016;43(1):20-2, 5-6, 8-30 passim.
9. Coolidge ED. The diagnosis and treatment of conditions resulting from diseased dental pulps. *The Journal of the National Dental Association.* 1919;6(4):337-49.
10. Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10(4):597-610.
11. Teixeira CS, Felipe MC, Felipe WT. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. *Int Endod J.* 2005;38(5):285-90.
12. Rotstein I, Ingle JI. *Ingle's endodontics: PMPH USA; 2019.*
13. Zapparoli D, Saquy PC, Cruz-Filho AM. Effect of sodium hypochlorite and EDTA irrigation, individually and in alternation, on dentin microhardness at the furcation area of mandibular molars. *Braz Dent J.* 2012;23(6):654-8.
14. Sayin TC, Serper A, Cehreli ZC, Otlı HG. The effect of EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl with and without subsequent NaOCl treatment on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104(3):418-24.
15. Saleh AA, Ettman WM. Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness of root canal dentine. *J Dent.* 1999;27(1):43-6.
16. Uzunoglu E, Aktemur S, Uyanik MO, Durmaz V, Nagas E. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. *J Endod.* 2012;38(8):1110-3.
17. Shrestha A, Kishen A. Antibacterial Nanoparticles in Endodontics: A Review. *J Endod.* 2016;42(10):1417-26.

18. Suresh N, Subbarao HJ, Natanasabapathy V, Kishen A. Maxillary Anterior Teeth With Extensive Root Resorption Treated With Low-level Light-activated Engineered Chitosan Nanoparticles. *J Endod.* 2021;47(7):1182-90.
19. Akncbay H, Senel S, Ay ZY. Application of chitosan gel in the treatment of chronic periodontitis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007;80(2):290-6.
20. Xu Z, Neoh KG, Lin CC, Kishen A. Biomimetic deposition of calcium phosphate minerals on the surface of partially demineralized dentine modified with phosphorylated chitosan. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011;98(1):150-9.
21. Shrestha A, Friedman S, Kishen A. Photodynamically crosslinked and chitosan-incorporated dentin collagen. *J Dent Res.* 2011;90(11):1346-51.
22. Kurita K. Chemistry and application of chitin and chitosan. *Polym Degrad Stabil.* 1998;59(1-3):117-20.
23. Rabea EI, Badawy ME, Stevens CV, Smagghe G, Steurbaut W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules.* 2003;4(6):1457-65.
24. Young DH, Köhle H, Kauss H. Effect of Chitosan on Membrane Permeability of Suspension-Cultured Glycine max and Phaseolus vulgaris Cells. *Plant Physiol.* 1982;70(5):1449-54.
25. Sudarshan NR, Hoover DG, Knorr D. Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnol.* 1992;6(3):257-72.
26. Niu LN, Sun JQ, Li QH, Jiao K, Shen LJ, Wu D, et al. Intrafibrillar-silicified collagen scaffolds enhance the osteogenic capacity of human dental pulp stem cells. *J Dent.* 2014;42(7):839-49.
27. Oliver RF, Grant RA, Cox RW, Cooke A. Effect of aldehyde cross-linking on human dermal collagen implants in the rat. *Br J Exp Pathol.* 1980;61(5):544-9.
28. Huang-Lee LL, Cheung DT, Nimni ME. Biochemical changes and cytotoxicity associated with the degradation of polymeric glutaraldehyde derived crosslinks. *J Biomed Mater Res.* 1990;24(9):1185-201.
29. Ryu M, Kobayashi T, Kawamukai E, Quan G, Furuta T. Cytotoxicity assessment of residual high-level disinfectants. *Biocontrol Sci.* 2013;18(4):217-20.
30. Sung HW, Huang RN, Huang LL, Tsai CC, Chiu CT. Feasibility study of a natural crosslinking reagent for biological tissue fixation. *J Biomed Mater Res.* 1998;42(4):560-7.
31. Sung HW, Huang RN, Huang LL, Tsai CC. In vitro evaluation of cytotoxicity of a naturally occurring cross-linking reagent for biological tissue fixation. *J Biomater Sci Polym Ed.* 1999;10(1):63-78.
32. Tsai CC, Huang RN, Sung HW, Liang HC. In vitro evaluation of the genotoxicity of a naturally occurring crosslinking agent (genipin) for biologic tissue fixation. *J Biomed Mater Res.* 2000;52(1):58-65.

33. Huang LL, Sung HW, Tsai CC, Huang DM. Biocompatibility study of a biological tissue fixed with a naturally occurring crosslinking reagent. *J Biomed Mater Res*. 1998;42(4):568-76.
34. Akao T, Kobashi K, Aburada M. Enzymic studies on the animal and intestinal bacterial metabolism of geniposide. *Biol Pharm Bull*. 1994;17(12):1573-6.
35. Bedran-Russo AK, Pereira PN, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007;80(1):268-72.
36. Fisher LW, Termine JD. Noncollagenous proteins influencing the local mechanisms of calcification. *Clin Orthop Relat Res*. 1985(200):362-85.
37. Linde A. Dentin matrix proteins: composition and possible functions in calcification. *Anat Rec*. 1989;224(2):154-66.
38. Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol*. 1976;21(6):355-62.
39. Xu C, Wang Y. Chemical composition and structure of peritubular and intertubular human dentine revisited. *Arch Oral Biol*. 2012;57(4):383-91.
40. Marshall GW, Jr., Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent*. 1997;25(6):441-58.
41. Pashley DH, Pashley EL, Carvalho RM, Tay FR. The effects of dentin permeability on restorative dentistry. *Dent Clin North Am*. 2002;46(2):211-45, v-vi.
42. Coffey CT, Ingram MJ, Bjorndal AM. Analysis of human dentinal fluid. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1970;30(6):835-7.
43. Bergenholtz G. Effect of bacterial products on inflammatory reactions in the dental pulp. *Scand J Dent Res*. 1977;85(2):122-9.
44. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J*. 2010;43(1):2-15.
45. Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J Dent Res*. 1970;49(6):Suppl:1359-68.
46. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod*. 1975;1(7):238-42.
47. Barnes JE. The production of inlay cavity bevels. *Br Dent J*. 1974;137(10):379-90.
48. Gilboe DB, Svare CW, Thayer KE, Drennon DG. Dentinal smearing: an investigation of the phenomenon. *J Prosthet Dent*. 1980;44(3):310-6.
49. Sen BH, Wesselink PR, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J*. 1995;28(3):141-8.
50. Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent*. 1981;46(5):531-7.

51. Akpata ES, Blechman H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. *J Dent Res.* 1982;61(2):435-8.
52. George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2005;31(12):867-72.
53. Wayman BE, Kopp WM, Pinero GJ, Lazzari EP. Citric and lactic acids as root canal irrigants in vitro. *J Endod.* 1979;5(9):258-65.
54. Lester KS, Boyde A. Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. *Br Dent J.* 1977;143(11):359-67.
55. Turkel E, Onay EO, Ungor M. Comparison of Three Final Irrigation Activation Techniques: Effects on Canal Cleanness, Smear Layer Removal, and Dentinal Tubule Penetration of Two Root Canal Sealers. *Photomed Laser Surg.* 2017;35(12):672-81.
56. Orstavik D. *Essential endodontology: prevention and treatment of apical periodontitis*: John Wiley & Sons; 2020.
57. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006;32(5):389-98.
58. Dakin HD. On the use of certain antiseptic substances in the treatment of infected wounds. *Br Med J.* 1915;2(2852):318-20.
59. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002;13(2):113-7.
60. Demenech LS, Tomazinho FSF, Baratto-Filho F, Brancher JA, Pereira LF, Gabardo MCL. Biocompatibility of the 8.25% sodium hypochlorite irrigant solution in endodontics: An in vivo study. *Microsc Res Tech.* 2021;84(7):1506-12.
61. Sim TP, Knowles JC, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *Int Endod J.* 2001;34(2):120-32.
62. Moorer WR, Wesselink PR. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J.* 1982;15(4):187-96.
63. Ulin C, Magunacelaya-Barria M, Dahlén G, Kvist T. Immediate clinical and microbiological evaluation of the effectiveness of 0.5% versus 3% sodium hypochlorite in root canal treatment: A quasi-randomized controlled trial. *Int Endod J.* 2020;53(5):591-603.
64. Demenech LS, de Freitas JV, Tomazinho FSF, Baratto-Filho F, Gabardo MCL. Postoperative Pain after Endodontic Treatment under Irrigation with 8.25% Sodium Hypochlorite and Other Solutions: A Randomized Clinical Trial. *J Endod.* 2021;47(5):696-704.
65. Farzaneh S, Parirokh M, Nakhaee N, Abbott PV. Effect of two different concentrations of sodium hypochlorite on postoperative pain following single-visit root canal treatment: a triple-blind randomized clinical trial. *Int Endod J.* 2018;51 Suppl 1:e2-e11.

66. Mostafa M, El-Shrief YAI, Anous WIO, Hassan MW, Salamah FTA, El Boghdadi RM, et al. Postoperative pain following endodontic irrigation using 1.3% versus 5.25% sodium hypochlorite in mandibular molars with necrotic pulps: a randomized double-blind clinical trial. *Int Endod J.* 2020;53(2):154-66.
67. Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zehnder M. The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. *J Endod.* 2005;31(9):669-71.
68. de Hemptinne F, Slaus G, Vandendael M, Jacquet W, De Moor RJ, Bottenberg P. In Vivo Intracanal Temperature Evolution during Endodontic Treatment after the Injection of Room Temperature or Preheated Sodium Hypochlorite. *J Endod.* 2015;41(7):1112-5.
69. Cotter JL, Fader RC, Lilley C, Herndon DN. Chemical parameters, antimicrobial activities, and tissue toxicity of 0.1 and 0.5% sodium hypochlorite solutions. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;28(1):118-22.
70. Rossi-Fedele G, Guastalli AR, Dođramacı EJ, Steier L, De Figueiredo JA. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. *Int Endod J.* 2011;44(9):792-9.
71. Tashkandi N, Alghamdi F. Effect of Chemical Debridement and Irrigant Activation on Endodontic Treatment Outcomes: An Updated Overview. *Cureus.* 2022;14(1):e21525.
72. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am.* 2010;54(2):291-312.
73. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99(2):231-52.
74. Al-Hadlaq SM, Al-Turaiki SA, Al-Sulami U, Saad AY. Efficacy of a new brush-covered irrigation needle in removing root canal debris: a scanning electron microscopic study. *J Endod.* 2006;32(12):1181-4.
75. Ruddle C. *Microbrush for endodontic use.* Washington, DC.
76. Gu L-s, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *J Endod.* 2009;35(6):791-804.
77. Walters MJ, Baumgartner JC, Marshall JG. Efficacy of irrigation with rotary instrumentation. *J Endod.* 2002;28(12):837-9.
78. Gołabek H, Borys KM, Kohli MR, Brus-Sawczuk K, Strużycka I. Chemical aspect of sodium hypochlorite activation in obtaining favorable outcomes of endodontic treatment: An in-vitro study. *Adv Clin Exp Med.* 2019;28(10):1311-9.
79. Ahmad M, Pitt Ford TJ, Crum LA. Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role. *J Endod.* 1987;13(10):490-9.

80. van der Sluis LW, Wu MK, Wesselink PR. A comparison between a smooth wire and a K-file in removing artificially placed dentine debris from root canals in resin blocks during ultrasonic irrigation. *Int Endod J*. 2005;38(9):593-6.
81. Malentacca A, Uccioli U, Zangari D, Lajolo C, Fabiani C. Efficacy and safety of various active irrigation devices when used with either positive or negative pressure: an in vitro study. *J Endod*. 2012;38(12):1622-6.
82. Do QL, Gaudin A. The efficiency of the Er: YAG laser and photoninduced photoacoustic streaming (PIPS) as an activation method in endodontic irrigation: a literature review. *J Lasers Med Sci*. 2020;11(3):316.
83. Habets JM, Geursen-Reitsma AM, Stolz E, van Joost T. Sensitization to sodium hypochlorite causing hand dermatitis. *Contact Dermatitis*. 1986;15(3):140-2.
84. Test ST, Lampert MB, Ossanna PJ, Thoene JG, Weiss SJ. Generation of nitrogen-chlorine oxidants by human phagocytes. *J Clin Invest*. 1984;74(4):1341-9.
85. Cohen S, Hargreaves KM. *Cohen's pathways of the pulp*: Mosby Elsevier; 2011.
86. Kanagasingam S, Blum IR. Sodium Hypochlorite Extrusion Accidents: Management and Medico-Legal Considerations. *Prim Dent J*. 2020;9(4):59-63.
87. Thota MM, Sudha K, Malini DL, Madhavi SB. Effect of Different Irrigating Solutions on Depth of Penetration of Sealer into Dentinal Tubules: A Confocal Microscopic Study. *Contemp Clin Dent*. 2017;8(3):391-4.
88. Ostby N. Chelating in root canal therapy. Ethylene-diamine tetraacetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odontol Tidskr*. 1957;65:3-11.
89. Seidberg BH, Schilder H. An evaluation of EDTA in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1974;37(4):609-20.
90. Calvo Pérez V, Medina Cárdenas ME, Sánchez Planells U. The possible role of pH changes during EDTA demineralization of teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1989;68(2):220-2.
91. O'Connell MS, Morgan LA, Beeler WJ, Baumgartner JC. A comparative study of smear layer removal using different salts of EDTA. *J Endod*. 2000;26(12):739-43.
92. Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod*. 2002;28(1):17-9.
93. Sen BH, Ertürk O, Pişkin B. The effect of different concentrations of EDTA on instrumented root canal walls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(4):622-7.
94. Gulabivala K, Patel B, Evans G, Ng YL. Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. *Endodontic Topics*. 2005;10(1):103-22.
95. Loel DA. Use of acid cleanser in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc*. 1975;90(1):148-51.
96. Yamaguchi M, Yoshida K, Suzuki R, Nakamura H. Root canal irrigation with citric acid solution. *J Endod*. 1996;22(1):27-9.

97. Liolios E, Economides N, Parissis-Messimeris S, Boutsioukis A. The effectiveness of three irrigating solutions on root canal cleaning after hand and mechanical preparation. *Int Endod J.* 1997;30(1):51-7.
98. Di Lenarda R, Cadenaro M, Sbaizero O. Effectiveness of 1 mol L⁻¹ citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. *Int Endod J.* 2000;33(1):46-52.
99. Scelza MF, Teixeira AM, Scelza P. Decalcifying effect of EDTA-T, 10% citric acid, and 17% EDTA on root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95(2):234-6.
100. Takeda F, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K. A comparative study of the removal of smear layer by three endodontic irrigants and two types of laser. *Int Endod J.* 1999;32(1):32-9.
101. Tartari T, Duarte Junior AP, Silva Júnior JO, Klautau EB, Silva ESJMH, Silva ESJPA. Etidronate from medicine to endodontics: effects of different irrigation regimes on root dentin roughness. *J Appl Oral Sci.* 2013;21(5):409-15.
102. Neelakantan P, Varughese A, Sharma S, Subbarao C, Zehnder M, De-Deus G. Continuous chelation irrigation improves the adhesion of epoxy resin-based root canal sealer to root dentine. *Int Endod J.* 2012;45(12):1097-102.
103. Arias-Moliz MT, Ordinola-Zapata R, Baca P, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM. Antimicrobial activity of a sodium hypochlorite/etidronic acid irrigant solution. *J Endod.* 2014;40(12):1999-2002.
104. Paqué F, Rechenberg D-K, Zehnder M. Reduction of hard-tissue debris accumulation during rotary root canal instrumentation by etidronic acid in a sodium hypochlorite irrigant. *J Endod.* 2012;38(5):692-5.
105. Zollinger A, Mohn D, Zeltner M, Zehnder M. Short-term storage stability of Na OC 1 solutions when combined with Dual Rinse HEDP. *Int Endod J.* 2018;51(6):691-6.
106. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc.* 1986;112(6):863-9.
107. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009;42(4):288-302.
108. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2003;36(4):267-75.
109. Basrani B, Lemonie C. Chlorhexidine gluconate. *Aust Endod J.* 2005;31(2):48-52.
110. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Santos SR, Lima KC, Magalhães FA, de Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod.* 2002;28(3):181-4.
111. Ruksakiet K, Hanák L, Farkas N, Hegyi P, Sadaeng W, Czumbel LM, et al. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root

- Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *J Endod.* 2020;46(8):1032-41.e7.
112. Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod.* 2006;32(5):434-7.
 113. Torabinejad M, Johnson WB. Irrigation solution and methods for use. Google Patents; 2003.
 114. Singla MG, Garg A, Gupta S. MTAD in endodontics: an update review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(3):e70-6.
 115. Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod.* 2003;29(4):233-9.
 116. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Doyle MD, Gillespie WT, Weller RN, et al. Ultrastructure of smear layer-covered intraradicular dentin after irrigation with BioPure MTAD. *J Endod.* 2006;32(3):218-21.
 117. Mozayeni MA, Javaheri GH, Poorroosta P, Ashari MA, Javaheri HH. Effect of 17% EDTA and MTAD on intracanal smear layer removal: a scanning electron microscopic study. *Aust Endod J.* 2009;35(1):13-7.
 118. Gründling GL, Melo TAFd, Montagner F, Scarparo RK, Vier-Pelisser FV. QMix® irrigant reduces lipopolysaccharide (LPS) levels in an in vitro model. *J Appl Oral Sci.* 2015;23:431-5.
 119. Haapasalo M. Composition and method for irrigation of a prepared dental root canal. Google Patents; 2014.
 120. Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J.* 2012;45(4):363-71.
 121. Erik CE, Maden M, Çelik G. Endodontide Kullanılan İrrigasyon Solüsyonları. *SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2018;9(3):31-8.
 122. Mansoori GA, Soelaiman TF. Nanotechnology--An introduction for the standards community: ASTM International; 2005.
 123. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules.* 2019;25(1).
 124. Pradell T, Climent-Font A, Molera J, Zucchiatti A, Ynsa M, Roura P, et al. Metallic and nonmetallic shine in luster: An elastic ion backscattering study. *J Appl Phys.* 2007;101(10):103518.
 125. Taniguchi N. On the Basic Concept of Nanotechnology: Proceedings of the International Conference on Production Engineering, 1974, Tokyo. Part II. Tokyo: Japan Society of Precision Engineering; 1974.
 126. Drexler EK, Peterson C, Pergamit G. Unbounding the future: the nanotechnology revolution. William Morrow and Company. Inc: New York, NY, USA. 1991.

127. Rauscher H, Sokull-Klüttgen B, Stamm H. The European Commission's recommendation on the definition of nanomaterial makes an impact. *Nanotoxicology*. 2012;7(7):1195-7.
128. Raura N, Garg A, Arora A, Roma M. Nanoparticle technology and its implications in endodontics: a review. *Biomater Res*. 2020;24(1):21.
129. Bapat RA, Joshi CP, Bapat P, Chaubal TV, Pandurangappa R, Jnanendrapa N, et al. The use of nanoparticles as biomaterials in dentistry. *Drug Discov Today*. 2019;24(1):85-98.
130. Mitra SB, Wu D, Holmes BN. An application of nanotechnology in advanced dental materials. *J Am Dent Assoc*. 2003;134(10):1382-90.
131. Gaharwar AK, Peppas NA, Khademhosseini A. Nanocomposite hydrogels for biomedical applications. *Biotechnol Bioeng*. 2014;111(3):441-53.
132. Moraes G, Zambom C, Siqueira WL. Nanoparticles in Dentistry: A Comprehensive Review. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021;14(8).
133. Ferreira I, Vidal CL, Botelho AL, Ferreira PS, da Costa Valente ML, Schiavon MA, et al. Effect of nanomaterial incorporation on the mechanical and microbiological properties of dental porcelain. *J Prosthet Dent*. 2020;123(3):529.e1-. e5.
134. Onwubu SC, Mdluli PS, Singh S. The Effectiveness of Nanomaterials in the Management of Dentine Hypersensitivity-A review. *J Clin Rev Case Rep*. 2018;3(8):5.
135. Chieruzzi M, Pagano S, Moretti S, Pinna R, Milia E, Torre L, et al. Nanomaterials for tissue engineering in dentistry. *Nanomaterials*. 2016;6(7):134.
136. Zakrzewski W, Dobrzyński M, Zawadzka-Knefel A, Lubojański A, Dobrzyński W, Janecki M, et al. Nanomaterials Application in Endodontics. *Materials (Basel)*. 2021;14(18).
137. Yang X, Yang F, Walboomers XF, Bian Z, Fan M, Jansen JA. The performance of dental pulp stem cells on nanofibrous PCL/gelatin/nHA scaffolds. *J Biomed Mater Res A*. 2010;93(1):247-57.
138. Wang J, Liu X, Jin X, Ma H, Hu J, Ni L, et al. The odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells on nanofibrous poly (L-lactic acid) scaffolds in vitro and in vivo. *Acta Biomater*. 2010;6(10):3856-63.
139. Moradi F, Haghgoo R. Evaluation of antimicrobial efficacy of nanosilver solution, sodium hypochlorite and normal saline in root canal irrigation of primary teeth. *Contemp Clin Dent*. 2018;9(Suppl 2):S227.
140. De Almeida J, Cechella BC, Bernardi AV, de Lima Pimenta A, Felipe WT. Effectiveness of nanoparticles solutions and conventional endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Indian J Dent Res*. 2018;29(3):347.
141. Jowkar Z, Hamidi SA, Shafiei F, Ghahramani Y. The effect of silver, zinc oxide, and titanium dioxide nanoparticles used as final irrigation solutions on the fracture resistance of root-filled teeth. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2020;12:141.

142. Kishen A, Shrestha S, Shrestha A, Cheng C, Goh C. Characterizing the collagen stabilizing effect of crosslinked chitosan nanoparticles against collagenase degradation. *Dent Mater.* 2016;32(8):968-77.
143. Li FC, Kishen A. Microtissue engineering root canal dentine with crosslinked biopolymeric nanoparticles for mechanical stabilization. *Int Endod J.* 2018;51(10):1171-80.
144. Li FC, Nicholson E, Singh CV, Kishen A. Microtissue Engineering Root Dentin with Photodynamically Cross-linked Nanoparticles Improves Fatigue Resistance of Endodontically Treated Teeth. *J Endod.* 2020;46(5):668-74.
145. Abbasi E, Milani M, Fekri Aval S, Kouhi M, Akbarzadeh A, Tayefi Nasrabadi H, et al. Silver nanoparticles: Synthesis methods, bio-applications and properties. *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(2):173-80.
146. Zhang Y, Shareena Dasari TP, Deng H, Yu H. Antimicrobial Activity of Gold Nanoparticles and Ionic Gold. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2015;33(3):286-327.
147. Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *Rsc Advances.* 2014;4(8):3974-83.
148. Seth D, Choudhury SR, Pradhan S, Gupta S, Palit D, Das S, et al. Nature-inspired novel drug design paradigm using nanosilver: efficacy on multi-drug-resistant clinical isolates of tuberculosis. *Curr Microbiol.* 2011;62(3):715-26.
149. Seung J, Weir MD, Melo MAS, Romberg E, Nosrat A, Xu HH, et al. A modified resin sealer: physical and antibacterial properties. *J Endod.* 2018;44(10):1553-7.
150. Teixeira ABV, Vidal CL, De Castro DT, de Oliveira-Santos C, Schiavon MA, Dos Reis AC. Incorporating antimicrobial nanomaterial and its effect on the antimicrobial activity, flow and radiopacity of endodontic sealers. *Eur Endod J.* 2017;2(1):1.
151. Baras BH, Sun J, Melo MAS, Tay FR, Oates TW, Zhang K, et al. Novel root canal sealer with dimethylaminohexadecyl methacrylate, nano-silver and nano-calcium phosphate to kill bacteria inside root dentin and increase dentin hardness. *Dental Materials.* 2019;35(10):1479-89.
152. Shantiaee Y, Dianat O, Mohammadkhani H, AKBARZADEH BA. Cytotoxicity comparison of nanosilver coated gutta-percha with Guttaflow and normal gutta-percha on L929 fibroblast with MTT assay. *Beheshti Univ Dental J*, vol. 29, pp. 62–68, 2011.
153. Shantiaee Y, Maziar F, Dianat O, Mahjour F. Comparing microleakage in root canals obturated with nanosilver coated gutta-percha to standard gutta-percha by two different methods. *Iran Endod J.* 2011;6(4):140.
154. Stuchinskaya T, Moreno M, Cook MJ, Edwards DR, Russell DA. Targeted photodynamic therapy of breast cancer cells using antibody-phthalocyanine-gold nanoparticle conjugates. *Photochem Photobiol Sci.* 2011;10(5):822-31.

155. Connor EE, Mwamuka J, Gole A, Murphy CJ, Wyatt MD. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small*. 2005;1(3):325-7.
156. Wu W, Jiang CZ, Roy VA. Designed synthesis and surface engineering strategies of magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Nanoscale*. 2016;8(47):19421-74.
157. Sanvicens N, Marco MP. Multifunctional nanoparticles--properties and prospects for their use in human medicine. *Trends Biotechnol*. 2008;26(8):425-33.
158. Balto H, Bukhary S, Al-Omran O, BaHammam A, Al-Mutairi B. Combined Effect of a Mixture of Silver Nanoparticles and Calcium Hydroxide against *Enterococcus faecalis* Biofilm. *J Endod*. 2020;46(11):1689-94.
159. Afkhami F, Elahy S, Mahmoudi-Nahavandi A. Spectrophotometric analysis of crown discoloration following the use of silver nanoparticles combined with calcium hydroxide as intracanal medicament. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(7):e842-e7.
160. Kushwaha V, Yadav RK, Tikku AP, Chandra A, Verma P, Gupta P, et al. Comparative evaluation of antibacterial effect of nanoparticles and lasers against Endodontic Microbiota: An in vitro study. *J Clin Exp Dent*. 2018;10(12):e1155-e60.
161. Kamath KA, Nasim I, Rajeshkumar S. Evaluation of the re-mineralization capacity of a gold nanoparticle-based dental varnish: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2020;23(4):390-4.
162. Jones JR. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomater*. 2013;9(1):4457-86.
163. Soumya S, Gaffoor MAF, Samuel A, Gopakumar R, Girish CS, Sajeena NC. Comparative Evaluation of Antibacterial Property of Bioactive Glass Alone and its Combination with Chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* - An In vitro Study. *J Pharm Bioallied Sci*. 2021;13(Suppl 2):S1448-s51.
164. Obeid MF, El-Batouty KM, Aslam M. The effect of using nanoparticles in bioactive glass on its antimicrobial properties. *Restor Dent Endod*. 2021;46(4):e58.
165. Murata K, Washio A, Morotomi T, Rojasawasthien T, Kokabu S, Kitamura C. Physicochemical Properties, Cytocompatibility, and Biocompatibility of a Bioactive Glass Based Retrograde Filling Material. *Nanomaterials (Basel)*. 2021;11(7).
166. Najahi-Missaoui W, Arnold RD, Cummings BS. Safe Nanoparticles: Are We There Yet? *Int J Mol Sci*. 2020;22(1).
167. Serpell CJ, Kostarelos K, Davis BG. Can Carbon Nanotubes Deliver on Their Promise in Biology? Harnessing Unique Properties for Unparalleled Applications. *ACS Cent Sci*. 2016;2(4):190-200.
168. Barnard AS. Self-assembly in nanodiamond agglutinates. *J Mat Chem*. 2008;18(34):4038-41.

169. Alshehri R, Ilyas AM, Hasan A, Arnaout A, Ahmed F, Memic A. Carbon Nanotubes in Biomedical Applications: Factors, Mechanisms, and Remedies of Toxicity. *J Med Chem.* 2016;59(18):8149-67.
170. Ozlek E, Rath PP, Kishen A, Neelakantan P. A chitosan-based irrigant improves the dislocation resistance of a mineral trioxide aggregate-resin hybrid root canal sealer. *Clin Oral Investig.* 2020;24(1):151-6.
171. Del Carpio-Perochena A, Bramante CM, Duarte MA, de Moura MR, Aouada FA, Kishen A. Chelating and antibacterial properties of chitosan nanoparticles on dentin. *Restor Dent Endod.* 2015;40(3):195-201.
172. Espinosa-Cristóbal LF, Martínez-Castañón GA, Loyola-Rodríguez JP, Niño-Martínez N, Ruiz F, Zavala-Alonso NV, et al. Bovine serum albumin and chitosan coated silver nanoparticles and its antimicrobial activity against oral and nonoral bacteria. *J Nanomater.* 2015;2015.
173. Agnihotri SA, Mallikarjuna NN, Aminabhavi TM. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *J Control Release.* 2004;100(1):5-28.
174. Ahsan SM, Thomas M, Reddy KK, Sooraparaju SG, Asthana A, Bhatnagar I. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering. *Int J Biol Macromol.* 2018;110:97-109.
175. Sugiyanti D, Darmadji P, Anggrahini S, Anwar C, Santoso U. Preparation and characterization of chitosan from Indonesian Tambak Lorok shrimp shell waste and crab shell waste. *Pak J Nutr.* 2018;17:446-53.
176. Zhong Y, Zhuang C, Gu W, Zhao Y. Effect of molecular weight on the properties of chitosan films prepared using electrostatic spraying technique. *Carbohydr Polym.* 2019;212:197-205.
177. Shoueir KR, El-Desouky N, Rashad MM, Ahmed MK, Janowska I, El-Kemary M. Chitosan based-nanoparticles and nanocapsules: Overview, physicochemical features, applications of a nanofibrous scaffold, and bioprinting. *Int J Biol Macromol.* 2021;167:1176-97.
178. Zakharova NV, Simonova MA, Zelinskii SN, Annenkov VV, Filippov AP. Synthesis, molecular characteristics, and stimulus-sensitivity of graft copolymer of chitosan and poly (N, N-diethylacrylamide). *J Mol Liq.* 2019;292:111355.
179. Tan W, Krishnaraj R, Desai TA. Evaluation of nanostructured composite collagen--chitosan matrices for tissue engineering. *Tissue Eng.* 2001;7(2):203-10.
180. Duan C, Meng X, Meng J, Khan MIH, Dai L, Khan A, et al. Chitosan as a preservative for fruits and vegetables: a review on chemistry and antimicrobial properties. *Journal of Bioresources and Bioproducts.* 2019;4(1):11-21.
181. Beck BH, Yildirim-Aksoy M, Shoemaker CA, Fuller SA, Peatman E. Antimicrobial activity of the biopolymer chitosan against *Streptococcus iniae*. *Journal of fish diseases.* 2019;42(3):371-7.

182. Upadya M, Shrestha A, Kishen A. Role of efflux pump inhibitors on the antibiofilm efficacy of calcium hydroxide, chitosan nanoparticles, and light-activated disinfection. *J Endod.* 2011;37(10):1422-6.
183. Chronopoulou L, Nocca G, Castagnola M, Paludetti G, Ortaggi G, Sciubba F, et al. Chitosan based nanoparticles functionalized with peptidomimetic derivatives for oral drug delivery. *New biotechnology.* 2016;33(1):23-31.
184. Zhang X, Li Y, Sun X, Kishen A, Deng X, Yang X, et al. Biomimetic remineralization of demineralized enamel with nano-complexes of phosphorylated chitosan and amorphous calcium phosphate. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* 2014;25(12):2619-28.
185. Chávez de Paz LE, Resin A, Howard KA, Sutherland DS, Wejse PL. Antimicrobial effect of chitosan nanoparticles on *Streptococcus mutans* biofilms. *Applied and environmental microbiology.* 2011;77(11):3892-5.
186. del Carpio-Perochena A, Kishen A, Felitti R, Bhagirath AY, Medapati MR, Lai C, et al. Antibacterial properties of chitosan nanoparticles and propolis associated with calcium hydroxide against single- and multispecies biofilms: an in vitro and in situ study. *J Endod.* 2017;43(8):1332-6.
187. del Carpio-Perochena A, Kishen A, Shrestha A, Bramante CM. Antibacterial properties associated with chitosan nanoparticle treatment on root dentin and 2 types of endodontic sealers. *J Endod.* 2015;41(8):1353-8.
188. Pattanaik S, Jena A, Shashirekha G. In vitro comparative evaluation of antifungal efficacy of three endodontic sealers with and without incorporation of chitosan nanoparticles against *Candida albicans*. *J Conserv Dent.* 2019;22(6):564-7.
189. Kumar RS, Ravikumar N, Kavitha S, Mahalaxmi S, Jayasree R, Kumar TS, et al. Nanochitosan modified glass ionomer cement with enhanced mechanical properties and fluoride release. *International journal of biological macromolecules.* 2017;104:1860-5.
190. Aydın ZU, Özyürek T, Keskin B, Baran T. Effect of chitosan nanoparticle, QMix, and EDTA on TotalFill BC sealers' dentinal tubule penetration: a confocal laser scanning microscopy study. *Odontology.* 2019;107(1):64-71.
191. Silva PV, Guedes DF, Nakadi FV, Pecora JD, Cruz-Filho AM. Chitosan: a new solution for removal of smear layer after root canal instrumentation. *Int Endod J.* 2013;46(4):332-8.
192. Kamble AB, Abraham S, Kakde DD, Shashidhar C, Mehta DL. Scanning electron microscopic evaluation of efficacy of 17% ethylenediaminetetraacetic acid and chitosan for smear layer removal with ultrasonics: an in vitro study. *Contemp Clin Dent.* 2017;8(4):621.
193. Saha SG, Sharma V, Bharadwaj A, Shrivastava P, Saha MK, Dubey S, et al. Effectiveness of Various Endodontic Irrigants on the Micro-Hardness of the Root Canal Dentin: An in vitro Study. *J Clin Diagn Res.* 2017;11(4):Zc01-zc4.
194. Shrestha A, Hamblin MR, Kishen A. Photoactivated rose bengal functionalized chitosan nanoparticles produce antibacterial/biofilm activity and stabilize dentin-collagen. *Nanomedicine.* 2014;10(3):491-501.

195. Jiao Y, Tay FR, Niu LN, Chen JH. Advancing antimicrobial strategies for managing oral biofilm infections. *Int J Oral Sci.* 2019;11(3):28.
196. Wollensak G, Iomdina E. Long-term biomechanical properties of rabbit cornea after photodynamic collagen crosslinking. *Acta Ophthalmol.* 2009;87(1):48-51.
197. Suzuki S, Masuda Y, Morisaki H, Yamada Y, Kuwata H, Miyazaki T. The study of chitosan-citrate solution as a root canal irrigant: a preliminary report. *Oral Hyg Health.* 2014;2(142):2332-0702.1000142.
198. Silva PV, Guedes DF, Pecora JD, da Cruz-Filho AM. Time-dependent effects of chitosan on dentin structures. *Braz Dent J.* 2012;23(4):357-61.
199. Jaiswal N, Sinha DJ, Singh UP, Singh K, Jandial UA, Goel S. Evaluation of antibacterial efficacy of Chitosan, Chlorhexidine, Propolis and Sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis* biofilm: An in vitro study. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(9):e1066-e74.
200. Yadav P, Chaudhary S, Saxena RK, Talwar S, Yadav S. Evaluation of Antimicrobial and Antifungal efficacy of Chitosan as endodontic irrigant against *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans* Biofilm formed on tooth substrate. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(3):e361-e7.
201. Holmes DF, Lu Y, Starborg T, Kadler KE. Collagen Fibril Assembly and Function. *Curr Top Dev Biol.* 2018;130:107-42.
202. Gu L, Shan T, Ma Y-x, Tay FR, Niu L. Novel biomedical applications of crosslinked collagen. *Trends Biotechnol.* 2019;37(5):464-91.
203. Gu L, Shan T, Ma YX, Tay FR, Niu L. Novel Biomedical Applications of Crosslinked Collagen. *Trends Biotechnol.* 2019;37(5):464-91.
204. Di Stefano V, Torsello B, Bianchi C, Cifola I, Mangano E, Bovo G, et al. Major action of endogenous lysyl oxidase in clear cell renal cell carcinoma progression and collagen stiffness revealed by primary cell cultures. *American J Pathol.* 2016;186(9):2473-85.
205. Dias J, Diakonis VF, Lorenzo M, Gonzalez F, Porras K, Douglas S, et al. Corneal stromal elasticity and viscoelasticity assessed by atomic force microscopy after different cross linking protocols. *Exp Eye Res.* 2015;138:1-5.
206. Lakra R, Kiran MS, Sai KP. Fabrication of homobifunctional crosslinker stabilized collagen for biomedical application. *Biomed Mater.* 2015;10(6):065015.
207. Li X, Xue W, Zhu C, Fan D, Liu Y. Novel hydrogels based on carboxyl pullulan and collagen crosslinking with 1, 4-butanediol diglycidylether for use as a dermal filler: initial in vitro and in vivo investigations. *Mater Sci Eng: C.* 2015;57:189-96.
208. Martínez A, Blanco M, Davidenko N, Cameron R. Tailoring chitosan/collagen scaffolds for tissue engineering: Effect of composition and different crosslinking agents on scaffold properties. *Carbohydrate polymers.* 2015;132:606-19.
209. Chen Y-c, Chen M, Gaffney EA, Brown CP. Effect of crosslinking in cartilage-like collagen microstructures. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2017;66:138-43.

210. Niu L-n, Sun J-q, Li Q-h, Jiao K, Shen L-j, Wu D, et al. Intrafibrillar-silicified collagen scaffolds enhance the osteogenic capacity of human dental pulp stem cells. *J Dent*. 2014;42(7):839-49.
211. Duan L, Yuan Q, Xiang H, Yang X, Liu L, Li J. Fabrication and characterization of a novel collagen-catechol hydrogel. *J Biomater Appl*. 2018;32(7):862-70.
212. Huang-Lee LL, Cheung DT, Nimni ME. Biochemical changes and cytotoxicity associated with the degradation of polymeric glutaraldehyde derived crosslinks. *J Biomed Mater Res*. 1990;24(9):1185-201.
213. Lee JE, Park JC, Hwang YS, Kim JK, Kim JG, Sub H. Characterization of UV-irradiated dense/porous collagen membranes: morphology, enzymatic degradation, and mechanical properties. *Yonsei Med J*. 2001;42(2):172-9.
214. Nishi C, Nakajima N, Ikada Y. In vitro evaluation of cytotoxicity of diepoxy compounds used for biomaterial modification. *J Biomed Mater Res*. 1995;29(7):829-34.
215. Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci*. 2004;3(5):436-50.
216. Persadmehr A, Torneck CD, Cvitkovitch DG, Pinto V, Talior I, Kazembe M, et al. Bioactive chitosan nanoparticles and photodynamic therapy inhibit collagen degradation in vitro. *J Endod*. 2014;40(5):703-9.
217. Shrestha A, Kishen A. Antibacterial efficacy of photosensitizer functionalized biopolymeric nanoparticles in the presence of tissue inhibitors in root canal. *J Endod*. 2014;40(4):566-70.
218. Sung H-W, Huang R-N, Huang LL, Tsai C-C. In vitro evaluation of cytotoxicity of a naturally occurring cross-linking reagent for biological tissue fixation. *J Biomater Sci, Polym Ed*. 1999;10(1):63-78.
219. Sung HW, Chang WH, Ma CY, Lee MH. Crosslinking of biological tissues using genipin and/or carbodiimide. *J Biomed Mater Res A*. 2003;64(3):427-38.
220. Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009;91(1):419-24.
221. Nagaoka H, Nagaoka H, Walter R, Boushell LW, Miguez PA, Burton A, et al. Characterization of genipin-modified dentin collagen. *Biomed Res Int*. 2014;2014:702821.
222. Walter R, Miguez PA, Arnold RR, Pereira PN, Duarte WR, Yamauchi M. Effects of natural cross-linkers on the stability of dentin collagen and the inhibition of root caries in vitro. *Caries Res*. 2008;42(4):263-8.
223. Kwon YS, Lim ES, Kim HM, Hwang YC, Lee KW, Min KS. Genipin, a cross-linking agent, promotes odontogenic differentiation of human dental pulp cells. *J Endod*. 2015;41(4):501-7.
224. Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay F, et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *J Dent Res*. 2015;94(2):241-51.

225. Mankovskaia A, Levesque CM, Prakki A. Catechin-incorporated dental copolymers inhibit growth of *Streptococcus mutans*. *J Appl Oral Sci*. 2013;21:203-7.
226. Hall R, Septier D, Embery G, Goldberg M. Stromelysin-1 (MMP-3) in forming enamel and predentine in rat incisor-coordinated distribution with proteoglycans suggests a functional role. *Histochem J*. 1999;31(12):761-70.
227. Masarudin MJ, Cutts SM, Evison BJ, Phillips DR, Pigram PJ. Factors determining the stability, size distribution, and cellular accumulation of small, monodisperse chitosan nanoparticles as candidate vectors for anticancer drug delivery: application to the passive encapsulation of [14C]-doxorubicin. *Nanotechnol Sci Appl*. 2015;8:67.
228. Kreuter J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001;47(1):65-81.
229. Bhattacharjee S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *J Control Release*. 2016;235:337-51.
230. Jonassen H, Kjørniksen A-L, Hiorth M. Stability of chitosan nanoparticles cross-linked with tripolyphosphate. *Biomacromolecules*. 2012;13(11):3747-56.
231. Jonassen H, Kjørniksen AL, Hiorth M. Stability of chitosan nanoparticles cross-linked with tripolyphosphate. *Biomacromolecules*. 2012;13(11):3747-56.
232. Tait CM, Ricketts DN, Higgins AJ. Restoration of the root-filled tooth: pre-operative assessment. *Br Dent J*. 2005;198(7):395-404.
233. Huang TJ, Schilder H, Nathanson D. Effects of moisture content and endodontic treatment on some mechanical properties of human dentin. *J Endod*. 1992;18(5):209-15.
234. Tang W, Wu Y, Smales RJ. Identifying and reducing risks for potential fractures in endodontically treated teeth. *J Endod*. 2010;36(4):609-17.
235. Siqueira Junior JF, Rôças IDN, Marceliano-Alves MF, Pérez AR, Ricucci D. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Braz Oral Res*. 2018;32(suppl 1):e65.
236. Wani TU, Pandith AH, Sheikh FA. Polyelectrolytic nature of chitosan: Influence on physicochemical properties and synthesis of nanoparticles. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021;65:102730.
237. Calvo P, Remunan-Lopez C, Vila-Jato JL, Alonso M. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *J Appl Polym Sci*. 1997;63(1):125-32.
238. Lee S-T, Mi F-L, Shen Y-J, Shyu S-S. Equilibrium and kinetic studies of copper (II) ion uptake by chitosan-tripolyphosphate chelating resin. *Polymer*. 2001;42(5):1879-92.
239. Chen H, Ruckenstein E. Formation and degradation of multicomponent multicore micelles: insights from dissipative particle dynamics simulations. *Langmuir*. 2013;29(18):5428-34.

240. Tsai M-L, Chen R-H, Bai S-W, Chen W-Y. The storage stability of chitosan/tripolyphosphate nanoparticles in a phosphate buffer. *Carbohydrate Polymers*. 2011;84(2):756-61.
241. Liu H, Gao C. Preparation and properties of ionically cross-linked chitosan nanoparticles. *Polym Adv Technol*. 2009;20(7):613-9.
242. Vijayaraghavan R, Mathian VM, Sundaram AM, Karunakaran R, Vinodh S. Triple antibiotic paste in root canal therapy. *J Pharm Bioallied Sci*. 2012;4(Suppl 2):S230.
243. Naseri M, Eftekhari L, Gholami F, Atai M, Dianat O. The Effect of Calcium Hydroxide and Nano-calcium Hydroxide on Microhardness and Superficial Chemical Structure of Root Canal Dentin: An Ex Vivo Study. *J Endod*. 2019;45(9):1148-54.
244. Arends J, Ten Bosch J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res*. 1992;71(3_suppl):924-8.
245. Prabhakar A, Taur S, Hadakar S, Sugandhan S. Comparison of antibacterial efficacy of calcium hydroxide paste, 2% chlorhexidine gel and turmeric extract as an intracanal medicament and their effect on microhardness of root dentin: an in vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2013;6(3):171.
246. Amaral C, Ormiga F, Boldrini L, Miranda P, Mendonça T, Granjeiro J, et al. Evaluation of the effects of the solution used for electrochemical dissolution of nickel–titanium endodontic files on dentine structure, microhardness and cell viability. *Int Endod J*. 2018;51(12):1434-45.
247. Rath PP, Yiu CKY, Matinlinna JP, Kishen A, Neelakantan P. The effect of root canal irrigants on dentin: a focused review. *Restor Dent Endod*. 2020;45(3).
248. Slutzky-Goldberg I, Maree M, Liberman R, Heling I. Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *J Endod*. 2004;30(12):880-2.
249. Sayin TC, Serper A, Cehreli ZC, Kalayci S. Calcium loss from root canal dentin following EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl treatment with or without subsequent NaOCl irrigation. *J Endod*. 2007;33(5):581-4.
250. Wang Z, Maezono H, Shen Y, Haapasalo M. Evaluation of Root Canal Dentin Erosion after Different Irrigation Methods Using Energy-dispersive X-ray Spectroscopy. *J Endod*. 2016;42(12):1834-9.
251. Baldasso FER, Roleto L, Silva VDD, Morgental RD, Kopper PMP. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. *Braz Oral Res*. 2017;31:e40.
252. Nikhil V, Jaiswal S, Bansal P, Arora R, Raj S, Malhotra P. Effect of phytic acid, ethylenediaminetetraacetic acid, and chitosan solutions on microhardness of the human radicular dentin. *J Conserv Dent: JCD*. 2016;19(2):179.
253. Curylofo-Zotti FA, Tanta GS, Zucoloto ML, Souza-Gabriel AE, Corona SA. Selective removal of carious lesion with Er: YAG laser followed by dentin biomodification with chitosan. *Lasers Med Sci*. 2017;32(7):1595-603.


254. Antunes PVS, Flamini LES, Chaves JFM, Silva RG, Cruz Filho AMD. Comparative effects of final canal irrigation with chitosan and EDTA. *J Appl Oral Sci.* 2020;28:e20190005.
255. Pimenta JA, Zaparolli D, Pécora JD, Cruz-Filho AM. Chitosan: effect of a new chelating agent on the microhardness of root dentin. *Braz Dent J.* 2012;23:212-7.
256. Madhavan K, Belchenko D, Motta A, Tan W. Evaluation of composition and crosslinking effects on collagen-based composite constructs. *Acta biomater.* 2010;6(4):1413-22.
257. Wang X, Li D, Wang W, Feng Q, Cui F, Xu Y, et al. Crosslinked collagen/chitosan matrix for artificial livers. *Biomaterials.* 2003;24(19):3213-20.
258. Fawzy AS, Nitisusanta LI, Iqbal K, Daood U, Beng LT, Neo J. Chitosan/Riboflavin-modified demineralized dentin as a potential substrate for bonding. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2013;17:278-89.
259. Watanabe K. Collagenolytic proteases from bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2004;63(5):520-6.
260. Eckhard U, Schönauer E, Brandstetter H. Structural basis for activity regulation and substrate preference of clostridial collagenases G, H, and T. *J Biol Chem.* 2013;288(28):20184-94.
261. Habelitz S, Balooch M, Marshall SJ, Balooch G, Marshall Jr GW. In situ atomic force microscopy of partially demineralized human dentin collagen fibrils. *J Struct Biol.* 2002;138(3):227-36.
262. Shrestha A, Friedman S, Kishen A. Photodynamically crosslinked and chitosan-incorporated dentin collagen. *J Dent Res.* 2011;90(11):1346-51.
263. Saghiri MA, Asgar K, Lotfi M, Karamifar K, Saghiri AM, Neelakantan P, et al. Back-scattered and secondary electron images of scanning electron microscopy in dentistry: a new method for surface analysis. *Acta Odontol Scand.* 2012;70(6):603-9.
264. Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, De Stefano Dorigo E, Rossi PL, Prati C. Kinetics of apatite formation on a calcium-silicate cement for root-end filling during ageing in physiological-like phosphate solutions. *Clin Oral Investig.* 2010;14(6):659-68.
265. Mohammed A, Abdullah A, editors. Scanning electron microscopy (SEM): A review. Proceedings of the 2018 International Conference on Hydraulics and Pneumatics—HERVEX, Băile Govora, Romania; 2018.
266. Shim WJ, Hong SH, Eo SE. Identification methods in microplastic analysis: a review. *Analytical methods.* 2017;9(9):1384-91.
267. Zuend A, Marcolli C, Peter T, Seinfeld JH. Computation of liquid-liquid equilibria and phase stabilities: implications for RH-dependent gas/particle partitioning of organic-inorganic aerosols. *Atmos Chem Phys.* 2010;10(16):7795-820.

268. Mahrt F, Newman E, Huang Y, Ammann M, Bertram AK. Phase Behavior of Hydrocarbon-like Primary Organic Aerosol and Secondary Organic Aerosol Proxies Based on Their Elemental Oxygen-to-Carbon Ratio. *Environ Sci Technol.* 2021;55(18):12202-14.
269. Ye J, Van Rooy P, Adam CH, Jeong C-H, Urch B, Cocker III DR, et al. Predicting secondary organic aerosol enhancement in the presence of atmospherically relevant organic particles. *ACS Earth and Space Chem.* 2018;2(10):1035-46.
270. Klont B, Ten Cate J. Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: the role of the collagenous matrix. *Caries Res.* 1991;25(1):39-45.
271. Kleter G, Damen J, Everts V, Niehof J, Ten Cate J. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. *J Dent Res.* 1994;73(9):1523-9.
272. Hiraishi N, Sono R, Islam M, Otsuki M, Tagami J, Takatsuka T. Effect of hesperidin in vitro on root dentine collagen and demineralization. *J Dent.* 2011;39(5):391-6.
273. Lopes FC, Roperto R, Akkus A, Silva Sousa YTC, Sousa-Neto MD. Evaluation of chemical and morphological changes in radicular dentin after different final surface treatments. *Microsc Res Tech.* 2018;81(9):973-9.
274. Zhang K, Kim YK, Cadenaro M, Bryan TE, Sidow SJ, Loushine RJ, et al. Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. *J Endod.* 2010;36(1):105-9.
275. Tartari T, Bachmann L, Zancan R, Vivian RR, Duarte MAH, Bramante CM. 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:e42-e54.
276. Tartari T, Bachmann L, Maliza AGA, Andrade FB, Duarte MAH, Bramante CM. Tissue dissolution and modifications in dentin composition by different sodium hypochlorite concentrations. *J Appl Oral Sci.* 2016;24:291-8.
277. Zhang K, Tay FR, Kim YK, Mitchell JK, Kim JR, Carrilho M, et al. The effect of initial irrigation with two different sodium hypochlorite concentrations on the erosion of instrumented radicular dentin. *Dent Mater.* 2010;26(6):514-23.
278. Hu X, Peng Y, Sum C-p, Ling J. Effects of concentrations and exposure times of sodium hypochlorite on dentin deproteinization: attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy study. *J Endod.* 2010;36(12):2008-11.
279. Di Renzo M, Ellis T, Sacher E, Stangel I. A photoacoustic FTIRS study of the chemical modifications of human dentin surfaces:: II. Deproteinization. *Biomaterials.* 2001;22(8):793-7.
280. Bosaid F, Aksel H, Makowka S, Azim A. Surface and structural changes in root dentine by various chelating solutions used in regenerative endodontics. *Int Endod J.* 2020;53(10):1438-45.

281. Barón M, Morales V, Fuentes MV, Linares M, Escribano N, Ceballos L. The influence of irrigation solutions in the inorganic and organic radicular dentine composition. *Aust Endod J.* 2020;46(2):217-25.
282. Morgan A, Ng YL, Odlyha M, Gulabivala K, Bozec L. Proof-of-concept study to establish an in situ method to determine the nature and depth of collagen changes in dentine using Fourier Transform Infra-Red spectroscopy after sodium hypochlorite irrigation. *Int Endod J.* 2019;52(3):359-70.
283. Zhang X, Chen X, Yang T, Zhang N, Dong L, Ma S, et al. The effects of different crossing-linking conditions of genipin on type I collagen scaffolds: an in vitro evaluation. *Cell Tissue Bank.* 2014;15(4):531-41.
284. Verdelis K, Eliades G, Oviir T, Margelos J. Effect of chelating agents on the molecular composition and extent of decalcification at cervical, middle and apical root dentin locations. *Endod Dent Traumatol.* 1999;15(4):164-70.
285. Knuuttila M, Paunio K. The interaction of collagenase with hydroxyapatite and related materials and enzymatic properties of the adsorbed enzyme. *Calcif Tissue Res.* 1978;25(1):127-31.

8. EKLER

EK-1: Etik Onay Belgesi



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557-825

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 09 HAZİRAN 2020 SALI
Toplantı No : 2020/11
Proje No : GO 20/504 (Değerlendirme Tarihi: 09.06.2020)
Karar No : 2020/11-41

Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Selen Küçükkaya EREN'in sorumlu araştırmacı olduğu, Öğr. Gör. Şükrü ÖZTÜRK, Prof. Dr. Kezban ULUBAYRAM ile birlikte çalışacakları ve St. Sena Nihan ŞENGÜL'ün uzmanlık tezi olan, GO 20/504 kayıt numaralı "*Kök Kanal Tedavisinde Uygulanan Nanopartikül İçerikli İrrigasyon Protokolünün Dentinin Fiziksel ve Mekanik Özelliklerine Etkisi*" başlıklı proje önerisi araştırmacının gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 10 Haziran 2020-10 Ekim 2021 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan **uygun bulunmuştur**. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğini Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

1. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN	(Başkan)	9. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR	(Üye)
2. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU	(Üye)	10. Doç. Dr. Can Ebru KURT	(Üye)
3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARI	(Üye)	11. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL	(Üye)
İZİNLİ			
4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM	(Üye)	12. Dr. Öğr. Üyesi Özay GÖKÖZ	(Üye)
5. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL	(Üye)	13. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR	(Üye)
İZİNLİ			
6. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU	(Üye)	14. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞENGELEN	(Üye)
7. Prof. Dr. M. Özgür UYANIK	(Üye)	15. Av. Meltem ONURLU	(Üye)
8. Doç. Dr. Gözde GİRGİN	(Üye)		

Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
06100 Sıhhiye-Ankara
Telefon: 0 (312) 305 1082 • Faks: 0 (312) 310 0580 • E-posta: goetik@hacettepe.edu.tr

Ayrıntılı Bilgi için:

EK-2: Tez Çalışması Orjinallik Raporu

KÖK KANAL TEDAVİSİNDE UYGULANAN NANOPARTİKÜL İÇERİKLİ İRRİGASYON PROTOKOLÜNÜN DENTİNİN FİZİKSEL VE MEKANİK ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 4	% 3	% 2	% 0
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
2	dspace.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	Mine TOKGÖZ, Ahmet ÖZKAĞNICI, M. Kemal GÜNDÜZ, Adnan KARAİBRAHİMOĞLU. "Multifocal Electroretinography in Myopia", Türkiye Klinikleri Journal of Ophthalmology, 2016 Yayın	<% 1
4	acikerisim.antalya.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
5	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	brevets-patents.ic.gc.ca İnternet Kaynağı	<% 1
7	jceionline.org İnternet Kaynağı	<% 1

8	Submitted to Erciyes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
9	Submitted to Okan Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
10	ARSLAN, Dilara, GÜNEŞER, Mehmet Burak, KAPLAN, Fatma and ÜŞÜMEZ, Aslıhan. "FARKLI RETROGRAD KAVİTE AÇMA TEKNİKLERİNİN VE RETROGRAD DOLGU BİODENTİNİN APİKAL SIZINTI ÜZERİNE ETKİSİ", Atatürk Üniversitesi, 2017. Yayın	<% 1
11	acikerisim.pau.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
12	bmccomplementalternmed.biomedcentral.com İnternet Kaynağı	<% 1
13	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
14	matin.gatech.edu İnternet Kaynağı	<% 1
15	tez.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
16	www.acarindex.com İnternet Kaynağı	<% 1
17	www.endodontisempozyum.com İnternet Kaynağı	<% 1

18	www.turkiyeklinikleri.com İnternet Kaynağı	<% 1
19	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
20	pure.rug.nl İnternet Kaynağı	<% 1
21	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1

Alıntıları çıkart Kapat
Bibliyografyayı Çıkart Kapat

Eşleşmeleri çıkar Kapat

EK-3: Tez Çalışması Dijital Makbuz**Dijital Makbuz**

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

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Selen Küçükkaya Eren
 Ödev başlığı: Tez deneme
 Gönderi Başlığı: KÖK KANAL TEDAVİSİNDE UYGULANAN NANOPARTİKÜL İÇERİ...
 Dosya adı: NI_HAN_Tez_turnitin.docx
 Dosya boyutu: 6.58M
 Sayfa sayısı: 65
 Kelime sayısı: 12,184
 Karakter sayısı: 89,436
 Gönderim Tarihi: 26-Eyl-2022 10:29ÖÖ (UTC+0300)
 Gönderim Numarası: 1909242806

I. GİRİŞ

Kök kanal tedavisinde amaç, kök kanal ortamını etkin bir şekilde temizlemek, arkileştirilmesi ve izolasyonu sağlamak için dişin iç kısmını parlatmaktır (1). Açıklı parodontite, genellikle kök kanal ortama mikroorganizma yüklenmesiyle birlikte parodontit gelişir (2). Bu mikroorganizmaların kök kanal ortama yayılması, kök kanal ortama zararlı etki eder ve kök kanal ortama zararlı etki eder. Kök kanal ortama zararlı etki eden mikroorganizmaların kök kanal ortama zararlı etki etmesiyle kök kanal ortama zararlı etki eder ve kök kanal ortama zararlı etki eder. Kök kanal ortama zararlı etki eden mikroorganizmaların kök kanal ortama zararlı etki etmesiyle kök kanal ortama zararlı etki eder ve kök kanal ortama zararlı etki eder.

Kök kanal ortama zararlı etki eden mikroorganizmaların kök kanal ortama zararlı etki etmesiyle kök kanal ortama zararlı etki eder ve kök kanal ortama zararlı etki eder. Kök kanal ortama zararlı etki eden mikroorganizmaların kök kanal ortama zararlı etki etmesiyle kök kanal ortama zararlı etki eder ve kök kanal ortama zararlı etki eder.