

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI KÖK UCU DOLGU MATERYALLERİNİN
SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN VE FARKLI KÖK UCU KAVİTE
PREPARASYON TEKNİKLERİNE BAĞLI OLARAK APİKAL
SIZINTI VE KENAR UYUMLARININ KARŞILAŞTIRMALI
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Selen KÜÇÜKKAYA

**Endodonti Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2014**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI KÖK UCU DOLGU MATERYALLERİNİN
SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN VE FARKLI KÖK UCU KAVİTE
PREPARASYON TEKNİKLERİNE BAĞLI OLARAK APİKAL
SIZINTI VE KENAR UYUMLARININ KARŞILAŞTIRMALI
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Selen KÜÇÜKKAYA

**Endodonti Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet Ömer Görduysus**

**ANKARA
2014**

ONAY SAYFASI

Anabilim Dalı : Endodonti
Program : Endodonti
Tez Başlığı : Farklı kök ucu dolgu materyallerinin sitotoksik etkilerinin ve farklı kök ucu kavite preparasyon tekniklerine bağlı olarak apikal sızıntı ve kenar uyumlarının karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi
Öğrenci Adı-Soyadı : Selen Küçükkaya
Savunma Sınav Tarihi : 05.12.2014

Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans/doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Bahar Özçelik
 Hacettepe Üniversitesi

(İmza)



Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Ömer Görduysus
 Hacettepe Üniversitesi

(İmza)



Üye: Prof. Dr. Hatice Doğan Buzoğlu
 Hacettepe Üniversitesi

(İmza)



Üye: Prof. Dr. Sis Darendeliler Yaman
 Gazi Üniversitesi

(İmza)



Üye: Doç. Dr. Zeliha Yılmaz
 Hacettepe Üniversitesi

(İmza)



ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

(İmza)


Prof. Dr. Ersin FADILLIOĞLU

Müdür

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca beni her konuda destekleyen, bilgi ve tecrübelerini her fırsatta benimle paylaşan, bana yol gösteren, beni cesaretlendiren ve bu doktora tezinin ortaya çıkmasında büyük katkıları ve emekleri olan tez danışmanım ve değerli Hocam, Prof. Dr. Mehmet Ömer Görduysus'a,

Beni kendi araştırma projelerine dahil ederek akademik anlamda gelişmeme yardımcı olan, bilgi ve tecrübelerini benimle her fırsatta paylaşan ve bana her konuda destek olan değerli hocam Prof. Dr. Melahat Görduysus'a,

Tezimin deneylerini birlikte yürüttüğümüz, bilgi ve birikimlerini, değerli zamanlarını benimle paylaşan değerli hocalarım Doç. Dr. Naciye Dilara Zeybek, Prof. Dr. Sevda Fatma Müftüoğlu, Yrd. Doç. Dr. Cem Şahin'e ve istatistiklerin yapım ve yorumunda yardımcı olan Sevilay Karahan'a,

Bilgi ve tecrübelerini birlikte geçirdiğimiz kısıtlı zamanda her daim benimle paylaşmış olan ve tezimin kenar uyumu kısmı üzerine fikir, görüş ve yorumlarını sunarak tezime katkılarda bulunmuş olan Prof. Dr. Peter Parashos'a,

Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde bulunan lazer cihazını doktora tez çalışmamda kullanabilmeme olanak sağlayan Prof. Dr. Ayçe Ünverdi Eldeniz'e,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, bana yol gösteren tüm Endodonti Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve görevlilerine,

Varlıklarıyla doktora hayatıma renk katan, her an yanımda olduklarını bildiğim çok sevgili arkadaşlarım Dt. Çiğdem Canbazoğlu, Dr. Emel Uzunoğlu, Dt. Sevinc Askerbeyli, Dt. Hacer Aksel, Dr. Eda Ezgi Aslantaş'a ve hayatımda yerleri hep özel kalacak olan tüm çalışma arkadaşlarıma,

Doktora hayatım boyunca hep yanımda olan ve her türlü sabrı ve desteği gösteren Dr. Toygun Kağan Eren'e,

Hayatım boyunca hiçbir fedakarlıktan kaçınmadan beni bugünlerime getiren, bana hep destek olan, benimle hep gururlanan ve bana diş hekimi olma kapılarını açan annem Selda Küçükkaya ve babam Dt. Bülent Küçükkaya ile hep yanımda olup yüzümü güldüren bana destek olan canım kardeşim Levent Küçükkaya başta olmak üzere tüm aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (H.Ü.B.A.B Proje No: 013D05201001 ve Proje No: 013D11201002).

ÖZET

Küçükkaya, S. Farklı kök ucu dolgu materyallerinin sitotoksik etkilerinin ve farklı kök ucu kavite preparasyon tekniklerine bağlı olarak apikal sızıntı ve kenar uyumlarının karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Endodonti Programı Doktora Tezi, Ankara, 2014. Çalışmanın amaçları farklı kök ucu kavite preparasyon teknikleri ile hazırlanmış kavitelere yerleştirilen MTA, CEM ve Biodentine'i mikrosızıntı ve kenar uyumu açısından değerlendirmek ve bu materyallerin sitotoksik etkilerini incelemektir. Deneyler için 72 adet çekilmiş, insan üst ön dişleri kullanılmıştır. Deney grupları 60, pozitif ve negatif kontrol grupları da 6 adet örnek olacak şekilde dişler rastgele ayrılmıştır. Deney ve pozitif kontrol gruplarındaki dişlerin kök boyları 15 mm olacak şekilde kronları uzaklaştırılmış ve kök kanal şekillendirmeleri yapılmıştır. Sonrasında sadece deney grubundaki örneklerin kök kanal dolguları yapılmış ve devamında kök uçları rezeke edilmiştir. Deney gruplarında yer alan bu örnekler, her grupta 10 adet örnek olmak üzere rastgele altı gruba şu şekilde ayrılmıştır: Grup 1: Ultrasonik uç+MTA, Grup 2: Ultrasonik uç+CEM, Grup 3: Ultrasonik uç+Biodentine, Grup 4: Er:YAG lazer ucu+MTA, Grup 5: Er:YAG lazer ucu+CEM, Grup 6: Er:YAG lazer ucu+Biodentine. Mikrosızıntı ölçümü, sıvı filtrasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Kenar uyumu analizi için her bir deney grubundan 6 adet örnek rastgele seçilmiştir. Apikal 5 mm'lik kısmı içerecek şekilde enine kesitler alınmıştır. Frez ve ardından zımpara ile dolgu materyalleri açığa çıkarılacak şekilde uzunlamasına hazırlanan örnekler taramalı elektron mikroskobu ile incelenmişlerdir. Elde edilen görüntüler üzerinde analizler, skorlama ve Image J programında ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiştir. Sitotoksisite analizi için insan periodontal ligament fibroblast hücreleri kültüre edilmiştir. MTA, CEM ve Biodentine hazırlandıktan 24 saat sonra, Millicell-96 hücre kültür insert plakları kullanılarak hücrelere 24, 48 ve 72 saat inkübasyon periodlarında uygulanmıştır. Materyallerin hücre canlılığına etkisi WST-1 analizi ile değerlendirilmiştir. Verilerin istatistiksel analizinde; iki yönlü varyans analizi, Bonferroni, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney-U, Siegel & Castellan testleri, Spearman korelasyon katsayısı ve tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, mikrosızıntı ve kenar uyumu açısından dolgu materyalleri arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Lazer ile açılan kök ucu kavitelere yerleştirilen materyallerde, ultrasonik ile açılanlara göre anlamlı olarak daha fazla mikrosızıntı ve daha kötü kenar uyumu görülmüştür ($p<0,05$). Image J ve skorlama ile yapılan analizlerin sonuçları pozitif korelasyon göstermiştir ($r=0,596$, $p<0,001$). Sitotoksisite analizi sonuçlarına göre her bir zaman diliminde materyaller arasında farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). En yüksek sitotoksisite Biodentine için 24 saat sonunda, MTA ve CEM için ise 72 saat sonunda görülmüştür ($p<0,05$). Farklı kök ucu kavite preparasyon tekniklerinin, dolgu materyallerinin mikrosızıntısı ve kenar uyumu üzerine etkisi olduğu görülmüştür. CEM ve Biodentine, MTA ile benzer mikrosızıntı, kenar uyumu ve sitotoksisite sonuçları oluşturmuştur.

Anahtar Kelimeler: Apikal cerrahi, Fibroblast, Kalsiyum silikat, Lazer, Ultrasonik Destekleyen Kurum: H.Ü.B.A.B. Destek Projesi (013D05201001) ve Destek Projesi (013D11201002)

ABSTRACT

Küçükaya, S. A comparative evaluation of the cytotoxicity of different root-end filling materials and their apical leakage and marginal adaptation in relation to different root-end cavity preparation techniques. Hacettepe University Institute of Health Sciences, Ph.D. Thesis in Endodontics, Ankara, 2014. The aims of this study are to evaluate the sealing efficacy and marginal adaptation of MTA, CEM and Biodentine in cavities prepared by different root-end cavity preparation techniques and to analyze the cytotoxic effects of these materials. A total of 72 extracted human upper anterior teeth were used. Teeth were randomly divided as 60 teeth in experimental groups and 6 teeth each for positive and negative control groups. The crowns were removed so that the length of all roots in experimental and positive control groups was adjusted to 15 mm and their root canals were instrumented. Only specimens in experimental groups were obturated and their root-end resections were performed. Specimens in experimental groups were randomly divided into six groups including 10 specimens in each group as follows: Grup 1: Ultrasonic retrotip+MTA, Grup 2: Ultrasonic retrotip+CEM, Grup 3: Ultrasonic retrotip+Biodentine, Grup 4: Er:YAG laser tip+MTA, Grup 5: Er:YAG laser tip+CEM, Grup 6: Er:YAG laser tip+Biodentine. Microleakage was measured by fluid-filtration method. Thereafter, 6 specimen from each experimental group were randomly selected to analyze marginal adaptation. The roots were transversally sectioned in order to obtain the apical 5 mm. Next, each specimen was prepared longitudinally with burs and subsequently with sandpapers in order to expose the filling materials. Then, the specimens were prepared for scanning electron microscopy analysis. Marginal adaptation was evaluated through scoring of taken micrographs and also measured with Image J software. Human periodontal ligament fibroblasts were cultured for cytotoxicity analysis. MTA, CEM and Biodentine were prepared and after 24 hours they were applied to cells by using Millicell-96 cell culture insert plates for 24, 48 and 72 hours of incubation periods. The effect of materials on cell viability was estimated by WST-1 assay. Data were analyzed with; two-way ANOVA, Bonferroni, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney-U, Siegel & Castellan, Spearman correlation coefficient and ANOVA with repeated measures tests. According to the results, no significant difference was found between materials regarding microleakage and marginal adaptation ($p>0.05$). Significantly higher microleakage and worse marginal adaptation were seen for materials placed in cavities prepared by laser tips compared with those prepared by ultrasonic tips ($p<0.05$). Positive correlation was found between the results of scoring and Image J analysis ($r=0.596$, $p<0.001$). Based on the results of cytotoxicity analysis, no significant differences were found between materials at each time period ($p>0.05$). The highest cytotoxicity for Biodentine was seen at 24 hours whereas for MTA and CEM at 72 hours ($p<0.05$). Different root-end cavity preparation techniques affected the microleakage and marginal adaptation of filling materials. CEM and Biodentine showed similar microleakage, marginal adaptation and cytotoxicity results to MTA.

Keywords: Apical surgery, Calcium silicate, Fibroblasts, Laser, Ultrasonics
Supported by H.Ü.B.A.B, Project Support (013D05201001) and Project Support (013D11201002).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Modern Endodontik Cerrahi Konseptleri	5
2.1.1. Kök Ucu Kavite Preparasyonunda Lazer Kullanımı	6
2.1.2. Endodontik Cerrahide Operasyon Mikroskobunun Yeri	9
2.1.3. Endodontik Cerrahide Kullanılan Kök Ucu Dolgu Materyalleri	10
2.2. Endodontik Cerrahi Alanında Mikrosızıntı	16
2.3. Endodontik Cerrahi Alanında Kenar Uyumunu	27
2.3.1. Kök ucu rezeksiyonunun, kök ucu dolgu materyalinin kavite duvarlarına olan kenar uyumuna etkisi	28
2.3.2. Kök ucu kavite preparasyonunun, kök ucu dolgu materyalinin kavite duvarlarına olan kenar uyumuna etkisi	29
2.3.3. Farklı kök ucu dolgu materyallerinin kavite duvarlarına olan kenar uyumu	30
2.3.4. Kök ucu dolgu materyallerinin kenar uyumunun değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler	33
2.4. Endodontik Cerrahi Alanında Sitotoksosite	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM	48
3.1. Diş Seçimi	49
3.2. Dişlerin Hazırlanması	49
3.3. Mikrosızıntı Analizi	53
3.4. Kenar Uyumunun Analizi	54
3.5. Sitotoksitenin Değerlendirilmesi	58

3.5.1. Hücre Kültürü ve Hücre Serisi Eldesi	58
3.5.2. Kök Ucu Dolgu Materyallerinin Hazırlanması	61
3.5.3. Sitotoksosite Testi	62
4. BULGULAR	66
4.1. Mikrosızıntı Analizine Ait Bulgular	66
4.2. Kenar Uyumu Analizine Ait Bulgular	68
4.3. Sitotoksosite Analizine Ait Bulgular	73
5. TARTIŞMA	77
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	90
KAYNAKLAR	92
EKLER	124
Ek 1. Etik Kurul Onayı	124

SİMGELER VE KISALTMALAR

A.B.D.	Amerika Birleşik Devletleri
°C	Santigrat derece
Ca(OH) ₂	Kalsiyum hidroksit
CEM	Calcium enriched mixture
cmH ₂ O	Santimetre su
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EGDMA	Ethylene glycol dimethylacrylate
ERRM	Endosequence root repair material
Hz	Hertz
IRM	Intermediate restorative material
ISO	Uluslararası Standartlar Örgütü
kPa	Kilopascal
kV	Kilovolt
µm	Mikrometre
µl	Mikrolitre
mJ	Milijoule
ml	Mililitre
mM	Milimol
mm	Milimetre
MTA	Mineral trioxide aggregate
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide
NaOCl	Sodyum hipoklorit
PC	Portland simanı
rpm	Dakikadaki tur sayısı (Revolutions per minute)
SEM	Taramalı elektron mikroskobu (Scanning electron microscope)
SuperEBA	Super-etoksi benzoik asit
Std.	Standart
TEGDMA	Triethylene glycol dimethacrylate
W	Watt
WST-1	4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate
%	Yüzde

ŞEKİLLER

	Sayfa
3.1. Çalışmamızda kullandığımız kök ucu dolgu materyalleri; A. MTA, B. CEM, C. Biodentine	48
3.2. A. Kök ucu kavitesi hazırlanmasında kullanılan ultrasonik uç, B. Ultrasonik cihazın görünümü.	51
3.3. A. Çalışmamızda kullandığımız lazer sisteminin uygulama parametreleri, B. Lazer ucu ile kontak modda çalışılarak kök ucu kavitesi hazırlanması	51
3.4. A. Biodentine'in kapsül ve likiti, B. Kapsüle beş damla likit eklenmesi, C. 30 saniye boyunca amalgamatörde karıştırılması, D. Biodentine'in üretici firmanın önerilerine göre hazırlandıktan sonraki görünümü.	52
3.5. Mikrosızıntı analizi için kullanılan modifiye edilmiş sıvı filtrasyon modeli	53
3.6. Kenar uyumu analizi için taramalı mikroskop altında incelenmek üzere hazırlanan örneğin görünümü	54
3.7. A. Taramalı elektron mikroskobu altında incelenmek üzere altınla kaplanmış örnekler, B. Taramalı elektron mikroskobu.	55
3.8. Mikrograf üzerinde sol alt tarafta yer alan rehber çubuğun bilinen uzunluğundan yararlanılarak Image J programında kalibrasyon yapıldı.	56
3.9. Mikrograf üzerinde Image J programı ile kök ucu kavitesinin alanı hesaplandı.	57
3.10. Mikrograf üzerinde Image J programı ile kök ucu dolgu materyalinin alanı hesaplandı.	57
3.11. A. Yeni çekilmiş diş periodontal ligament eldesi için kullanıldı. B. Steril aletler ile periodontal ligament diş yüzeyinden uzaklaştırıldı.	58
3.12. A. Doku örnekleri küçük parçalara bölündü. B. Flasklara ekilerek primer kültürleri kuruldu.	59
3.13. A. Faz kontrast mikroskobu altında flasklar incelendi B. Doku örnekleri çevresinde iğsi hücrelerin varlığı tespit edildi (x40 büyütme). C. İğsi hücreler (x100 büyütme) D. İğsi hücreler (x40 büyütme).	60

- 3.14. Sıkışık haldeki iğsi insan periodontal ligament fibroblast hücreleri (Faz Kontrast Mikroskobu A, B: x40, C: x100), D. Sitoplazmaları şeffaf, ökromatik çekirdeklerinin içinde belirgin çekirdekçikleri olan iğsi insan periodontal ligament fibroblast hücreleri (x200). 61
- 3.15. Sitotoksisite analizi için kök ucu dolgu materyalleri hazırlandı. 62
- 3.16. Sitotoksisite analizi öncesi materyaller sterilizasyon için 24 saat boyunca ultraviyole ışık altında bekletildi. 62
- 3.17. Millicell hücre kültür insert plağının, hücreleri taşıyan plağın üzerine yerleştirilmeden önceki görünümü. 63
- 3.18. Millicell hücre kültür insert plağı içerisindeki kuyulara materyaller yerleştirildi. 63
- 3.19. Plaklar içerisindeki kuyulara besiyeri eklendi. 64
- 3.20. Materyalleri taşıyan Millicell hücre kültür insert plağı uzaklaştırıldıktan sonra hücreleri taşıyan 96 kuyulu plağın görünümü. 64
- 3.21. A. Kuyulara WST-1 eklendikten sonraki görünüm B. Absorbans değerlerinin belirlendiği mikro-ELISA okuyucu. 65
- 4.1. Deney gruplarının mikrosızıntı analizi sonuçlarının karşılaştırıldığı kutu-çizgi grafiği (her kutunun ortasındaki horizontal çizgiler ortanca değerini ifade eder. Kutuların üst ve alt çizgileri sırasıyla 25. ve 75. çeyreklikleri gösterirken, en üst ve en alttaki çizgiler maksimum ve minimum değerleri gösterir). 68
- 4.2. Taramalı elektron mikroskobu ile elde edilen örnek görüntüler. A. MTA+Ultrasonik grubu, B. CEM+Ultrasonik grubu, C. Biodentine+Ultrasonik grubu, D. MTA+Lazer grubu, E. CEM+Lazer grubu, F. Biodentine+Lazer grubu. 69
- 4.3. MTA'nın dentin yüzeyine olan kenar uyumunu gösteren mikrograf. A. Ultrasonik uç ile hazırlanmış kavite, B. Lazer ucu ile hazırlanmış kavite (D: Dentin) 71
- 4.4. CEM'in dentin yüzeyine olan kenar uyumunu gösteren mikrograf. A. Ultrasonik uç ile hazırlanmış kavite, B. Lazer ucu ile hazırlanmış kavite (D: Dentin) 72

- 4.5. Biodentine'in dentin yüzeyine olan kenar uyumunu gösteren mikrograf.
A. Ultrasonik uç ile hazırlanmış kavite, B. Lazer ucu ile hazırlanmış kavite (D: Dentin, B: Biodentine) 72
- 4.6. Materyallerin 24 saat sonunda hücre canlılığına etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi. 73
- 4.7. Materyallerin 48 saat sonunda hücre canlılığına etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi. 74
- 4.8. Materyallerin 72 saat sonunda hücre canlılığına etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi 74
- 4.9. MTA'nın hücre canlılığına zaman içerisindeki etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi (*p<0,05). 75
- 4.10. CEM'in hücre canlılığına zaman içerisindeki etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi (*p<0,05). 75
- 4.11. Biodentine'in hücre canlılığına zaman içerisindeki etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi (*p<0,05). 76
- 4.12. Materyallerin hücre canlılığına etkilerinin üç zamana göre karşılaştırmalı değişiminin gösterildiği grafik. 76

TABLOLAR

	Sayfa
2.1. Kök ucu dolgu materyallerinin kenar uyumunu karşılaştıran çalışmalar	32
2.2. Güncel kök ucu dolgu materyallerinin değerlendirildiği sitotoksisite çalışmaları	44
3.1. Deney grubunda yer alan dişlerin sınıflandırılması	50
3.2. Kenar uyumu değerlendirmesinde uygulanan skala	55
4.1. Deney gruplarının sızıntı miktarlarına dair tanımlayıcı istatistiksel veriler	66
4.2. Deney gruplarındaki örneklerin kenar uyumlarına dair elde edilen skorlar	69
4.3. Deney gruplarındaki örneklerin kenar uyumlarına dair Image J programında elde edilen matematiksel değerlerin yüzdesel ifadeleri	70

1. GİRİŞ

Kök kanal tedavisinin amacı, kök kanal sisteminin temizlenip şekillendirilmesi, sızdırmaz bir kök kanal dolgusu uygulanması ve bunun sonucu olarak da periapikal bölgenin korunarak iyileşmesinin sağlanmasıdır (1). Klinik çalışmalara göre, bu kapsam dahilinde yapılan kök kanal tedavisi sonrası, dişlerin ağız ortamında 4-6 yıl süresince fonksiyonel kalma oranı %88 ile %97 arasında değişmektedir (2). Kök kanal tedavisinin başarı yüzdesi yüksek olsa da, bazı çalışmalar kök kanal tedavisi yapılmış dişlerin neredeyse %30'unun apikal periodontitis ile ilişkili olduğunu göstermiş ve bunu da yeterli kalitede yapılmamış kök kanal tedavisi ve üst restorasyonları ile ilişkilendirmişlerdir (3,4). Apikal periodontitis, ilgili dişin kök kanal sistemi içindeki inatçı mikrobiyal enfeksiyonundan kaynaklanan, kök çevresi dokuların inflamatuvar hastalığıdır (5,6). Kök kanal sistemi içerisinde mikroorganizmalar sıvı ortamda tekli halde ve serbest şekilde, yani planktonik halde bulunabilecekleri gibi, zaman içerisinde yapısal beraberlik gösterip biofilm haline gelerek ekzopolimer matriks aracılığı ile bir veya daha fazla yüzeye yapışabilirler (7). Biyofilm tabakası halindeki mikroorganizmalar, planktonik safhadaki hallerine göre biyosidlere bin kattan daha fazla direnç gösterebilirler (8). Bu sebeple kök kanal tedavisi sonrası apikal periodontitisin olduğu dişler, apikal periodontitisin mevcut olduğu ancak henüz kök kanal tedavisi yapılmamış dişlere göre genellikle daha kompleks bir mikrobiyal ortam göstermektedir. Dolayısıyla, kök kanalı içerisindeki enfeksiyondan kaynaklı apikal periodontitisin tedavisi kök kanal tedavisinin yenilenmesi ile çoğu zaman gerçekleştirilebilse de, başarı oranı ilk kez yapılan kök kanal tedavisine göre düşük olabilmektedir. Öte yandan apikal periodontitis kök kanalı içerisindeki enfeksiyon haricinde, nadiren başka bir takım etyolojik faktörler sonucunda da oluşabilir. Bunlar kök kanalı dışında, ancak kök çevresinde bulunan mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonlar veya periapikal sahadaki kolesterol kristalleri, kistler ya da yabancı cisimler sebebiyle oluşan inflamatuvar reaksiyonlar gibi mikrobiyal olmayan etyolojik faktörler olarak sınıflandırılabilir (6). Bu tarz durumlarda, etyoloji kök kanalı dışından kaynaklandığı için kök kanal tedavisinin yenilenmesi periapikal alanın iyileşmesini sağlayamamaktadır. Bunun yanında önceki kök kanal tedavisinde yapılan işlemsel hatalar nedeniyle veya kompleks kök kanal anatomisine bağlı olarak

da kök kanal tedavisinin yenilenmesi başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir. Çalışmalara göre yenilenen kök kanal tedavilerinin başarı oranı %74 ile %88 arasındadır (9-11). Kök kanal tedavisinin yenilenmesi başarı ile sonuçlanmadığında veya başarı ile sonuçlanacağı düşünülmediğinde endodontik cerrahi, tedavi seçeneği olarak tedavi planlamasında yerini almalıdır (12).

Endodontik cerrahi kök ucu rezeksiyonu, kök ucu kavite preparasyonu ve kök ucu kavitesine dolgu materyali yerleştirilmesi gibi işlemleri kapsayan girişimsel bir tedavi yöntemidir. Çalışmalar kök ucu kavite preparasyonunun frezlerle gerçekleştirilmesinin haricinde, ultrasonik uçlar ile veya lazer sistemi kullanılarak da yapılabileceğini göstermektedir (13,14). Her cihaz ve malzeme farklı prensipte çalıştığı için açılan kök ucu kaviteleri farklı klinik sonuçların oluşmasına yol açabilir. Kök ucu kavitesi hazırlandıktan sonra bu kavitelere yerleştirilen kök ucu dolgu materyallerinin kavite duvarlarına olan kenar uyumu, kavitelerin hazırlanmasında uygulanan tekniklere göre farklılık gösterebilir. Kenar uyumunun kötü olması mikrosızıntıya yol açıp, iyileşmenin gerçekleşmemesine veya enfeksiyonun tekrar oluşmasına neden olabilir. Diğer yandan, bu durum sadece kök ucu kavite preparasyonu ile değil, kavitelere yerleştirilen kök ucu dolgu materyallerinin karakteristik özelliklerine bağlı olarak da oluşabilir. *Mineral trioxide aggregate* (MTA) endodontik cerrahi alanında kullanılmaya başladığından bu yana oldukça popülerlik kazanmış ve altın standart haline gelmiş kalsiyum silikat esaslı bir dolgu materyalidir (15). MTA'nın çok sayıdaki avantajına karşın uygulama zorluğu, uzun sertleşme süresi ve uygun kıvamda hazırlanmasının zor olması gibi olumsuz özellikleri vardır. Bu nedenle ideal kök ucu dolgu maddesi arayışı günümüzde halen sürmektedir. Yakın zamanda, çeşitli kalsiyum bileşenleri içeren ve kalsiyum ile güçlendirilmiş karışım anlamına gelen *calcium-enriched mixture* (CEM) simanı endodonti alanına tanıtılmıştır. Kolay uygulanabilirliği ve iyi bir tıkama sağladığı gerekçesiyle, CEM'in kök ucu dolgu materyali olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (16). Başka bir kalsiyum silikat esaslı dolgu materyali olan Biodentine, rezin kompozit dolguların altında dentin yerine geçebilecek materyal olarak diş hekimliği alanına sunulmuştur (17). MTA'ya benzer olumlu özellikler taşıyan Biodentine'in, endodontik tamir materyali ve kök ucu dolgu materyali olarak da kullanılabileceği bildirilmiştir (17,18).

Kök ucu bölgesinde, mikrosızıntının gerçekleşmesi periapikal bölgede iyileşmenin engellenmesine veya enfeksiyonun tekrarlamasına neden olabilir. Bu nedenle mikrosızıntı testleri, kök ucu dolgu materyallerinin değerlendirilmesinde önem taşır. Sıvı filtrasyon analizinin, kök kanal sistemi boyunca devamlılık gösteren küçük boşlukları kesin bir şekilde tespit ettiği ve bu nedenle diğer mikrosızıntı değerlendirme yöntemlerine göre daha hassas olduğu bildirilmiştir (19,20). Ayrıca sıvı filtrasyon analizi, operatöre bağlı hata payını minimize ederek niceliksel ölçümler sağladığı için mikrosızıntı miktarını değerlendirmek için birçok çalışma tarafından kullanılmış olan bir yöntemdir (21,22). Çalışmamızda MTA, CEM ve Biodentine kök ucu dolgu materyallerinin ultrasonik ve lazer uçlarla hazırlanan kök ucu kavitelere yerleştirilmesinden 24 saat sonraki mikrosızıntı miktarları sıvı filtrasyon analizi yöntemi ile incelenmiştir.

İdeal kök ucu dolgu materyali seçiminde, kök ucu kavitesine yerleştirilen materyalin iyi bir kenar uyumu sağlayarak yeterli tıkamayı oluşturması da en önemli kriterlerden biridir (23). Materyallerin kenar uyumunu direkt olarak analiz edebilmek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılması, birçok çalışmada uygulanmış bir yöntemdir (24-26). SEM yüksek büyütme altında iyi çözünürlükte görüntüler sağlar (27,28). Ayrıca görüntü analiz programları yardımı ile mevcut boşlukların boyutlarının matematiksel olarak hesaplanmasına da olanak tanır (29-31). Çalışmamızda MTA (Angelus, Londrina, PR, Brezilya), CEM (BioniqueDent, Tahran, İran) ve Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fosses, Fransa) kök ucu dolgu materyallerinin, ultrasonik ve lazer uçları kullanılarak hazırlanan kök ucu kavitelere olan kenar uyumları, SEM ile elde görüntüler üzerinde skorlama yapılması ile değerlendirilmiş ve Image J görüntü analiz programı (Image J 1.47 V, National Institute of Health, A.B.D.) ile kök ucu dolgu materyalleri ile kök ucu kavitelere arasındaki boşluklara dair matematiksel hesaplamalar yapılmıştır.

İdeal kök ucu dolgu materyali için diğer bir önemli kriter ise kök ucu dolgu materyalinin biyouyumlu olması, çevre dokulara toksik etki göstermemesidir (32). Materyallerin sitotoksik etkileri, laboratuvar şartlarında hücre kültürü üzerinde çeşitli test yöntemleri ile analiz edilebilir. Suda çözülebilir bir tetrazolium tuzu olan olan WST-1'in (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate) (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Almanya) kullanıldığı analiz,

sitotoksisite tespiti için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (33,34). Çalışmamızda MTA, CEM ve Biodentine kök ucu dolgu materyallerinin insan periodontal ligament hücreleri üzerine olan toksik etkileri WST-1 analizi ile değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Modern Endodontik Cerrahi Konseptleri

Endodontik cerrahi, modern endodonti tedavileri kapsamına giren önemli uygulamaların başında gelmektedir. Bu tedavinin amacı, kök ucu ve çevresindeki enfekte dokuları uzaklaştırmak ve bölgede enfeksiyona neden olan etkenleri ortadan kaldırıp cerrahi sahanın iyileşmesine olanak sağlayacak bir ortam oluşturmaktır. Endodontik cerrahi, periapikal dokuların küretajını ve sonrasında kök ucu rezeksiyonunu, kök ucu kavitesi hazırlanmasını ve kök ucu kavitesinin dolgu materyali ile doldurulmasını kapsamaktadır (35). Günümüzde endodontik cerrahi operasyon mikroskobu, mikrocerrahi aletleri, ultrasonik uçlar ve biyomateryaller gibi yeniliklerin katılımı ile başarı oranı %74-93 olan modern bir konsept haline gelmiştir (35-37).

Modern endodontik cerrahi öncesi kullanılan başlıkların ve frezlerin ebat olarak büyük olması, osteotomi esnasında gereğinden fazla kemik uzaklaştırılmasına, dolayısıyla da operasyon sonrası daha fazla ağrıya ve iyileşme sürecinin uzamasına yol açabilmektedir (38). Modern endodontik cerrahi öncesi yapılan 8-10 mm çaplı osteotomiler yerini, mikrocerrahi aletleri ile 3 mm uzunluğundaki ultrasonik ucun kemik kavitesinde serbestçe hareket edebileceği 3-4 mm çaplı osteotomilere bırakmıştır (35). Ayrıca geçmişte operasyon mikroskobu ve mikrocerrahi aletlerinin mevcut olmayışı, kök ucu rezeksiyonu esnasında cerrahi sahaya ulaşılabilirliği ve görüşü artırmak amacıyla 45-60 derecelik büyük eğimler ile kök ucunun kesilmesini neredeyse zorunlu kılmıştır. Bu durum bukkal kemikten gereğinden fazla doku uzaklaştırılmasına ve kök boyunda kısalmaya yol açmaktadır. Ayrıca kök ucu rezeksiyonu esnasında kök ucunda yapılan eğimli kesim, açığa çıkan dentin tübülü sayısının artmasına ve dolayısıyla kök kanalı ile apikal saha arasında sızıntıya neden olacak daha fazla sayıda geçiş yolunun açığa çıkmasına neden olmaktadır. Bu durum da tekrarlayan enfeksiyon oluşumuna zemin hazırlama potansiyeli taşımaktadır. Günümüzde operasyon mikroskobu ve mikrocerrahi aletleri sayesinde rezeksiyon esnasında kök ucunda 10 dereceye kadar eğimlendirme yapılması yeterli olmaktadır (35).

Modern endodontik cerrahi öncesi, mikromotora takılı frezler ile kök ucu kavitesi hazırlanması klasik kabul edilen bir yöntemdir. Bu yöntem ile düzgün bir kök ucu kavitesi hazırlamak kök ucuna ulaşımın zor olması, köklerin eğimli olması ve karmaşık kök anatomileri gibi unsurlar nedeniyle çoğu zaman mümkün olmamaktadır. Ayrıca bu yöntem kanal yolundan sapma, kök perforasyonu, kök ucu dolgu materyalinin retansiyonu için yeterli derinlikte kök ucu kavitesinin hazırlanamaması ve kök ucundaki isthmus yapılarının temizlenememesi gibi dezavantajlar taşımaktadır (35). Modern endodontik cerrahi konsepti ile kök ucu kavitesi hazırlanmasında ultrasonik sistem kullanımı ön plana çıkmaktadır. Kök ucu kavitesi açmak için özel olarak tasarlanmış ultrasonik uçlar ile frezlere kıyasla daha temiz, daha merkezi ve daha konservatif kaviteler oluşturulabildiği belirtilmiştir (39). Ancak ultrasonik enerjinin mikroçatlaklara yol açıp, sızdırmazlığı riske atması ve sonucunda başarısızlığa yol açması gibi riskleri olduğu da öne sürülmüştür (40). Öte yandan, eski çalışmalarda çoğunlukla paslanmaz çelik ultrasonik uçlar kullanılmıştır. Elmas kaplı ultrasonik uçların piyasaya tanıtılmasıyla, paslanmaz çelik uçlara göre daha hızlı kavite preparasyonlarının yapılması mümkün olmuştur. Ultrasonik ucun dentin ile olan temas süresinin kısılmasının, mikroçatlak oluşma sıklığında azalmaya yol açacağı düşünülmektedir. Ayrıca dentin yüzeylerinde mikroçatlakların görülmesinin, laboratuvar çalışmalarındaki deney koşullarına bağlı olabileceği de belirtilmiştir (41). Klinik şartlarda dişler dehidrate olmadığı ve periodontal ligamentin varlığı kuvvetlerin dağılımını sağladığı için, ultrasonik uçların cerrahi esnasında diş yüzeyinde mikroçatlaklara yol açmayacağı da bildirilmiştir (42).

2.1.1. Kök Ucu Kavite Preparasyonunda Lazer Kullanımı

Modern endodontik cerrahi konseptinde ultrasonik sistem ile kök ucu kavite preparasyonu yapılması haricinde, lazer sistemi ile kök ucu kavite preparasyonu da yer almaktadır. Lazerin İngilizce karşılığı olan *laser* kelimesi '*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*' deyimindeki kelimelerin baş harflerinden türetilmiştir. Bu sebeple *laser* kelime olarak 'uyarılmış ışımaya yolu ile ışığın kuvvetlendirilmesi' anlamına gelmektedir. Albert Einstein'ın uyarılmış ışımaya varlığı teorisinden yola çıkılarak, 1960 yılında Theodore H. Maiman tarafından ilk lazer geliştirilmiştir (43). Sonrasında lazer kullanımı teknoloji, araştırma,

mühendislik ve sağlık gibi pek çok alanda popülerlik kazanmıştır. Lazerin endodonti alanındaki ilk kullanımı Weichman ve Johnson tarafından 1971'de gerçekleştirilmiştir (44). Bundan sonra çok sayıdaki çalışma endodontinin çeşitli alanlarında farklı tip ve moddaki lazerlerin kullanımını incelemiştir. Bunların arasında Neodymium-doped Yttrium Aluminium Garnet (Nd:YAG) lazer, CO₂ lazer, Erbium, Chromium: Yttrium Scandium Gallium Garnet (Er,Cr:YSGG) lazer ve Erbium: Yttrium Aluminum Garnet (Er:YAG) lazer gibi türler yer almaktadır.

Nd:YAG lazerde enerji mineral yapılar tarafından kısmen absorbe edilir ve termomekanik ablasyon ile kristal yapılarında düzensizliğe yol açar. Bu süreçte, dentin debris içermeyen iyonize bir gaz haline gelir ve dentin tübüllerini tıkadığı için dentinal geçirgenlik azalır (45). CO₂ lazerde enerji, dokulardaki su tarafından absorbe edilir, böylelikle sıcaklıkta yükselmeye ve hücre içinde basınca yol açar. Isınan partiküller akkor hale gelerek ışınlanmış dokuda tekrar toplanırken karbonize bir tabaka oluşturur. Mineralize dokularda ise bu enerji, kalsiyum karbonat ve kalsiyum fosfat tarafından absorbe edilir ve böylece moleküllerde titreşim oluşur. Sonucunda da sert doku uzaklaştırılmış olur. Dentin tübülleri, hidroksiapatitin kalsiyum ortofosfata dönüşmesiyle ve termal enerjinin organik kısma transferi ile tikanır (46). Öte yandan bu iki lazer tipi sert dokudan ziyade yumuşak dokular üzerinde etkilidir. Bu sebeple çoğunlukla ağız içi yumuşak dokularla ilgili çeşitli prosedürleri gerçekleştirmek için kullanılırlar (47).

Erbium lazerler sert doku uzaklaştırmada oldukça etkilidirler. Er,Cr:YSGG lazer cihazı 2,78 µm dalga boyunda lazer ışını yayarak dokudaki su ile etkileşime geçer. Bu yüzden hidrokinetik sistem olarak da adlandırılır. Hidrokinetik olarak dokunun kesilmesi, biyolojik materyallerin yüksek hızda su damlacıkları halinde uzaklaştırılması anlamına gelmektedir. Su damlacıkları tarafından, 2,78 µm dalga boyundaki lazer enerjisinin yüksek emilim kabiliyeti ile hedef dokuda güçlü mekanik kuvvetler oluşur. Bu da hidrokinetik kuvvetler ile kalsifiye dokuda hızlı mekanik ayrılımlara yol açar (48,49). Bu lazerin avantajları karbonize tabaka oluşmasını ve sıcaklığın yükselmesini önlemesidir. Er:YAG lazer ise 2,94 µm dalga boyu ile termal ablasyon yaparak, mineral yapıların çözülmesine ve amorf partiküllerin kristalize olmadan temiz ve pürüzsüz bir yüzey oluşturacak şekilde birleşmesine yol açar (50). Er:YAG lazer, CO₂ lazere göre su tarafından on kat daha fazla absorbe edilebilir ve

sert dokuların ablasyonu Er:YAG lazer ile diğer lazerlere göre çok daha hızlı gerçekleşir (51). Bu sebeple, Er:YAG lazer kemik ve diş gibi sert dokuları etkili şekilde kesme kabiliyeti nedeniyle popüler hale gelmiştir. Çevre dokulara yeterli seviyede su soğutması altında, ısı ile zarar vermeden Er:YAG lazer ile mine ve dentinde kaviterler açılabilceği gösterilmiştir. (51,52). SEM çalışmalarına göre Er:YAG lazer düzensiz ancak temiz, smear tabakası buldurmamayan ve dentin tübüllerinin açık olduğu yüzeyler oluşturmaktadır (53,54). Komori ve diğerleri (55), hastalarında gerçekleştirdikleri Er:YAG lazer ile kök ucu rezeksiyonu sırasında cihazın titreşim yapmadan çalışması, çevre dokulara zarar vermemesi, cerrahi sahanın kontaminasyon riskinin düşük olması ve cerrahi sonrası dönemde ağrı oluşturmaması gibi avantajları olduğunu bildirmişlerdir.

Er:YAG lazer, 'kontakt' ve 'kontakt olmayan' olmak üzere iki farklı modda kullanılabilir. Kontakt modda kullanım, temas hissi sebebiyle uygulayan kişi için daha rahat bir işlem süreci sağlar ve neticesinde daha düzgün kaviterlerin açılmasına katkıda bulunabilir. Er:YAG lazerin kontakt ve kontakt olmayan modunun mine ve dentin üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmada, Er:YAG lazerin kontakt başlık ile uygulanmasının şekil, boyut ve yapı olarak kavite preparasyonunu doğrudan etkilediği sonucuna ulaşılmıştır (56). Aynı çalışma Er:YAG lazer ile kontakt modda oluşturulan kaviterlerin, frezlerle açılan klasik kavitelere benzediklerini, farklı olarak smear tabakası içermediklerini belirtmiştir (56).

Lazerlerin çalışma prensibi, aeratöre veya mikromotora takılı frezlerin çalışma prensibinden farklı olduğu için lazer uygulaması esnasında dikkat edilmesi gereken bazı unsurlar vardır. Lazerlerin diş ile olan etkileşimi, mekaniği ve mantığı gereği kontakt modda çalışırken yüzeye basınç uygulamak, daha hızlı bir kesim ile sonuçlanmamaktadır. Er:YAG lazer ile kontakt modda çalışırken, basınç uygulamadan ileri-geri yönde yapılan hareketler kalsifiye dokularda daha güvenli ve öngörülebilir sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır. Lazerler, optik enerji dağılımını tek yönde yaparlar. Başka bir deyişle, lazer ucundan çıkan düz çizgi halindeki vektör boyunca dokuda ablasyon etkisini oluştururlar. Bu sebeple küçük çaplı lazer ucu kullanıldığında, lazer enerjisi daha küçük bir alana odaklanır. Bu durum Er:YAG lazer ile çalışırken dokuda daha hassas ve kontrollü ablasyon oluşmasını sağlar. Ancak küçük ablasyon alanında çalışmaya devam edildikçe, açılan kavite

derinleşecektir. Bu noktada sert lazer ucu, kalsifiye sınırlar ile çevirili kaviteye gömülürse yeterli su kavite içerisine ulaşamaz, kavite oluşturulması esnasında ısı ile ablasyona uğrayan dokular kaviteden uzaklaştırılmaz ve bu esnada lazer, ucundan çıkan düz çizgi halindeki vektör boyunca kavite tabanından enerji vermeye devam eder. Bu döngü sonucunda fazla ısı oluşur ve lazer etki göstermez hale gelir. Bu sebeple kontak uç, yüzeyde tek bir noktada 2-4 saniyeden fazla süre tutulmamalıdır. Kontak uç, ileri-geri hareket ile beraber sağ ve sol yönde de minimal düzeyde hareket ettirilmelidir ve bütün bu işlemler başlıktan devamlı olarak iletilen su altında yapılmalıdır. Böylelikle hem kavitenin içerisine su girebilir, hem de ablasyona uğrayan artık dokular kaviteden dışarı çıkabilir. Sonuç olarak ısı dağılımı da düzgünce gerçekleştirilmiş olur ve lazer etkinliğini sürdürmeye devam eder (57).

Erbiyum lazerler, sert dokuyu diğer lazer türlerine göre çok daha hızlı ve etkili kesme kabiliyetine sahip olsalar da, ultrasonik uç veya frezler kadar kısa sürede sert doku kesimi yapamamaktadırlar. Daha hızlı etki gösterebilmeleri için lazer cihazının çalıştığı güç artırılabilir (58). Ancak dental yapıların bütünlüğünü korumak her şeyden önce gelmelidir. Bu sebeple, seçilen lazer tipi ve yapılan işleme göre cihazın çalışma parametreleri uygun aralıklarda ayarlanmalıdır (59).

2.1.2. Endodontik Cerrahide Operasyon Mikroskobunun Yeri

Mikrocerrahi, operasyon mikroskobu altında oldukça küçük ve kompleks bir alanda gerçekleştirilen cerrahi işlemler olarak tanımlanmaktadır. Operasyon mikroskobu, operatörün patolojik değişimleri çok daha net ayırt edebilmesine ve çevre dokulara zarar vermeden daha kesin bir şekilde bunları uzaklaştırabilmesine olanak sağlamaktadır. Modern endodontik cerrahi prosedürlerinin, ‘endodontik mikrocerrahi’ olarak isimlendirilmesi, operasyon mikroskobunun endodontik cerrahi alanına girmesiyle başlamıştır (60,61). Operasyon mikroskobunun endodontik mikrocerrahiye kazandırdığı avantajlar şu şekilde sıralanabilir:

- İşlem yapılan alan yüksek büyütme altında incelenebildiği için ekstra apikal foramen ve lateral kanallar gibi küçük ancak önemli anatomik detaylar tespit edilip, gerekli işlemler yapılabilir. Anatomik detaylar haricinde kök yüzeyindeki çatlak ya da kırık hattı, perforasyon varlığı gibi soruna yol açan etkenler kolayca tanımlanabilir.

- Görüş kalitesi arttığı için cerrahi alanda artık doku bırakılmadan, hastalıklı dokular tamamen uzaklaştırılabilir.
- Endodontik cerrahide çalışılan saha küçük bir alan olduğu ve anatomik yapılar birbirine çok yakın konumlandığı için, cerrahi esnasında her zaman kolay ve hızlı bir şekilde kök ile kemiğin sınırları ayırt edilememektedir. Yüksek büyütme altında bu anatomik yapıların sınırları çok daha net anlaşılabilir.

Operasyon mikroskobu ile endodontik mikrocerrahi işlemi gerçekleştirmeden önce, konsept ile ilgili açıklığa kavuşturulması gereken bazı unsurlar vardır. Sanıldığına aksine en yüksek büyütme, en iyi çalışma koşulunu her zaman sağlamaz. Endodontik mikrocerrahi işlemleri için 30 kattan fazla büyütme ihtiyacı yoktur. Bu kadar yüksek büyütmelerde hastanın en ufak hareketi, odağın bozulmasına neden olacaktır. Endodontik mikrocerrahide belli işlemler için doğru aralıklarda büyütme kullanmak, operasyon mikroskobunun işlevli bir şekilde kullanımını sağlayacaktır (62). Operasyon mikroskobu ile ilgili yanlış anlaşılabilen bir diğer nokta da, cerrahi alana ulaşımı kolaylaştırdığı düşüncesidir. Cerrahi yapılacak olan sahaya ulaşım zaten limitli ise, operasyon mikroskobu ile aynı alan görülmeye çalışıldığında da bu sorun devam edecektir. Öte yandan cerrahi alana düzgün bir ulaşım sağlandığında, büyütme ve aydınlatma özelliği sayesinde operasyon mikroskobu ilgili alanın çok daha detaylı ve net görüntüsünü sağlayacaktır (35).

2.1.3. Endodontik Cerrahide Kullanılan Kök Ucu Dolgu Materyalleri

Modern endodontik cerrahi kapsamında, sadece aletler ve cihazlarda değil, aynı zamanda kök ucu dolgusu olarak kullanılan materyallerde de zaman içerisinde yenilikler gerçekleşmiştir. *Mineral trioxide aggregate* (MTA), 1993 yılında kök ucu dolgu maddesi olarak endodonti alanına tanıtılmıştır (15). MTA, kök ucu dolgu materyali olarak günümüze kadar popülerliğini korumuş ve çeşitli olumlu karakteristik özellikleri nedeniyle birçok çalışma tarafından altın standart olarak kabul edilmiştir (63). Ancak, MTA'nın kök ucu dolgu materyali olarak kullanılmaya başlamasına kadar geçen zamanda, diş hekimliğinin birçok alanında kullanılan dolgu

maddelerinin pek çoğu kök ucu dolgu materyali olarak da kullanılmıştır. Bu materyallerin başlıcaları şu şekilde sıralanabilir:

Amalgam: Modern endodontik cerrahi öncesi, amalgam kök ucu dolgu maddesi olarak en sık kullanılan materyallerin başında yer almıştır (12). Bunun sebebi kolay uygulanabilirliği, yüksek radyoopasitesi ve doku sıvılarında erimiyor oluşu gibi bir takım avantajlara sahip olmasıdır. Öte yandan amalgamın sadece endodontik cerrahi alanında değil, tüm dişhekimliği alanında kullanımı tartışmalı bir konudur. Bunun nedeni de temel olarak amalgamın biyouyumluluğu ile ilgili endişelerdir. Yapılan birçok çalışma amalgamın biyouyumluluğunun zayıf olduğunu göstermiştir (64-66). Amalgamın diğer dezavantajları ise başlangıç sızıntısı, korozyon oluşumu, nem hassasiyeti, yumuşak ve sert dokuları boyaması, amalgam partiküllerinin çevreye saçılması olarak sayılabilir (67). Ayrıca birçok klinik çalışma, amalgam ile yapılan kök ucu dolgularını, başarısız sonuçlarla ilişkilendirmiştir (68-71). Günümüzde, amalgamın kök ucu dolgu materyali olarak kullanımı eskide kalmış bir yöntem olarak kabul edilmektedir (72).

Gutta-perka: Gutta-perka konları yaklaşık olarak %19-22 gutta-perka, %59-75 çinko oksit ve bir miktar da mum, renklendirici ajan ve metal tuzları gibi bileşenlerden oluşur (73). Gutta-perka korozyona uğramayan, düzensiz kavite duvarlarına belli dereceye kadar adapte olabilen, ekonomik olarak ucuz bir kök kanal dolgu materyalidir. Termoplastize gutta-perka geliştirilene kadar gutta-perkanın kök ucu dolgu materyali olarak kullanımı pek gündeme gelmemiştir. Kök ucu dolgu materyali olarak özellikle kaviteye yerleştirilmek haricinde, rutin endodontik cerrahi sonrası kök kanal dolgusu olarak kullanılmış gutta-perkaya sıcak veya soğuk bir fulvar ile yüzey düzeltmesi yapıp, o şekilde bırakılması da uygulanan bir yöntemdir. Gutta-perka kök ucu dolgu materyali olarak kullanıldığında, poröz yapısı nedeniyle periapikal dokulardan nem absorbe eder. Bu sebeple ilk anda genleşme gösterir ancak bir süre sonra büzülür (74). Bu durum kötü kenar uyumu ve artmış mikrosızıntı ile sonuçlanabilir.

Çinko oksit öjenol ve güçlendirilmiş çinko oksit öjenol simanlar: Çinko oksit öjenol simanların ilk versiyonlarının, kök ucu dolgu materyali olarak kullanımına dair literatür verileri sınırlıdır. Amalgamın dezavantajları nedeniyle, çinko oksit öjenol simanların amalgam yerine kullanılmaları düşünülmüştür. Ancak

çinko oksit öjenol simanların da bir takım olumsuz özellikleri vardır. Bunlardan bir tanesi biyouyumluluk ile ilgili endişelerdir. Çinko oksit öjenol simanların biyolojik özellikleri formülasyona ve materyalin yılına göre değişim göstermektedir (75). Öjenol, çinko oksit öjenol simanların en temel sitotoksik komponentidir (76). Ayrıca bu simanlardan salınan çinkonun da uzun dönemde toksik etkiler oluşturabileceği belirtilmiştir (77). Diğer dezavantajları ise uzun sertleşme süresine sahip olmaları, kuvvetlere karşı zayıf olmaları ve zaman içerisinde doku sıvıları tarafından absorbe edilebiliyor olmalarıdır. Dolayısıyla uzun dönem kullanım için çok uygun olmadıkları düşünülmektedir (72,78). Bu sebeple çinko oksit öjenol simanlardan ziyade, modifiye edilip özellikleri iyileştirilmiş çinko oksit öjenol simanların kök ucu dolgu materyali olarak kullanımı önerilmiştir (79). Güçlendirilmiş çinko oksit öjenol simanlara örnek olarak *intermediate restorative material* (IRM) ve *super-ethoxy benzoic acid* (Super-EBA) verilebilir. IRM, çinko oksit öjenol simanın toz kısmına ağırlıkça %20 oranında polimetakrilat katılması ile güçlendirilmiştir. IRM'nin kök ucu dolgu materyali olarak kullanımı için yüksek toz-likit oranında hazırlanması önerilmiştir. Bu sayede daha kolay uygulanabilir olduğu, sertleşme süresinin kısaldığı, toksisitesinin düştüğü ve doku sıvılarında çözünürlüğünün azaldığı belirtilmiştir (80). Super-EBA ise likit kısmında öjenol miktarının azaltılıp, %62.5 oranında etoksi benzoik asit eklenmesi ile oluşturulmuş ve bu sayede sertleşme süresi değiştirilmiş ve özellikleri iyileştirilmiştir. Super-EBA'nın özellikleri yüksek sıkışma ve gerilme dayanımı göstermesi, nötral pH'a sahip olması ve doku sıvılarında çözünürlüğünün düşük olmasıdır (81). Ayrıca, Super-EBA nem varlığında diş yapısına tutunabilir ve IRM'nin aksine, Super-EBA kendisine de bağlanabildiği için üzerine kendisinden ekleme yapılabilmesi olanağı tanır (81). Bunların yanında IRM ile Super-EBA'nın biyouyumlulukları karşılaştırıldığında, Super-EBA'nın daha biyouyumlu olduğu bildirilmiştir (82). İki materyal de üretildikleri zamandan bu yana endodontik cerrahi alanında varlıklarını sürdürmektedir.

Cam iyonomer siman ve Kompozit rezinler: Cam iyonomer simanlar, kalsiyum alümino-silikat cam parçacıkları ile aköz formdaki poliakrilik asidin reaksiyonu ile oluşur. Diş hekimliği alanında birçok amaç için kullanılan cam iyonomer simanların, kök ucu dolgu materyali olarak da kullanımları önerilmiştir (83). Cam iyonomer simanların biyouyumlu olmaları ve dentine adeziv etkileri gibi

avantajları olsa da, neme duyarlılıkları nedeniyle teknik olarak başarılı olabilmeleri için oldukça ideal koşullar gerektirirler (82). Endodontik cerrahi esnasında bu koşulları sağlamak oldukça zor olduğu için, cam iyonomer simanların kök ucu dolgu materyali olarak kullanımları çok yaygın değildir. Cam iyonomer simanlara benzer şekilde, kompozit rezinlerin de neme aşırı hassasiyet göstermeleri ve nem varlığında dentine adezyon sağlamamaları sebebiyle kök ucu dolgu materyali olarak kullanımları çok yaygınlaşmamıştır. Ayrıca kompozit rezinlerin, TEGDMA ve EGDMA gibi monomerleri nedeniyle hücreler üzerine toksik etkileri olabileceği belirtilmiştir (82).

Günümüzde hiçbir dolgu materyali, ideal kök ucu dolgu materyali özelliklerinin tamamına sahip değildir. Bu sebeple ideal kök ucu dolgu materyali arayışı halen devam etmektedir. İdeal kök ucu dolgu materyalinin taşınması gereken özellikler Chong ve Pitt Ford (78) tarafından şu şekilde özetlenmiştir:

- Materyal diş yapısına tutunabilmeli veya bağlanabilmeli ve böylece üç boyutlu tıkama sağlayabilmelidir.
- Patojenik mikroorganizmaların çoğalmasına yol açmamalı ve tercihen çoğalmalarını önlemelidir.
- Boyutsal olarak stabil olmalı, sertleşmeden önce ve sertleştikten sonra nemden etkilenmemelidir.
- İnflamatuvar reaksiyonlara yol açmadan periradiküler dokular tarafından iyi bir şekilde tolere edilebilmelidir.
- Periodonsiyumda rejenerasyonu indüklemelidir.
- Hem lokal hem sistemik olarak toksik olmamalıdır.
- Korozyona uğramamalı ve elektrokimyasal olarak aktif olmamalıdır.
- Dişi ve periradiküler dokuları boyamamalıdır.
- Radyograflarda kolayca ayırt edilebilmelidir.
- Raf ömrü uzun olmalı ve kolay uygulanabilir olmalıdır.

Modern endodontik cerrahi konseptiyle materyal olarak neredeyse özdeşleşmiş olan MTA, günümüzde en yaygın olarak kullanılan kök ucu dolgu materyalidir. Ancak MTA da ideal kök ucu dolgu materyali için gerekli olan tüm kriterleri karşılamadığından, MTA'dan sonra da endodontik mikrocerrahi alanına çok sayıda yeni materyal tanıtılmıştır. Bu yeni materyallerin de MTA gibi kalsiyum

silikat esaslı oldukları ve içerikleri nedeniyle MTA-benzeri materyaller olarak adlandırıldıkları görülmektedir. Bu materyallerin bir kısmı, MTA'ya alternatif olma hatta MTA'nın yerine geçme potansiyeli taşımaktadır. Güncel kök ucu dolgu materyallerinin başlıcaları şu şekilde sıralanabilir:

Mineral Trioxide Aggregate (MTA): MTA yapısı itibariyle ağırlıkça yaklaşık olarak %75-80 Portland çimentosu, %20 bizmut oksit ve %0-5 alçı taşından oluşmaktadır. Bu oranlar MTA'nın hangi firma tarafından üretildiğine bağlı olarak değişebilmektedir (84). MTA'nın temel bileşenleri trikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat, trikalsiyum oksit ve silikat oksittir. Bunların yanında, MTA fiziksel ve kimyasal bir takım özelliklerine katkıda bulunan diğer bazı mineral oksitlerden de az miktarda içermektedir. İçeriğindeki bizmut oksit, MTA'ya radyoopasite sağlaması için katılmıştır. Yapılan incelemeler MTA'nın yapısında temel olarak kalsiyum ve fosfor iyonları içerdiğini göstermektedir (85). MTA toz kısmın, steril distile su ile karıştırılması sonucu elde edilir. Karışım, nemli ortamda hidrate olarak koloidal jel haline gelir ve yaklaşık 4 saat içerisinde sertleşir. MTA'nın sertleşme süresi; partikül boyutundan, toz-su oranından, ortamdaki su varlığından ve karışımın içerisine sıkışan havadan etkilenebilir (85). MTA hidrofilik karakteri sayesinde nemden olumsuz etkilenmeden, hatta nemin aktivatör etkisi göstermesiyle sertleşir. MTA'nın başlangıç pH'ı 10,2 olup, sertleştiğinde pH'ı 12,5'e kadar çıkar (85).

MTA ilk olarak kök ucu dolgu materyali olarak geliştirilmiştir (15), ancak daha sonra pulpa kaplaması, açık apeksli dişlerde apikal bariyer ve perforasyonlarda tamir materyali olarak pek çok klinik uygulamada kullanılmaya başlanmıştır (86). Bütün bu klinik uygulamalarda önerilmesinin başlıca nedenleri arasında MTA'nın biyouyumlu olması (87), iyi sızdırmazlık sağlaması (15), diş pulpası ve periradiküler alanda rejenerasyonu uyarma kabiliyeti (88,89) ve yüksek pH'ı nedeniyle antibakteriyel olması (90) yer almaktadır. Bütün bu sağladığı avantajların yanında, MTA'nın bir takım olumsuz özellikleri de vardır ve bunlar kolay uygulanabilir olmaması, sertleşme süresinin uzun olması ve buna bağlı olarak yerleştirildiği kaviteden kolayca uzaklaşabilmesi şeklinde sıralanabilir (85,91). Bu olumsuz özelliklerin üstesinden gelebilmek için bazı araştırmacılar MTA'nın içeriğine eklemeler yapmıştır (92-95). MTA'nın içeriğinde yapılan değişiklikler ile MTA'nın kimi özellikleri iyileştirilebilse de, diğer özelliklerinin ne şekilde etkilendiği soru

işaretidir. Günümüzde, MTA modifikasyonlarının, MTA'nın yerine geçebilmesi için henüz yeterince kanıt yoktur.

EndoSequence Root Repair Material ve BioAggregate: EndoSequence Root Repair Material (ERRM; Brasseler, Savannah, GA) ve BioAggregate (Innovative BioCeramix, Vancouver, BC, Kanada) perforasyon tamiri, kök ucu dolgusu ve pulpa kaplaması gibi işlemlerde kullanılmak üzere üretilmiş olan biyoseramik esaslı materyallerdir. Biyoseramikler, tıp ve diş hekimliği alanları için özel olarak üretilmiş seramik materyalleri ifade eder. Biyoseramik materyaller alüminyum oksit, zirkonyum dioksit, biyoaktif cam ve cam seramikler, hidroksiapatit, kalsiyum fosfat ve kalsiyum silikat bileşenlerini içerebilirler (96,97). Günümüzde, tıp ve diş hekimliği alanında çok sayıda biyoseramik materyal kullanılmaktadır. Biyoseramiklerin diş hekimliği alanında popülerleşmesinin nedenleri biyouyumlu olmaları, boyutsal olarak küçülmemeleri ve biyolojik ortamda kimyasal olarak stabil kalmalarıdır. Ayrıca bu materyallerin hidroksiapatit oluşturarak dentin ile dolgu materyali arasındaki bağlantıyı güçlendirme özellikleri de vardır. Biyoseramik esaslı materyaller endodonti alanı için yeni bir konsept olmakla beraber giderek popüler hale gelmektedirler. MTA gibi kalsiyum silikat içeren bu biyoseramik materyallerden ERRM, ayrıca zirkonyum oksit, tantalyum oksit ve kalsiyum fosfat gibi bileşenlere de sahiptir. ERRM enjektör içinde düşük viskozitede ve kutu içerisinde yüksek viskozitede olmak üzere hazır halde iki formda mevcuttur. BioAggregate ise yine MTA gibi yüksek miktarda kalsiyum silikat içermektedir. Bunun yanında toz kısmında kalsiyum fosfat, silikon dioksit ve tantalyum pentaoksit gibi bileşenler de barındırmaktadır. Birçok çalışma hem ERRM'nin hem BioAggregate'in pek çok özelliğini test etmiş ve çoğu zaman MTA ile paralellik gösteren sonuçlar bulmuşlardır (98-106).

Biodentine: Biodentine (Septodont, Saint-Maur-des-fosses, Fransa), üretici firmasına göre yüksek sıcaklık seramikleri kimyası baz alınarak geliştirilmiş olan aktif biyosilikat teknolojisi ile üretilmiş kalsiyum silikat esaslı bir materyaldir (107). Biodentine trikalsiyum silikat, dikalsiyum silikat, kalsiyum karbonat, zirkonyum oksit ve likit olarak da kalsiyum klorid içermektedir. Biodentine'in toz kısmı kapsül içerisinde, likit kısmı ise ayrı bir tüpte bulunur ve likit kısmın kapsüle eklenmesi sonrası amalgamatörde karıştırılarak hazır hale gelir. Biodentine, ilk olarak

perforasyon tamirlerinde veya direkt pulpa kaplamasında pulpa ile temas halinde kullanılmak üzere koronal restorasyonların altına yerleştirilen ve bir şekilde dentin yerine geçebilen biyomateryal olarak tanıtılmıştır (17). Ayrıca Biodentine'in iyi tıkama kabiliyeti, yüksek sıkışma dayanımı, kısa sertleşme süresi, biyouyumlu ve biyoaktif oluşu gibi özellikleri öne sürülerek endodontik tamir materyali ve kök ucu dolgu materyali olarak kullanımı önerilmiştir (17,108-110).

Calcium Enriched Mixture (CEM): Kalsiyum ile güçlendirilmiş karışım anlamına gelen CEM simanı (BioniqueDent, Tahran, İran) yakın geçmişte endodonti alanına tanıtılmıştır (111). CEM kalsiyum oksit, kalsiyum fosfat, kalsiyum karbonat, kalsiyum silikat, kalsiyum sülfat, kalsiyum hidroksit ve kalsiyum klorid gibi çeşitli kalsiyum bileşenleri içermektedir (16). CEM'in klinik kullanım alanlarının, MTA ile benzer olduğu söylenmiştir. Kolay uygulanabildiği ve nemli ortamda sertleşebilme özelliğine sahip olduğu için kök ucu dolgu materyali olarak kullanımı önerilmiştir. CEM, MTA ile benzer pH, çalışma süresi ve boyutsal stabiliyeye sahiptir (16). MTA gibi, CEM'in de sertleştikten sonra hidroksiapatit oluşturabildiği bildirilmiştir (112). Ayrıca bir çalışmada CEM'in antimikrobiyal özellikleri MTA'dan üstün bulunmuştur (113).

2.2. Endodontik Cerrahi Alanında Mikrosızıntı

Mikrosızıntı sıvıların ve mikroorganizmaların, diş yüzeyi ile dolgu materyali arasındaki mikroskobik boşluklardan geçmesi olarak tanımlanabilir. Kök kanalı içerisindeki mikroorganizmalar, kök kanal tedavisi esnasındaki titiz temizleme ve şekillendirme prosedürelere rağmen dentin tübüllerinde varlıklarını sürdürmeye devam edebilirler. Mikrosızıntı sonucu kök kanal sistemindeki mikroorganizma ve ürünlerinin periapikal sahaya ulaşması, enfeksiyonun oluşmasına veya tekrarlamasına neden olacaktır (22). Bu sebeple apikal bölgede kusursuz bir tıkama sağlamak, ideal kök ucu dolgu materyalinden beklenen önemli kriterlerden biridir. Günümüze kadar kök ucu dolgu materyallerinin *in vitro* olarak sızdırmazlıklarının değerlendirilmesinde en sık olarak kullanılmış olan yöntemler şunlardır:

Boya Penetrasyonu Yöntemi

Grossman (114) tarafından 1939 yılında uygulanmış olan bu teknik, mikrosızıntı değerlendirmesi için muhtemelen günümüze kadar en yaygın olarak kullanılmış tekniktir (22). Bu durumun temel sebeplerinden biri tekniğin oldukça kolay uygulanabilir olmasıdır. Bu teknikte, diş uygun bir boya solüsyonunun içerisine daldırılır, böylelikle pasif bir şekilde boyanın diş yüzeyi ile dolgu arasındaki boşluklara penetre olması sağlanır. Sonrasında diştten uzunlamasına veya enine kesitler alınır ya da şeffaflaştırma tekniği uygulanarak boyanın lineer penetrasyonu incelenir (22). Bu teknikte metilen mavisi, gümüş nitrat, siyah çini mürekkebi, rodamin B ve bazik fuksin gibi çeşitli boya solüsyonları kullanılabilir. Kullanılan boya solüsyonlarının partiküllerinin molekül büyüklüklerinin, pH'ının ve kimyasal özelliklerinin penetrasyon derinliğini etkileyebileceği göz önünde tutulması gereken bir noktadır. Başka önemli bir nokta ise, boya solüsyonlarının boşluklara hareket etmesini temel alan bu yöntemde, boşlukların hava veya sıvı ile dolu olabileceği gerçeğidir. Kök kanal sistemi içerisinde hapsolmuş hava, boya solüsyonunun boşluğa penetre olmasına engel olabilir veya boşluk sıvı ile dolu ise denge sağlanıncaya kadar içeriye olması gerekenden fazla boya solüsyonu penetre olabilir (115,116). Bu sebeple penetrasyon miktarı direkt olarak boşluğun büyüklüğüne işaret edemez. Bu sorunun üstesinden gelmek için testin, düşük basınç ortamında yapılması gerektiği öne sürülmüş (115), ancak basınç değişikliğinin sızıntı miktarında fark yaratmadığı gösterilmiştir (117).

Yöntem ile ilgili diğer bir sorun ise, boya penetrasyonu tekniğinde uzunlamasına ve enine alınan kesitlerde, kesit alınması esnasında boyanın yok olup gidebilmesidir. Ayrıca kaçınılmaz olarak kesit alınırken bir miktar diş dokusu da uzaklaşır (118,119). Bu durumdan kaçınmak için, dişin boya içerisine daldırılma işleminden sonra kesitler alınmasından ziyade şeffaflaştırma tekniği uygulanabilir (22). Şeffaflaştırma tekniğinde dişler demineralizasyon, dehidratasyon ve metil salisilatta bekleme gibi süreçler sonunda herhangi bir doku kaybına uğramadan, kök kanal sistemi anatomisinin üç boyutlu olarak gözlenmesini sağlayacak şekilde şeffaf hale gelir. Bu tekniğin kolay ve hızlı uygulanabilir bir yöntem olup, boyanın penetre olduğu bölgelerin rahatça gözlenebilmesine olanak sağladığı bildirilmiştir (120). Öte yandan bu yöntemde kimi zaman demineralizasyon miktarının yetersiz oluşu son

safhadaki şeffaflık miktarını etkileyebilmektedir. Ayrıca demineralizasyon süresi, sert doku kısmının miktarına bağlı olarak dişten dişe değişebilmektedir. Diğer bir sorun ise yetersiz dehidratasyon sebebiyle, diş üzerinde opak alanların kalabilmesidir. Bunun için dişin %100 etil alkolde ek bir süre daha dehidratasyon için bekletilmesi çözüm olarak önerilmiştir (120). Ancak uzun süre asitte veya alkolde bekletme, sızıntı miktarının değerlendirilmesini sağlayacak boyanın kaybolup gitmesine neden olabilir.

Günümüze kadar birçok çalışma farklı boya solüsyonları kullanarak veya farklı kesitlerde ve şekilde inceleme yaparak, boya penetrasyon tekniğini sızıntı analizi için uygulamıştır. Ancak uygulanabilecek tüm değişkenlerine rağmen bu teknikte, ne kadar hacimde sızıntı gerçekleştiği söylenemez ve dolayısıyla sadece yarı-ölçülebilir sonuçlar elde edilebilir (22,116). Bu sebeple kök ucu dolgu materyallerinin tıkama kabiliyetlerini boya penetrasyon tekniği uygulayarak test eden birçok çalışma, çoğu zaman birbirleriyle tutarlılık göstermemektedir (116).

Roy ve diğerleri (121) boya penetrasyonu tekniğini uyguladıkları çalışmalarında, enfeksiyon ortamında pH seviyesinin düşük olabileceğinden yola çıkarak, kök ucu dolgu materyallerinin asidik ortamda veya nötral ortamda beklemelerinin sızıntıya etkisini mürekkep kullanarak incelemişlerdir. Asidik ortamın hiçbir materyalin sızdırmazlığını olumsuz yönde etkilemediğini, hatta MTA, Geriostore ve kalsiyum fosfat simanının sızdırmazlığını daha olumlu hale getirdiğini belirtmişlerdir. Her iki ortamda da MTA ve Super EBA en iyi sonuçları vermiştir.

Farklı derinliklerde hazırlanan kök ucu kavitelere yerleştirilen MTA'nın sızıntısını protein-boya kompleksi kullanarak inceleyen bir çalışmada, 1 mm derinlikteki MTA'nın en çok sızıntıya yol açtığını, 2 ile 3 mm derinlikteki kavitelere fark olmadığını ve 4 mm derinliğin en iyi sonuçları verdiğini bildirmişlerdir (122). Başka bir çalışmada 3 mm derinlikteki kavitelere yerleştirilen MTA, beyaz MTA (WMTA), Portland simanı (PC) ve beyaz Portland simanının (WPC) sızıntı miktarları metilen mavisi kullanılarak değerlendirilmiş ve hepsinin bir miktar boya absorbe ettiği ancak sızıntının 3 mm'den derine ilerlemediği belirtilmiştir (123). Benzer bir çalışma bu sefer çini mürekkebi kullanarak 1 mm, 2 mm ve 3 mm derinliğindeki kavitelere MTA'nın sızdırmazlığını analiz etmiştir ve istatistiksel olarak mikrosızıntı miktarında bir fark olmadığını bildirmişlerdir (124).

Gondim ve diğeri (125) ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, OK, A.B.D.), Super EBA ve IRM'in sızdırmazlıklarını metilen mavisi kullanarak karşılaştırmışlar ve materyaller yerleştirildikten sonra yüzeylerine farklı frezler ile veya sadece el aleti ile yüzey düzeltmesi yapılmasının sızıntıya etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada MTA en az sızıntıyı göstermiştir ve bitirme tekniklerinin bir farklılık oluşturmadığı söylenmiştir. Benzer şekilde metilen mavisi kullanan başka bir çalışmada da, 72 saat sonundaki sızıntı miktarının en az MTA'da olduğu ve onu Vitremer, Super EBA ve amalgamın sırayla takip ettiği bildirilmiştir (126). Gümüş nitrat kullanan bir çalışmada ise sızıntı açısından Super EBA en iyi sonuçları gösterirken, onu MTA ve Vitremer sırayla takip etmiştir (127). Tanomaru Filho ve diğeri (128), metilen mavisi ve rodamin B kullanarak MTA ile çinko-oksit öjenol simanın sızıntı miktarını karşılaştırmışlar ve sadece MTA'nın metilen mavisi kullanıldığında, gösterdiği sızıntı miktarının diğerlerinden farklı olarak az olduğunu bildirmişlerdir. Metilen mavisinin çeşitli materyallerle temasının boyanın rengine etkisini inceleyen bir çalışmaya göre, metilen mavisi MTA ile temas halinde, rengini zaman içerisinde bir miktar kaybetmektedir. Bu nedenle bu çalışmada, MTA test edileceği zaman metilen mavisi kullanmaktan kaçınılması gerektiği belirtilmiştir (129). Başka bir çalışma farklı boya solüsyonları kullanarak MTA'nın sızıntısını test etmiş ve en çok sızıntının rodamin B boyası kullanıldığında, en az sızıntının ise gümüş nitrat kullanıldığında gerçekleştiğini göstermiştir (130). Metilen mavisi kullanıldığında ise oluşan sızıntı miktarı ikisinin arasında yer almıştır (130). Çini mürekkebi kullanılarak 7 gün sonundaki sızdırmazlığın analiz edildiği farklı bir çalışmada ise Super-EBA ile IRM, MTA'ya göre daha az sızıntı göstermiştir ve MTA'nın geç sertleşme süresine bağlı olarak boyayı absorbe etmiş olması bunun sebebi olarak düşünülmüştür (131).

Lee ve diğeri (132), epoksi rezin ve Portland simanından oluşan deneysel bir materyal (EPC) ile MTA'nın 24 saat sonundaki sızdırmazlık kabiliyetini metilen mavisi kullanarak incelemişler ve EPC'nin daha az sızıntı oluşturduğunu göstermişlerdir. Metilen mavisi kullanan başka bir çalışma biyoseramik esaslı bir materyal olan Diadent Bioaggregate'ı (DiaRoot, Diadent, Burnaby, Kanada); ProRootMTA, IRM ve amalgam ile sızdırmazlık kabiliyeti açısından karşılaştırmış ve Diadent Bioaggregate'ın en az sızıntıya yol açtığını bildirmiştir (133). Ashraf ve

diğerleri (134), ProRootMTA ile Resilon/Epiphany'nin (Pentron Clinical Technologies, LLC, Wallingford, CT, A.B.D.) 72 saat sonundaki sızıntı miktarını metilen mavisi kullanarak incelemişler ve iki materyalin de benzer miktarda sızıntıya yol açtığını bulmuşlardır. Başka bir çalışmada WMTA, gri MTA (GMTA), WPC ve gri Portland simanının (GPC) 72 saat sonundaki sızıntı miktarı çini mürekkebi kullanılarak değerlendirilmiş ve aralarında fark bulunmamıştır (135). MTA Bio'nun (Angelus, Londrina, PR, Brezilya) distile su, klorheksidin ve doksisisiklin ile karıştırılarak hazırlanmasını gümüş nitrat kullanarak sızıntı açısından değerlendiren bir çalışma ise, tüm karışıma kombinasyonlarının benzer sızıntı sonuçları oluşturduğunu bildirmiştir (136). Bortoluzzi ve diğerleri (137), kalsiyum kloridin'in ProRoot MTA, MTA-Angelus ve WPC'nin 72 saat sonundaki sızıntısına olan etkisini rodamin B kullanarak incelemiş ve kalsiyum kloridin üç materyal için de daha olumlu sonuçlar oluşturduğunu bulmuşlardır. Başka bir çalışmada metilen mavisi kullanılarak, CEM ve MTA'nın da içlerinde bulunduğu kök ucu dolgu materyallerinin 72 saat sonundaki sızıntısı test edilmiş ve materyallerin oluşturdukları sızıntı miktarları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (138).

Hasheminia ve diğerleri (139), üç farklı ortamda (kuru, tükürük ile kontamine, kan ile kontamine) kök ucu kavitelere yerleştirilen MTA ve CEM'in 48 saat sonundaki sızdırmazlıklarını metilen mavisi kullanarak test etmişler ve tükürük ile kontamine ortamda CEM'in daha az sızıntıya yol açtığını bulmuşlardır. Aynı araştırmacı, benzer bir çalışmayı ProRootMTA ve deneysel bir biyoseramik esaslı materyal olan Cold Ceramic kullanarak gerçekleştirmiş ve Cold Ceramic kan ile kontamine ortamda kaviteye yerleştirildiğinde MTA'dan daha başarılı sonuçlar vermiştir. Ancak diğer koşullarda aralarında fark bulunmamıştır (140).

Andelin ve diğerleri (141), ortograd yaklaşım ile kök ucuna MTA yerleştirip sonrasında rezeksiyon yapmak ile, retrograd yaklaşım ile MTA yerleştirilmesinin sızıntı açısından farklı olup olmadığını çini mürekkebi kullanarak test etmiştir. Sonuçlarına göre sertleşmiş MTA'nın rezeke edilmesi sızdırmazlığı etkilememektedir.

Farklı endodontik cerrahi uygulamalarının sızıntıya etkisini rodamin B boyası kullanarak inceleyen bir çalışmaya göre en iyi sonuçlar şu üç koşulda elde edilmiştir: Birincisi frez ile apikal rezeksiyon sonrası ultrasonik uçlarla açılan kavitelere MTA

yerleştirilmesini takiben CO₂ lazer ile yüzey müdahalesi yapıldığında, ikincisi frez ile apikal rezeksiyon sonrası Nd:YAG lazer ile yüzey müdahalesi yapıldığında, üçüncüsü Er:YAG lazer ile apikal rezeksiyon sonrası Nd:YAG lazer ile yüzey müdahalesi yapıldığıdır (46). Başka bir çalışmada ise diode lazerin kök ucuna ve MTA yüzeyine uygulanmasının sızıntıya etkisini incelenmiş ve rodamin B ile 72 saat sonunda yaptıkları sızıntı testi sonucunda diode lazer uygulamasının sızdırmazlığa herhangi bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır (142).

Sullivan ve diğerleri (143) metilen mavisi ile yaptıkları sızıntı analizinde, kök ucu kavitesi hazırlanıp MTA yerleştirilen grubun, lazer veya frez ile rezeksiyondan sonra kök ucu kavitesi açılmadan, sadece gutta-perkaya el aleti ile yüzey düzeltilmesi yapılan gruplara göre daha olumlu sonuçlar oluşturduğunu göstermiştir.

Post ve diğerleri (144), kök ucunda 45 ve 90 derecelik eğimler ile apikal rezeksiyon yaptıktan sonra, kök ucu kavitelerini karbid frezle veya ultrasonik uçlarla açmışlar ve bu kaviteleri MTA veya amalgam ile doldürmüşlardır. Rodamin B boyası kullanarak 24 saat sonundaki sızıntıyı değerlendirdiklerinde, MTA içeren gruplarda daha az sızıntı olduğunu ve sadece materyal faktörünün sonuçları etkilediğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada araştırmacılar altı farklı kök ucu dolgu materyalini frezlerle veya elmas kaplı ultrasonik uçlarla hazırladıkları kök ucu kavitelerine yerleştirip bazik fuksin solüsyonunda 24 saat bekletmişlerdir. Sızıntı açısından, her iki türlü kavite preparasyonu tipinde de rezin esaslı bir materyal olan Clearfil (Clearfil SE Bond, Kuraray, Osaka, Japonya) ve MTA en başarılı sonuçları vermiştir. Elmas kaplı ultrasonik ile kavite preparasyonu diğer materyaller için sonucu, frezle preparasyona göre daha olumlu hale getirmiştir (145).

Bakteri Penetrasyonu Yöntemi

Mikrosızıntı analizinde boya yerine bakteri kullanmanın klinik ve biyolojik yönden daha anlamlı sonuçlar oluşturacağı düşünülmüştür (146). Bu yöntem kullanılan bakteriye göre hassasiyet gösterdiği için, günümüze kadar mikrosızıntı testlerinde birçok bakteri türünün kullanılması çelişkili sonuçların açığa çıkmasına neden olmuştur. Ayrıca kullanılan materyallerin antimikrobiyal özelliklerinin, bu yöntemin işlerliğini olumsuz yönde etkileyebileceği söylenmiştir (147). Bakteri penetrasyonu yöntemi temelde bakterinin besiyerine ulaşip, besiyerinin rengini

bulanık hale getirmesine dayanan niteliksel bir analiz yöntemidir. Yöntemin niceliksel olmayışının nedeni, bir tane bakterinin bile sızıntı sonucu besiyerine geçip orada çoğalıp, bulanık görüntüye sebep olabilmesidir (148). Bu dezavantajlarına karşın, bakteri penetrasyonu yöntemi, kök ucu dolgu materyallerinin mikrosızıntı analizinde günümüze kadar uygulanmış bir yöntemdir.

Torabinejad ve diğerleri (149) kök ucu kavitelere yerleştirilen amalgam, IRM, Super-EBA ve MTA'nın tıkama kabiliyetini *Staphylococcus epidermidis* kullanarak test etmiştir ve 90 günün sonunda diğer materyallerin aksine MTA grubundaki çoğu örnekte hiç sızıntı oluşmadığını bildirmişlerdir. Aynı materyallerin sızdırmazlıklarını *Serratia marcescens* kullanarak inceleyen başka bir çalışmada, 49. güne kadar MTA grubunda hiç sızıntı oluşmadığı ve bu bakterinin geçişine istatistiksel olarak en iyi direnci MTA'nın gösterdiği bulunmuştur (150). Adamo ve diğerleri (151) *Streptococcus salivarius* kullanarak 12 hafta boyunca amalgam, kompozit, Super-EBA ve MTA'nın sızdırmazlığını inceledikleri çalışmada, materyaller arasında istatistiksel farklılık oluşmadığını bildirmişlerdir. *Streptococcus salivarius* ile sızdırmazlık testi yapan başka bir çalışma, kök ucu dolgu materyali olarak Super EBA, MTA ve Resilon'u değerlendirmiş ve en çok sızıntıya Super EBA'nın yol açtığını bildirmiştir (147). Benzer şekilde başka bir çalışmada da örnekler *Enterococcus faecalis* bakterisine 70 gün maruz bırakılmış ve yine MTA ile Resilon benzer miktarda sızıntı göstermiştir (134). Montellano ve diğerleri (152) kan, tükürük ve salin ile kontamine ortamda kök ucu kavitesine yerleştirilen MTA'nın sızıntısını *Staphylococcus epidermidis* bakterisini kullanarak incelemişler ve tükürük ile kontamine ortamda yerleştirilen MTA'nın, kontamine olmayan temiz kavitedeki MTA'dan daha fazla sızıntıya yol açtığını belirtmişlerdir. *Staphylococcus epidermidis* kullanarak sızıntı testi yapan başka bir çalışma iki farklı firmanın ürettiği MTA'lar ile Portland simanını karşılaştırmış ve materyallerin aynı etkinlikte tıkama kabiliyetine sahip olduklarını bildirmişlerdir (153). Aynı MTA markalarını, amalgam ve CEM ile karşılaştıran başka bir çalışmada, *Enterococcus faecalis* ile sızıntı testi yapılmış ve 70 gün sonunda materyaller arasında bakteriyel sızıntı açısından farklılık olmadığı belirtilmiştir (138). Parirokh ve diğerleri (154) fosfatla tamponlanmış salin veya normal salinde kök ucu dolgu materyali olarak MTA'nın yerleştirildiği dişleri 1 ay bekletmişler ve sonrasında *Enterococcus faecalis*

kullanarak sızıntıyı değerlendirmişlerdir. Sonuçlarına göre MTA'nın fosfatla tamponlanmış salinde bekletilmesi daha az sızıntı oluşmasını sağlamıştır. Yıldırım ve diğerleri (155) smear tabakasının ve kök ucu kavitesi derinliğinin, MTA'nın sızıntısına etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında *Enterococcus faecalis* kullanmışlar ve kök ucu kavitesinin derinliğinin sızıntıya etki etmediğini ancak smear tabakasının uzaklaştırılmasının apikal mikrosızıntıyı artırdığını göstermişlerdir. Smear tabakasının sızıntı ile ilişkisine dair benzer bir sonuç bazı fakültatif bakteriler ve *Candida albicans* karışımını sızıntı modelinde kullanmış olan başka bir çalışma tarafından da elde edilmiştir ve bu çalışmada Sealapex+çinko oksit ve çinko oksit öjenol simanı, beyaz ve gri MTA ile Portland simanına göre sızıntı açısından daha olumlu sonuçlar oluşturmuştur (156). Yakın zamanda ERRM ile WMTA'nın kök ucu dolgu materyali olarak sızdırmazlıkları *Enterococcus faecalis* kullanılan sızıntı modelinde değerlendirilmiş ve aralarında fark bulunmamıştır (157). Öte yandan benzer yöntemi uygulayan başka bir çalışmada ERRM, MTA'ya göre istatistiksel olarak daha çok sızıntı oluşturmuştur (158). Birang ve diğerleri (159) ultrasonik uç ile kök ucu kavitesi açıldıktan sonra, Nd:YAG lazer ile kavite duvarlarına yüzey muamelesi yapılmasının MTA'nın sızdırmazlığına etkisini, *Enterococcus faecalis* kullanarak incelemişler ve lazer uygulanmayan grubun daha az sızıntı gösterdiğini bildirmişlerdir.

Sıvı Filtrasyon Yöntemi

Sızdırmazlığı, kapiller tüp içerisindeki hava kabarcığının hareket miktarını esas alarak ölçen sıvı filtrasyon yöntemi 1983 yılında Pashley ve diğerleri (160) tarafından dentin geçirgenliğini analiz etmek için kullanılmış ve sonrasında Derkson ve diğerleri (161) tarafından mikrosızıntı miktarını test etmek için uygulanmıştır. Wu ve diğerleri (21) tarafından 1993 yılında, sıvı filtrasyon yöntemi endodonti alanında kullanılmak üzere modifiye edilmiştir. Sıvı filtrasyon yönteminde, sistem temel olarak belli miktar basınç oluşturan bir tüp ve deiyonize su ile dolu hepsi birbirine bağlı mikropipet, şırınga ve plastik tüplerden oluşur. Mikrosızıntı analizi için kullanılacak diş kökü, plastik tüpe epoksi rezin veya benzeri bir yapıştırıcı ile hava ve sıvı sızdırmayacak şekilde yerleştirilir ve böylece diş kökü de sisteme dahil edilmiş olur. Mikroşırınga ile su yaklaşık 2 mm kadar geri çekilir ve böylelikle

mikropipet içerisinde hava kabarcığı oluşturulmuş olur. Şırınga yardımı ile mikropipet içerisindeki hava kabarcığının pozisyonu uygun bir yerde sabit hale getirilir. Basınç tankından belli miktar basınç verilmesiyle, kök kanal sistemi içerisindeki boşluklardan su geçmesi sağlanır. Suyun hareketi tüpteki hava kabarcığının hareketine neden olur ve zamana bağlı değişim incelenir. Sonrasında hava kabarcığının uzunlamasına hareketi hacimsel yer değiştirmeye dönüştürülür ve elde edilen değerler genelde mikrolitre/dakika/cmH₂O olarak ifade edilir (162). Bu teknik, örneklere zarar vermeden inceleme yapma imkanı tanır ve hem koronal hem apikal tıkama istenen zaman süresince değerlendirilebilir. Sonuçlar nicel olarak ölçülerek kaydedilebilir ve böylelikle operatörden kaynaklı olabilecek hataların önüne geçilmiş olur. Ayrıca bu teknikte oldukça küçük hacimlerin bile ölçümü yapılabilir ve boya penetrasyonu yöntemi ile kıyaslandığında kök kanal sistemi boyunca olan boşlukları tespit etmede daha etkin olduğu belirtilmektedir. Ayrıca sıvı filtrasyon yöntemi boya kullanımı içermediği için boyanın molekül büyüklüğü, pH'ı, dentine penetrasyon kabiliyeti ile ilgili değişkenlere bağlı sorunlar, bu yöntem için geçerli olmamaktadır (163). Ayrıca kök kanal sistemi içerisindeki hava veya sıvı varlığının yaratabileceği sorunlar, sıvı filtrasyon yönteminde uygulanan pozitif basınç sayesinde sorun olmaktan çıkmaktadır. Sıvı filtrasyon sisteminin hassasiyeti uygulanan basınç miktarının ve kullanılan mikropipet çaplarının değiştirilmesiyle ayarlanabilir (162). Sıvı filtrasyon yöntemi, endodonti alanı için modifiye edildiği zamandan beri giderek popülerlik kazanmış olup, aşağıda da bahsedilen birçok makale tarafından kök ucu dolgu materyallerinin mikrosızıntı analizinde yöntem olarak kullanılmıştır.

Bates ve diğerleri (164) kök ucu dolgu materyali olarak amalgam, Super EBA ve MTA'nın zaman içerisindeki sızdırmazlığını sıvı filtrasyon yöntemi ile değerlendirdikleri çalışmalarında, iki haftaya kadar Super EBA ve MTA'nın benzer olup amalgamdan daha iyi sonuçlar gösterdiğini, daha sonraki dönemde ise materyaller arasında farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Wu ve diğerleri (165) ise Super EBA ve amalgamın sızıntısında ilk 3 ay içerisinde artış olduğunu, bunun daha sonraki dönemde bir miktar azaldığını ancak 12 aya kadar tüm zamanlarda MTA ve cam iyonomer simanların daha az sızıntı oluşturduğunu söylemişlerdir. Başka bir çalışmada kök ucu dolgu materyali olarak kullanıldığında amalgam 4 hafta

sonrasında MTA'ya göre daha fazla mikrosızıntı oluşturmuştur ve MTA'nın zaman aralığındaki sızıntı miktarının çok az değişiklik göstererek oldukça az olduğu bildirilmiştir (166). Sıvı filtrasyon yöntemi ile mikrosızıntı analizi yapan başka bir çalışmada ise kök ucu dolgu maddesi olarak kullanıldığında amalgam, IRM haricinde diğer materyallerden daha fazla sızıntıya yol açmıştır. Aynı çalışmada IRM, Super EBA, rezin esaslı dolgu materyali ve MTA arasında ise istatistiksel olarak farklılık görülmemiştir (167).

Karlovic ve diğerleri (168) ultrasonik uçlar ve Er:YAG lazer ile açtıkları kök ucu kavitelelerinde MTA, Super EBA ve IRM'nin tıkama kabiliyetini sıvı filtrasyon yöntemi kullanarak değerlendirmiş ve lazer gruplarında ultrasonik gruplara göre daha başarılı sonuçlar gördüklerini bildirmişlerdir. Ultrasonik gruplarında materyaller arasında istatistiksel fark oluşmazken, lazer grubunda MTA diğer kök ucu dolgu materyallerinden anlamlı olarak daha iyi sonuçlar oluşturmuştur. Koçak ve diğerleri (169) düşük devirde frez, ultrasonik uç ve Er,Cr:YSGG lazer ile açtıkları kök ucu kavitelelerinde ProRoot MTA ve MTA-Angelus'un tıkama kabiliyetlerini sıvı filtrasyon yöntemi ile incelemişler ve materyaller arasında fark bulmamışlardır. Öte yandan lazer grubu ile açılan kavitelelerde materyaller daha az sızıntı göstermiştir. Apikal rezeksiyon açısının sızıntıya etkisini inceleyen bir çalışmada ise, 45 ve 90 derecelik eğimlerle yapılan rezeksiyon sonrası kök ucu kaviteleleri 3 mm derinlikte olacak şekilde frez veya ultrasonik uçlar ile açılmış ve sonrasında her bir kaviteye MTA yerleştirilmiştir. Bu çalışmada uygulanan bilgisayarlı sıvı filtrasyon analizinin sonucuna göre gruplar arasında istatistiksel açıdan fark görülmemiştir (170).

Gandolfi ve diğerleri (171) deneysel tetrasilikat esaslı iki materyali, MTA ile kıyasladıkları çalışmalarında sıvı filtrasyon analizi sonucu tüm materyallerin benzer miktarda sızıntıya sebep olduklarını göstermişlerdir. Biyoseramik esaslı bir materyal olan Ceramicrete'in kök ucu dolgu materyali olarak kullanıldığı bir çalışmada, tüm materyaller 72 saat fosfatla tamponlanmış salinde bekletildikten sonra sıvı filtrasyon analizi ile mikrosızıntı incelenmiş ve Ceramicrete, MTA ile Super EBA'dan daha iyi sonuçlar vermiştir (172). Sıvı filtrasyon yöntemini kullanan başka bir çalışmada, smear tabakasının varlığının kök ucu dolgu materyali olarak kullanıldığında MTA'nın tıkama kabiliyetine etkisi incelenmiş ve uzun dönemde smear tabakasının varlığının daha az sızıntı sağladığı sonucuna ulaşılmıştır (173).

Kök ucu dolgu materyallerinin tıkama kabiliyetlerini test etmek için literatürde en çok kullanılmış olan yöntemler ve ilgili çalışmalar yukarıda anlatılmıştır. Mikrosızıntı çalışmalarında kullanılan tüm yöntemlerin sahip oldukları limitasyonlar, yeni yöntemlerin üretilmesine neden olmuştur. Ancak daha sonradan tanıtılan yöntemlerin eski yöntemlerden daha üstün olmadıkları ve onların da limitasyonları olduğu anlaşılmıştır. Bu sebeple endodonti alanına tanıtılan yeni mikrosızıntı yöntemleri çok popülerlik kazanmamıştır. De Bruyne ve diğerleri (174) bazı kök ucu dolgu materyallerinin tıkama kabiliyetini sıvı filtrasyon analizi ve ‘*capillary flow porometry*’ diye isimlendirilen bir yöntem ile değerlendirmişlerdir. Bu yöntemde gaz basıncı uygulanarak likidin porlardan geçmesi ve likidin bittiği noktada gazın porlardan geçmesi sağlanmaktadır. Öncelikle en geniş çaplı porlar boş hale gelir ve daha fazla basınç uygulanması ile likidin daha küçük çaplı porlardan geçmesi sağlanır. Akışı ölçen cihaz (porometre), boşalan porlara bağlı olarak değişen basıncı ve akış hızındaki artışı tespit ederek ölçüm yapar (175). Düzeneginin bir miktar farklı olmasına karşın bu yöntem de aslında, sıvı filtrasyon yöntemindeki gibi kök kanal sisteminde bir uçtan diğer uca devamlılık gösteren boşlukların tespitini yapar. Bu yöntem ile elde edilen sonuçlar sıvı filtrasyon yöntemi ile karşılaştırıldığında, iki yöntemin birbiriyle yüksek korelasyon içerisinde olduğu bulunmuştur ve sonuç olarak yeni yöntemin bir farklılık yaratmadığı görülmüştür (174). Yakın zamanda Xu ve diğerleri (176) tarafından ise sıvı yerine glukoz molekülünün kullanıldığı bir sızıntı modeli yöntem olarak tanıtılmıştır. Bu yöntem, sızıntı sonucu bir alanda biriktirilen glukoz konsantrasyonunun enzimatik reaksiyon sonucu tespit edilmesini temel almaktadır. Bu reaksiyon sonucu renkli bir ürün ortaya çıkmakta ve spektrofotometre ile optikal densite ölçümü yapılmaktadır. Bu yöntemin ortaya çıkışındaki temel sebep bakteri penetrasyonu ve sıvı filtrasyonu yöntemlerindeki bazı limitasyonların önüne geçebilmektir. Örneğin, bakteri penetrasyonu yönteminde aseptik koşulları sağlamanın oldukça güç olması, her bakterinin farklı sonuçlar oluşturması ve bakterilerin moleküler olarak büyük olabilmesi bu limitasyonlardan bazılarıdır (21). Öte yandan glukoz molekülünün daha küçük olması nedeniyle boşluklara daha kolay penetre olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca glukozun sızıntı olduğu takdirde kök kanal sisteminde mevcut olan bakteriler için besin kaynağı olacağı gerçeği, glukoz penetrasyonu

yönteminin de bakteri penetrasyonu yöntemi gibi klinik gerçeklerle ilişkili olduğunu düşündürmektedir (176). Sıvı filtrasyonu yöntemi göz önüne alındığında ise, glukoz sızıntı modelindeki enzimatik okumanın, hava kabarcığı hareketinin tespitine göre daha hassas sonuçlar vereceği öne sürülmüştür. Ayrıca tüm avantajlarına karşın sıvı filtrasyonu yöntemindeki ölçüm süresi, uygulanan basınç, hava kabarcığının bulunduğu tüpün çapı ve hava kabarcığının uzunluğu gibi değişkenler nedeniyle literatürdeki çalışmalar arasında standardizasyon sağlanamadığı belirtilmiştir (163). Öte yandan glukoz sızıntı modelinin de oldukça önemli dezavantajlara sahip olduğu görülmüştür. Bu modelde, bakterinin olmadığı aseptik bir ortamın devamlılığının sağlanmasının oldukça güç olduğu söylenmiştir. Bakteri oluştuğu anda, ortamdaki glukozu tüketmeye başlayacağı için testin işlevsiz kalması söz konusudur. Bunun yanında ortamdaki suyun buharlaşması, glukoz konsantrasyonunun değişmesine ve sonuçların etkilenmesine neden olabilir (99). Ayrıca kalsiyum hidroksit içeren materyallerin ve MTA'nın glukoz ile reaksiyona girdiği ve bu sebeple glukozun optikal densitesinde azalmaya yol açtıkları gösterilmiştir (177). Bu sebeple, özellikle bu materyallerin mikrosızıntı analizi yapılırken glukoz sızıntı modeli ideal bir yöntem olmamaktadır.

2.3. Endodontik Cerrahi Alanında Kenar Uyumu

Kök ucu dolgu materyali ile kavite duvarları arasında boşluk olmayacak şekilde, materyalin kök ucu kavitesine iyi adaptasyon göstermesi ile ilgili bölgede mikroorganizma ve sıvı geçişinin önüne geçilerek mikrosızıntı oluşumu önlenir. Ters durumda, mevcut boşluklar apikal sızıntıya yol açarak tedavinin başarısızlığına yol açabilir (27). Bu sebeple kenar uyumu, bir kök ucu dolgu materyalinin karşılaması gereken önemli kriterlerden biri olarak kabul edilmektedir ve kenar uyumu analizi gerçekleştirilirken, dolaylı olarak mikrosızıntının da değerlendirilebileceği düşünülmektedir (24).

Bu kısımda kök ucu dolgu materyallerinin, kavite duvarlarına olan kenar uyumunu etkileyebilecek faktörlerden ve kenar uyumu analizi için literatürde uygulanmış olan yöntemlerden bahsedilecektir.

2.3.1. Kök ucu rezeksiyonunun, kök ucu dolgu materyalinin kavite duvarlarına olan kenar uyumuna etkisi

Kök ucu rezeksiyonu yaparken, kullanılacak olan alet seçimi tartışmalı bir konudur ve literatürde pek çok farklı frez veya uç tipinin kök ucu rezeksiyonu yaparken kullanılmış olduğu görülmektedir (25,26,28,30,31,59,105,143,145,171,178-187). Kök ucu rezeksiyonunun düzensiz ve pürüzlü bir yüzeyden ziyade temiz, düzenli ve pürüzsüz bir yüzey oluşturması gerektiği söylenmiştir (12). Kök ucu rezeksiyonu sonrası nasıl bir yüzey oluştuğunun önemi literatürde açık bir şekilde belirtilmemiş olsa da, birçok çalışma farklı aletlerin rezeksiyon sonrası kök ucu yüzeyine etkisini incelemiştir (184-186). Öte yandan kök ucu rezeksiyonu sonrası oluşan yüzey özelliklerinden ziyade, dolgu materyalinin oluşan yüzeye olan adaptasyonunun daha önemli olabileceği bildirilmiştir (188). Ancak, kök ucu rezeksiyon tekniklerinin dolgu materyalinin kenar uyumuna etkisi, birçok kök ucu rezeksiyon çalışması tarafından değerlendirilmemiştir.

Nedderman ve diğerleri (183) yüksek hızlı veya düşük hızlı başlıklar ile kök ucu rezeksiyonu yapıldığında, farklı yüzey özelliklerinin oluştuğunu göstermişlerdir. Çalışmalarına göre, en pürüzsüz yüzey ve en az gutta perka hareketi, düz yüzeyli fissür frez düşük hızlı başlıkta çalıştırıldığında elde edilmiştir. Hem düz yüzeyli hem de düz yüzeyli olmayan fissür frez, yüksek hızlı başlık ile çalıştırıldığında ise, kök ucundaki gutta perkada deformasyon gözlenmiştir. Bu sonuçlara, düşük hızda çalışan başlıkta daha düşük ısı oluşması katkı sağlamış olabilir (27). Öte yandan, Weston ve diğerleri (182) gutta perkada görülen yayılma veya ufalanma tarzı deformasyonların, başlığın hareket yönü ile frezin dönüş yönü arasındaki ilişkiye bağlı olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada başlık, frezin dönüş yönünün tersine hareket ettirildiğinde gutta perkanın çevre duvarlara yayıldığı gözlenmiştir. Ayrıca her bir frez tipindeki karakteristik özelliklerin kök ucu topoğrafyasına ve gutta perkaya yansıdığı bildirilmiştir. Yakın zamanda başka bir çalışma frez, ultrasonik uç ve lazer ucu ile kök ucu rezeksiyonu sonrası, ErCr:YSGG lazerin en düzensiz kök ucu yüzeyini oluşturduğunu göstermiştir (59). Çalışmalarında yüksek hızlı başlığa takılı frez en düzgün kök ucu yüzeyini oluştururken, gutta perka ile dentin arasında boşluklara yine en çok bu grupta rastlanmıştır. Ultrasonik grubunda ise gutta perka düzensiz şekilde dentin duvarlarına yayılmıştır. Benzer şekilde Sullivan ve diğerleri de (143),

ErCr:YSGG lazerin frez ile kök ucu rezeksiyonuna göre daha düzensiz kök ucu yüzeyi oluşturduğunu ve her iki grupta da ölçülebilir boşlukların mevcut olduğunu göstermiştir. Öte yandan aynı çalışmada frez ile kök ucu rezeksiyonu yapıldıktan sonra, ultrasonik uç ile kök ucu kavite preparasyonu yapıp MTA yerleştirildiğinde hiç boşluk gözlenmediği bildirilmiştir.

2.3.2. Kök ucu kavite preparasyonunun, kök ucu dolgu materyalinin kavite duvarlarına olan kenar uyumuna etkisi

Literatür taramamız kök ucu kavite preparasyonunun günümüze kadar frezler, ultrasonik uçlar veya lazer uçları ile gerçekleştirilmiş olduğunu göstermektedir (13,14,60). Birçok çalışma farklı kök ucu kavite preparasyonları sonrası kök ucu kavitesini temizlik (13,189), mikrosızıntı (168), çatlak oluşumu (190,191) gibi farklı yönlerden değerlendirmiştir. Öte yandan çok az sayıdaki çalışma, farklı kök ucu kavite preparasyonları sonrası, kök ucu dolgu materyallerinin kök ucu kavitesine olan kenar uyumunu değerlendirmiştir (145,180).

Peters ve Peters (180), okluzal yüklemenin kök ucu dolgu materyallerinin kenar uyumuna olan etkisini inceledikleri çalışmalarında, iki farklı ultrasonik uç ile kavite preparasyonu yaptıklarını belirtmişler ancak bu değişkenin kenar uyumuna olan etkisine değinmemişlerdir. Rosales-Leal ve diğerleri (145) ise farklı kök ucu kavitesi preparasyon tekniklerinin, kenar uyumuna olan etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, frez ile hazırlanan kök ucu kavitelerinde dolgu materyali ile kavite duvarları arasındaki birleşim hattının düz çizgi halinde ve düzenli olduğunu, ultrasonik uç ile açılanlarda ise dalgalı halde ve düzensiz olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada, ultrasonik uç ile açılan kaviteelerde daha az boşluğa rastlanmıştır. Bu sebeple, yazarlar kavite yüzeyindeki düzensizliklerin dolgu materyallerinin adaptasyonuna katkı sağladığı sonucuna varmışlardır.

Literatürde kök ucu kavite preparasyon tekniklerinin, dolgu materyallerinin kenar uyumuna olan etkisi pek ele alınmamış da olsa, kavite preparasyonu sonrası çatlak oluşumu ve kavitenin temizliğine dair değerlendirmeler yapan çalışmalar dolaylı olarak bu konuya katkıda bulunabilir. Kök ucu kavite preparasyonu sonrası, kavite temizliğini değerlendiren çalışmalar çoğunlukla ultrasonik uçların, frezlere göre daha temiz kavite yüzeyleri oluşturduğunu göstermiştir (13,192,193). Öte

yandan, Engel ve Steiman (189) çalışmalarında tam tersi sonuca varmışlar ve ultrasonik uç ile gerçekleştirilen kavite preparasyonu sonrası gördükleri debrisin, genel olarak tam anlamıyla uzaklaştırılamamış olan gutta perka artıkları olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde yakın zamandaki başka bir çalışma da, ultrasonik uçlar ile kavite yüzeyindeki gutta perka artıklarını ilişkilendirirken, frezler ile açılan kök ucu kavitelerinde ise sıklıkla dentin yüzeyinde çentik oluşumuna rastladıklarını bildirmişlerdir (39). Gutta perka artıklarının veya dentin yüzeyinde meydana gelen çentiklerin, kök ucu dolgu materyallerinin kenar uyumuna olan etkisi literatürde direkt olarak ortaya konmamış olsa da, daha temiz yüzeylerin daha iyi kenar uyumuna olanak tanınması beklenebilir.

Kök ucu kavite preparasyonu sonrası çatlak oluşumu literatürde başlı başına bir tartışma konusudur. Kök ucu dolgu materyallerinin kenar uyumunun, kök kanalı içerisinden başlayan ve dentin içerisinde devam eden çatlaklardan etkilenebileceği öne sürülmüştür (194). Bazı laboratuvar çalışmalarında, ultrasonik uçlar çatlak oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (195,196). Bu sebepten de, çatlak oluşumunun önüne geçmek için titreşim yapmayan ve basınç uygulamadan çalışan lazer uçları kök ucu kavite preparasyonu hazırlanmasında kullanılmak üzere tavsiye edilmiştir (14). Öte yandan, kadavra çalışmalarında ultrasonik uçlar ile hazırlanan kaviteelerde çatlak oluşumuna rastlanmamıştır (42,197). Ayrıca bir *in vivo* çalışmada da ultrasonik uç ile yirmi beş adet kök ucu kavitesinden sadece birinde çatlak oluşumu tespit edilmiştir (198). Bu çalışmaların sonuçları, çatlak oluşumunun deney koşullarından kaynaklanabileceğini ve periodontal ligament varlığı gibi tam olarak deney ortamına yansıtılamayan durumların klinikte çatlak oluşumunun önüne geçilmesini sağlayabileceğini düşündürmektedir.

2.3.3. Farklı kök ucu dolgu materyallerinin kavite duvarlarına olan kenar uyumu

Günümüze kadar pek çok dental materyal, kök ucu dolgu materyali olarak kullanılmış ve test edilmiştir (78). Geleneksel olarak amalgam bir dönem için kök ucu dolgu materyali olarak en sık kullanılan materyal olmuştur (12) ve doksanlı yılların sonuna kadar çoğu çalışmanın, kök ucu dolgu materyali olarak uyguladıkları materyalleri amalgam ile karşılaştırdıkları görülmektedir (24,27,181,199). MTA,

1993 yılında literatüre kök ucu dolgu materyali olarak tanıtılmış (15) ve sonrasında altın standart haline gelmiştir (63). Öte yandan MTA'nın sahip olduğu bir takım dezavantajlar nedeniyle ideal kök ucu dolgu materyali arayışı günümüzde hala sürmektedir ve çalışmalar piyasaya yeni sürülen materyaller ile MTA'nın çeşitli yönlerden karşılaştırılması ekseninde devam etmektedir. Tablo 2.1'de çeşitli kök ucu dolgu materyallerinin kenar uyumunu karşılaştıran çalışmalar özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Kök ucu dolgu materyallerinin kenar uyumunu karşılaştıran çalışmalar

	Kenar uyumu açısından en başarılı materyal	Kenar uyumu açısından en başarısız materyal
Tanzilli ve diğerleri (27)	Soğuk alet ile kondanse edilmiş gutta perka	Amalgam = Sıcak alet ile kondanse edilmiş gutta perka
Stabholz ve diğerleri (24)	Restodent	Amalgam
Chong ve diğerleri (199)	Vitrebond	Amalgam
Biggs ve diğerleri (181)	Amalgam	Ketac simanı
Torabinejad ve diğerleri (25)	MTA	Super EBA = IRM
Peters ve Peters (180)	MTA = Super EBA (okluzal yükleme öncesi)	Super EBA (okluzal yükleme sonrası)
Gondim ve diğerleri (29)	MTA	Super EBA = IRM
Shipper ve diğerleri (28)	MTA	Amalgam
Xavier ve diğerleri (127)	MTA	Super EBA = Vitremer
Tobon-Arroyave ve diğerleri (131)	IRM	MTA
Bidar ve diğerleri (187)	Beyaz MTA= Gri MTA= Portland simanı	
Sullivan ve diğerleri (143)	MTA	Soğuk alet ile kondanse edilmiş gutta perka
Badr ve diğerleri (26)	Polimetilmetakrilat kemik simanı = MTA	Amalgam
Munhoz ve diğerleri (30)	MTA	Sealer 26
Rosales-Leal ve diğerleri (145)	MTA = Clearfil	IRM
Al Fouzan ve diğerleri (200)	Beyaz MTA=Gri MTA (asit ile pürüzlendirilmiş kavitede)	Gri MTA (asit ile pürüzlendirilmemiş kavitede)
Oliveira ve diğerleri (179)	MTA=IRM=Amalgam=Super EBA=Epiphany/Resilon	
Rosa ve diğerleri (31)	MTA	Super EBA
Ravichandra ve diğerleri (178)	Biodentine	Cam iyonomer siman
Shokouhinejad ve diğerleri (105)	MTA= Endosequence Root Repair putty = Endosequence Root Repair paste(Enine kesit incelendiğinde)	
Shokouhinejad ve diğerleri (105)	MTA= Endosequence Root Repair putty (boyuna kesit incelendiğinde)	Endosequence Root Repair paste (boyuna kesit incelendiğinde)

2.3.4. Kök ucu dolgu materyallerinin kenar uyumunun değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler

Kök ucu dolgu materyallerinin kenar uyumunu değerlendirmek için ışık mikroskobu (201), konfokal lazer taramalı mikroskop (178,199), mikro-bilgisayarlı tomografi (200), üç boyutlu profilometre (30) gibi birçok yöntem kullanılmıştır. Öte yandan yüksek büyütme ve iyi çözünürlük sağladığı için taramalı elektron mikroskobunun, laboratuvar çalışmalarında kenar uyumunu değerlendirmek için en sık kullanılmış olan araç olduğu görülmektedir (24-31,59,105,127,131,143,145,171,179,180,182,183,187,200,202-205). Laboratuvar çalışmaları haricinde, taramalı elektron mikroskobunun vaka raporlarında da kullanılmış olduğu görülmektedir. Örneğin, iki çalışma kenar uyumu ile klinik performans arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya çalışmıştır (206,207). Kök ucu dolgu materyali olarak amalgam kullandıkları ve radyografik iyileşme gördükleri dişleri, sonradan endodontik olmayan sebeplerden dolayı çekmişler ve taramalı elektron mikroskobu altında incelemişlerdir. Radyografik başarıya rağmen, kök ucu dolgu materyallerinin iyi bir kenar uyumu sergilemediklerini ortaya koymuşlardır. Ancak bu çalışmalar değerlendirilirken, çekim esnasında dişlerde oluşan yıpranmalar göz önünde tutulmalıdır. Ayrıca taramalı elektron mikroskobunda inceleme yapmak için gerekli olan prosedürlerin de tüm bu laboratuvar çalışmalarının ve vaka raporlarının sonuçlarını etkileyebileceği bilinmelidir. Taramalı elektron mikroskobu için biyolojik materyallerin kaplama öncesi dehidrate edilmesi ve incelemenin yüksek vakum altında yapılması, sert dokularda çatlak gibi deformasyonların oluşmasına ve dolgu materyallerinin çevre dokulardan ayrılmasına neden olabilmektedir. Dahası dişin veya dolgu materyalinin genişlemesi veya büzülmesi sonucu, prosedüre bağlı yapay boşlukların oluşması mümkündür (25). Bu dezavantajların üstesinden gelmek için bazı kenar uyumu çalışmalarında replikasyon tekniği uygulanmıştır (24-26,29,59,105,143,145,171,180,182,202,203). Bu teknikte rezeke edildikten sonra kök ucunun ölçüsü alınıp, ölçü içerisine epoksi rezin dökülmektedir. Böylece incelenmek istenen bölgenin kopyası niteliğinde olan rezin replika elde edilmektedir. Rezin replika ile taramalı elektron mikroskobunun prosedürel dezavantajlarının önüne geçilebileceği düşünülmüştür. İki tekniği mikroskop görüntüleri üzerinden karşılaştıran bazı çalışmalar, rezin replikaların artefakt içermediğini ve replikalarda

doğal dişlere göre daha küçük boşluklar olduğunu, dolayısıyla taramalı elektron mikroskopunda inceleme yaparken rezin replikaların doğal dişleri temsil edebileceğini bildirmişlerdir (24-26,143). Öte yandan, Nedderman ve diğerleri (183) rezin replikalar, doğal dişler kadar kaliteli görüntü sağlayamadığı için çalışmalarında bu yöntemi kullanmadıklarını belirtmişlerdir.

Kök ucu dolgu materyallerinin dentin duvarlarına olan kenar uyumu enlemesine ve uzunlamasına olmak üzere iki yüzeyde incelenebilir. Taramalı elektron mikroskopunda uzunlamasına yapılan incelemelerde, sıklıkla doğal dişlerin kullanılmış olduğu görülmektedir (25,26,31,131,187,200). Sadece bir çalışmada hem enine hem uzunlamasına yapılan incelemelerde rezin replika kullanılmıştır (105). İlginç şekilde, uzunlamasına yapılan incelemelerdeki rezin replikalar ile orijinal dişlerde benzer boşluklar görülürken, enine kesitteki incelemelerde rezin replikalarda daha az boşluk olduğu bulunmuştur (25). Çalışmalardaki çelişkili sonuçlar ve geleneksel taramalı elektron mikroskopunda karşılaşılan sıkıntılar nedeniyle replikasyon tekniği haricinde, farklı yaklaşımlarda çalışan taramalı elektron mikroskoplarının kullanımları gündeme gelmiştir (208). Düşük vakum ve çevresel taramalı elektron mikroskobu, örneklerin kurutulması ve kaplanması aşamalarını gerektirmedikleri için, yukarıda anlattığımız yüksek vakum mikroskoplarının dezavantajlarına sahip olmayabilirler. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada MTA'nın kenar uyumu, örnekler düşük vakum taramalı elektron mikroskopunda ıslak, düşük vakum taramalı elektron mikroskopunda kuru ve yüksek vakum taramalı elektron mikroskopunda kuru ve kaplanmış halde olacak şekilde incelenmiştir (28). Çalışmalarında boşlukların kuru ortamda daha büyük olduğu gösterilerek, dentin dehidratasyonunun klasik kenar uyumu çalışmalarındaki etkisi ortaya konmuştur.

Taramalı elektron mikroskobu yüzey detaylarını oldukça iyi şekilde sağlayarak, görüntüler üzerinde çizgisel ve alansal ölçümler yapılmasına olanak tanır, ancak taramalı elektron mikroskobu ile üç boyutlu inceleme yapılamaz. Bu yüzden, yakın zamandaki bir çalışmada mikro-bilgisayarlı tomografi ve taramalı elektron mikroskobu kullanılarak kenar uyumu değerlendirilmiştir ve iki yöntemle de benzer istatistiksel sonuçlar elde edilmiştir (200). Başka bir çalışmada ise görüntüler üzerinde farklı renkler ile farklı derinlik seviyelerinin temsil edildiği bir program olan üç boyutlu profilometre ile analiz yapılmıştır (30). Ancak üç boyutlu

profilometre ile mikro-bilgisayarlı tomografide olduğu gibi dolgu materyalinin kapladığı hacime dair bilgi edinilemez. Üç boyutlu profilometre ile elde edilen görüntülerin, taramalı elektron mikroskobu ile elde edilenlerden farkı dentin duvarları ile materyalin yüzeyi arasındaki seviye farkına dair bilgi vermesidir. Ayrıca kenar uyumu analizinde üç boyutlu profilometrenin, taramalı elektron mikroskobu ile benzer sonuçlar verdiği gösterilmiştir (30).

Literatürde kenar uyumu incelemesi yapan çalışmaların analizlerini kalitatif veya kantitatif olarak gerçekleştirdikleri görülmektedir. Kalitatif çalışmalarda, elde edilen görüntülerde herhangi bir ölçüm yapılmadan yorumlamalar yapılmıştır (171,183). Diğerlerinde ise boşlukların dağılımına veya boşluk miktarına ya da büyüklüğüne dair matematiksel ölçümlere dayalı skalalar oluşturularak skorlama yapılmıştır (59,179). Peters ve Peters (180) marjin tiplerini devamlılık gösteren, seviye olarak yüksekte, seviye olarak alçakta ve devamlılık göstermeyen olarak sınıflamış ve boşluk yüzdelerini Airoidi ve diğerlerinin (209) formülüne göre hesaplamıştır. Başka bir çalışmada da aynı sınıflama, bir önceki çalışmadan farklı olarak uzunlamasına kesit alınmış örneklerde uygulanmıştır (131). Kenar uyumu analizi yapan çalışmaların bir kısmı görüntü analiz programları kullanarak bilgisayar ortamında boşlukların uzunluğunu, genişliğini ve alanını hesaplamıştır (29,30,59,143,200). Bu çalışmaların her birinde boşlukların farklı yönlerden ölçülmüş olması nedeniyle direkt olarak sonuçları birbirleriyle karşılaştırmak zor olmaktadır. Öte yandan boşluk alanlarının tüm kavite alanına oranı, yüzdeye dayalı bir ölçüm vereceğinden daha doğru ve daha karşılaştırılabilir sonuçlar oluşturabilir.

2.4. Endodontik Cerrahi Alanında Sitotoksiste

Biyouyumluluk, bir materyalin spesifik bir uygulamada, uygun konak yanıtı çerçevesinde, fonksiyonlarını gösterebilme kabiliyetidir. Burada, uygun konak yanıtı ile ifade edilmek istenen, biyouyumlu kabul edilen materyalin inert olmak zorunda olmasından ziyade, klinik olarak kabul edilebilir limitlerde reaksiyon oluşturmasıdır. Çünkü canlı dokuya bir materyal yerleştirildiğinde, o çevrede kompleks biyolojik etkileşimler oluşur ve sonucunda bir tür biyolojik yanıt ortaya çıkar. İntert olma durumu bu tür etkileşimlerin hiçbirinin olmamasıdır. Günümüzdeki genel kanı, vücut içerisindeki hiçbir materyalin gerçek anlamıyla inert kalamayacağıdır. Dolayısıyla

biyoyumluluk durağan ya da hareketsiz bir süreci değil, dinamik ve süreklilik gösteren bir süreci ifade etmektedir. Bunun sebebi biyoyumluluğun sadece materyalin, konağı etkilemesinden ibaret olmayışdır. Benzer şekilde konak da materyali etkileyebilir ve yaşlanma, hastalık veya dış etkenler gibi durumlar biyolojik ortamı değiştirebileceği için biyoyumluluk süreklilik gösteren bir kavram olarak kabul edilir (210). Biyolojik ortama yerleştirilen bir materyal, konak dokuda lokal olarak irritasyon/toksisite, sistemik olarak akut, subkronik ve kronik toksisite, alerjenik, mutajenik ve karsinojenik yanıtlara kadar çok geniş aralıkta biyolojik reaksiyonlar başlatabilir. Her bir biyolojik reaksiyon için çok sayıda farklı *in vitro* ve *in vivo* testler literatürde tanımlanmıştır. Bu testlerin amacı materyalin ilgili alandaki kullanımında, herhangi bir potansiyel toksisite riski taşıyıp taşımadığını belirlemektir. Bu sebeple materyalin uygulandığı alana göre uygun testin seçilmesi, anlamlı sonuçların elde edilmesi ve gereksiz harcamalardan kaçınılması için önemlidir. Günümüzde bu testler uluslararası standartlar tarafından belirlenmiş olup, dental materyaller için uygun biyoyumluluk testleri ISO 7405 (211) ve ISO 10993 (212) standartları ile detaylandırılmıştır.

Biyolojik testler genel olarak üç grupta sınıflandırılır:

1. Başlangıç testleri
2. İkincil testler
3. Kullanım testleri

Başlangıç Testleri

Başlangıç testleri genel olarak materyallerin toksik profillerini ortaya koymak için uygulanır. Yeni tanıtılan dental materyallerin biyoyumluluk testleri için uygun bulunan (212), hücre kültürü hazırlanarak gerçekleştirilen *in vitro* sitotoksisite testleri bu kapsama girmektedir. *In vitro* sitotoksisite testlerinin önde gelen avantajları kontrol altında tutulabilen deney koşulları sağlaması, diğer testlere göre daha ekonomik olması, kısa süre içerisinde sonuç vermesi ve karmaşık etik problemler içermemesidir. Sitotoksisite haricinde *dominant letal test*, *ames testi*, *styles testi* gibi bu kapsamda yer alan testler ile mutajenite, karsinojenite, teratojenite gibi durumlar da test edilebilmektedir (213).

İkincil Testler

İkincil testler, başlangıç testleri ile kullanım testleri arasında geçiş basamağı olarak düşünülebilir. İkincil testler kapsamına giren biyouyumluluk testlerinin başlıcaları subkütan ve kemik dokularına implantasyon testleri, muköz membran irritasyon testleri, duyarlılık testleri ve materyallerin tekrarlayan temaslarının sonuçlarını inceleyen dermal toksisite testleridir (213). Ancak bu testlerde, başlangıç testlerindeki *in vitro* koşullardan farklı olarak fare, köpek, kedi, koyun, domuz ve maymun gibi hayvanlar üzerinde materyallerin etkileri incelenir. Bu şekilde bir organizmanın kullanılması sayesinde materyal ile biyolojik ortam arasındaki karmaşık etkileşimler değerlendirilebilir. Bu sebeple *in vitro* testlere göre çok daha kapsamlı ve gerçeklere yakın biyolojik yanıtlar elde edilebilir. Öte yandan, hayvan testlerinde değişkenleri kontrol altında tutmak oldukça zordur ve çoğu zaman biyolojik yanıtları nicel olarak tanımlayabilmek hayvan testlerinde mümkün olmamaktadır. Hayvan testleri oldukça pahalı ve zaman olarak uzun süreli testlerdir. Etik ilkeler ve hayvan hakları gibi konuların önem kazanması ve kuralların katılığı nedeniyle bu testlerin uygulanması giderek azalmaktadır. Her şeyden önemlisi, hayvanlar üzerinde yapılan testlerde oluşan yanıtların, insanlardaki yanıtları ne kadar temsil edebildiği tartışmalıdır (210).

Kullanım Testleri

Kullanım testleri, daha çok primatlar gibi en üst seviye memeli hayvanlara veya insanlara uygulanan materyallerin klinik testlerini kapsar. İnsanlar üzerinde yapılan bu klinik testlerde, materyal hedeflenen uygulama alanında, araştırma için gönüllü olan bireyler üzerinde test edilir. Bu sebeple, kullanım testleri klinik gerçeklerle ilgili bilgileri en güvenilir şekilde yansıtır. Ancak bu testler diğer biyouyumluluk testlerine göre oldukça pahalı ve zaman alıcı olup, deney koşullarının ve deneklerin kontrolünün oldukça zor olması, sonuçların oldukça zor yorumlanması, tüm sürecin hukuksal ve etik yönden karmaşık olması gibi problemler taşımaktadır (210).

Yeni geliştirilen bir dental materyalin biyouyumluluğu analiz edilirken her üç basamaktaki uygun test yöntemleri uygulanmalıdır. Sırasıyla *in vitro* testlerden *in*

vivo testlere, prelinik testlerden klinik testlere geçiş yapılarak analizler sürdürülmelidir.

Sitotoksisitenin Değerlendirilmesi

Sitotoksisite, temel olarak bir materyalin hücre canlılığını etkileme kapasitesidir ve bu sebeple sitotoksisite testleri materyalin biyoyumluluğuna dair bilgi veren testlerin başında gelmektedir. Sitotoksisite terimi, makromoleküler sentez mekanizmasının bozulmasıyla hüresel, fonksiyonel ve yapısal zarara yol açan bir dizi moleküler olayı tanımlamak için kullanılır (214). Sitotoksisite testleri hücre ölümünü, hücre büyümesinin durmasını ve diğer test bileşenlerinin hücreler üzerindeki etkilerini tayin eder.

Günümüze kadar dental materyallerin sitotoksik etkileri *in vitro* yöntemler ile sıklıkla değerlendirilmiştir. *In vitro* sitotoksisite yöntemleri temel olarak birincil veya sekonder hücre hatları içeren hücre kültürlerini ve bir takım doku ekim tekniklerini kapsamaktadır. *In vitro* sitotoksisite testleri test tüpleri, hücre kültür kapları, flask veya diğer taşıyıcı kaplarda yapılabilmektedir ve sitotoksik etkiler hücre büyüme ölçümleri, membran geçirgenliğindeki değişimler ve metabolik değişimler baz alınarak değerlendirilmektedir. Bu kapsama giren testlerin hepsi, hücre kültür teknikleri ile ilgili geniş bilgi birikimi ve tecrübe ile yeterli donanımda laboratuvar koşullarını gerektirir.

In vitro sitotoksisite testleri kapsamına giren çok sayıda farklı yöntem olmasına karşın bu testler temelde biyolojik sistem, hücre/materyal teması ve biyolojik tanımlama noktası bileşenlerinden oluşur (215). *In vitro* sitotoksisite testlerinde kullanılan biyolojik sistemler organ kültürleri, hücre kültürleri veya hücre organelleri olabilmektedir. Dental materyallerin *in vitro* sitotoksisite testlerinde çoğunlukla hücre kültürleri kullanılmaktadır. Bu testlerde kullanılan hücre tipleri, devamlı hücre hatları ve primer hücreler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Primer hücreler, doku ve organlardan ayrılan hücrelerin kültürünün yapılmasıyla elde edilir. Primer hücre kültürlerinde çoğalan hücreler buradan alınıp, başka kültürlere ekilip çoğaltılabilir. Gingiva, mukoza ve pulpa fibroblastları primer hücrelere örnektir. Böylece elde edilen ilk alt kültürlere sekonder hücre kültürleri denir (216). Hücre kültür koleksiyonlarından elde edilebilen devamlı hücre hatları daha kolay

büyüyebilme, daha iyi karakterize olma ve uygun koşullarda kolayca üretilebilme özelliklerine sahiptir ancak *in vivo* olarak hedeflenen hücredeki gibi spesifik metabolik özelliklere sahip olmadığı için, materyalin klinik olarak kullanım alanındaki etkisini birebir yansıtamazlar. Fare fibroblastları 3T3 ve L929 hücreleri ile insan epitelyal hücreleri (HELA) devamlı hücre hatlarına örnektir. Öte yandan laboratuvar ortamında doku eksplantlarından üretilen primer hücre hatları yavaş büyüme ve kısıtlı yaşam süresi gibi dezavantajlara sahip olsalar da, hedef hücrenin sahip olduğu spesifik metabolik özelliklere sahip olabildikleri için, *in vivo* durumu daha iyi temsil edebilirler (215). Bir materyalin spesifik kullanımındaki etkisi değil de, genel olarak toksisitesi değerlendirilmek istendiğinde devamlı hücre hatlarının kullanımı uygundur ancak spesifik alandaki toksik etkisi incelenmek istendiğinde, o bölgeden köken alan hücre hattının tercih edilmesi daha uygundur (217). Hücre/materyal teması direkt, indirekt veya materyalden salınan bileşenler aracılığıyla olabilmektedir. Direkt temasta, hücreler materyalin yanında ve hatta direkt üzerinde büyümektedirler. İndirekt temasta ise materyaller ve hücreler bir bariyer ile birbirlerinden ayrıdır. Üçüncü temas tipinde ise, materyal öncelikle besiyeri gibi spesifik bir likitte belli bir süre bekletilir ve sonrasında materyalin kendisi kullanılmadan bu solüsyonun hücreler üzerindeki etkisi incelenir. Biyolojik tanımlama noktaları ise hücre hasarı, membranın durumu, hücre aktivitesi, profilerasyon miktarı gibi belirleyicilerin kullanımına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (215). Sitotoksikite testleri hücre canlılığı ve ölümü, hücre membranı, hücre organelleri, protein/ DNA sentezi ve hücre bölünmesi ile ilgili detaylar verebilmektedir (216).

In vitro sitotoksikite değerlendirmelerinde yer alan metotlar şu şekilde sıralanabilir:

1) Direkt hücre kültürü ve ekstrakt testi: Direkt hücre kültürü testinde, materyal hücre kültürü üzerine direkt olarak kısa süre için yerleştirilir. Suda çözünen materyaller, besiyerine direkt eklenebilir ve böylelikle güzel bir hücre-materyal teması sağlanır. Hatta bu şekilde farklı dilüsyonlarda uygulandıklarında dozaj ve etki üzerine bilgi edinilmesi mümkün olmaktadır. Suda çözünemeyen materyaller için ise bu test dört farklı şekilde gerçekleştirilebilir (218):

- a) Materyal, hücelere mümkün olduğunca yakın yerleştirilir.
- b) Materyal, hücelerin direkt olarak üzerine yerleştirilir.
- c) Materyal, kültür kabının tabanına yerleştirilir ve hücre süspansiyonu üzerine ilave edilir.
- d) Hüceler, direkt olarak materyalin üzerine yerleştirilir ve o şekilde kültürü yapılır.

Ekstrakt testinde ise, belli çözücüler aracılığıyla materyalden çözünen bileşenleri içeren sıvının, hüceler ile temas ettirilmesi ile materyalin sitotoksitesini analiz edilir. Bu amaç için kullanılan çözücülerden, materyali yeterli miktarda çözme kapasitesine sahip olması ancak hücre kültürüne etki göstermemesi beklenir (218).

2) Bariyer Test Metodu: Bu analiz metodunda, materyal ile hüceler geçirgen bir bariyer ile birbirlerinden ayrılırlar. Bu metod, test edilen materyalin fiziksel durumuna veya suda çözünüp çözünmemesine bağlı değildir. Materyal katı, yarı katı veya sıvı halde test edilebilir.

a) Agar difüzyon testi

Bu test sitotoksitesite testlerinde uzun zamandan beri kullanılan bir yöntem olup, hücre tabakası üzerindeki agar tabakasına yerleştirilen materyalin bileşenlerinin difüzyon ile agardan geçip, alttaki hücelere ulaşmasını esas almaktadır. Agar difüzyon testinin dezavantajı, materyalin sadece çözünebilir kısmının agar tabakasından geçebilmesidir. Ayrıca materyalin bazı çözünen bileşenlerinin agar tarafından absorbe edilmesi ve bu sebeple hücelere ulaşamaması riski de mevcuttur. Bunların yanında agarın hazırlanması esnasında 40-45°C dereceye ulaşan sıcaklıklar nedeniyle hücelerin termal olarak zarar görmesi mümkün olabilmektedir (213).

b) Dentin Bariyer Testi

Dentin bariyer testinde, materyal ile hücre arasında bariyer olarak insan veya hayvanlardan elde edilen dentin diskleri kullanılır. Bu test ile özellikle bazı klinik olayların daha iyi taklit edildiği düşünülmektedir. Örneğin pulpa kaplaması için kullanılan dental materyallerin sitotoksitesite testinde, bu test yöntemi klinik gerçekleri yansıtma açısından uygundur. Dentin bariyerin bir tarafına yerleştirilen hüceler

klirik olarak pulpa odasını, diğer tarafına yerleştirilen materyal ise klinikte kavite tabanına konulan dolgu materyalini temsil eder (219).

c) Millipore Filtre Difüzyon Testi

Millipore filtre difüzyon testi, başka bir indirekt materyal hücre teması sağlayan ve filtre olarak selüloz asetatın kullanıldığı bir yöntemdir. Bu yöntemde hücreler ile materyal birbirinden moleküler bir filtre ile ayrılır. Hücreler belli por çapına sahip olan filtrenin bir tarafına yerleştirilirken, test edilecek materyal filtrenin diğer tarafına yerleştirilir. Filtre oldukça ince olduğu için hücreler genellikle porların içine doğru büyürler ve bu sayede materyal ile neredeyse direkt temas sağlamış olurlar (220). Bu yöntemde sitotoksisite genel olarak dekolorizasyon alanının veya boyanma yoğunluğunun incelenmesi ile değerlendirilir. Millipore filtre sistemlerinin tanıtılmasıyla agar difüzyon modeline göre daha iyi hücre materyal teması sağlandığı ve agarın bazı bileşenlerle etkileşime geçme dezavantajının önüne geçildiği düşünölmektedir.

d) Hücre Kültür İnsert Sistemleri

Son yıllarda geliştirilmiş olan ve farklı kuyu sayısına sahip hücre kültür plakları ticari olarak mevcut olan insert sistemleri de sitotoksisite analizlerinde bariyer olarak kullanılmaktadır. Bu sistem sayesinde test edilen materyal katı veya sıvı formda insert plak içirisine yerleştirilerek besiyeri içirisinde tutulur ve böylece insert plağın alt kısmında bulunan porlu membran aracılığıyla materyalden çözünen bileşenler hücrelerin olduğu kısma geçebilir. İnsert sistemlerin kolayca ulaşılabilir ve uygulanabilir oluşu, deneylerin standart koşullar altında gerçekteştirilmesine olanak sağlamaktadır. Sitotoksisite gelişimi, ortamdaki kimyasal salınımına kinetik olarak bağımlıdır. Bu açıdan insert sistemleri, materyallerin hücrelerle istenen süre boyunca ilişkisine izin vererek, zaman içirisinde açığa çıkan bileşenler ve materyallerdeki kimyasal reaksiyonlara bağlı kümülatif etkilerin değerlendirilmesini sağlamaktadır (221).

Sitotoksisite değerlendirme yöntemlerinde hedeflenen başlıca biyolojik tanımlama noktaları ise şu şekilde test edilir:

1. Membran Bütünlük Testi

Membran bütünlük testlerinde, bazı ekstraselüler moleküllerin canlı veya ölü hücrede birikme özelliklerine göre belli hücreler tarafından içeriye alınması sonucu membran bütünlüğünün varlığı veya yokluğu üzerine değerlendirme yapılır. Bu ekstraselüler moleküller, yani uygulanan boyalar renkli veya floresans özellikte olabilir. Bu test için kullanılan tripan mavisi, eritrosin veya naftalin siyahı gibi boyalar membran bütünlüğü bozulmuş hücreler tarafından içeri alınırken, diasetil floresan veya nötral kırmızı boyları membran bütünlüğü bozulmamış canlı hücreler tarafından içeri alınır. Boyama yapıldıktan sonra uygulanan boya tipine göre optik mikroskop ile, mikrotitrasyon plaka okuyucuları ile spektrofotometrik olarak veya flow sitometri ya da floresan mikroskobu kullanılarak sitotoksosite ile ilgili değerlendirmeler yapılabilir (214).

2. Metabolik Bozulma Testi

Metabolik bozulma testlerinde, toksik hasar sonucu hücrenin metabolit konsantrasyonundaki veya enzimatik aktivitesindeki bozulma ölçülerek sitotoksosite değerlendirilmesi yapılır. Bu kapsamda, canlı hücrelerin metabolik aktivitelerini değerlendirmek için kullanılan yöntemlerden biri de kolorimetrik testlerdir. Bu kolorimetrik testlerde, mikrotitrasyon plaka okuyucuları ile spektrofotometrik olarak hücrelerle ilgili sayısal bilgilere, rengin yoğunluğu esas alınarak ulaşılmaktadır. Bu testlerin kapsamına giren lizozomal asit fosfataz, sitoplazmik laktat dehidrogenaz, süksinat dehidrogenaz gibi enzimlerin aktivitelerindeki değişimler ile işaretlenmiş öncül moleküller sayesinde metabolik aktivite belirlenir (214). Mitokondriyal aktivite, canlı hücre sayısının tespit edilmesinde oldukça sık kullanılan metabolik aktivite belirleyicilerinden biridir. Mitokondriyal aktivitenin tespit edildiği testlerde membrandan geçebilen renksiz tetrazolium tuzları, hücrelerin olduğu bölmeye eklenir ve metabolik olarak aktif olan mitokondri tarafından renkli ürünlere dönüştürülür. Tetrazolium tuzlarından bu amaç için en sık kullanılmış olanı birinci jenerasyon türevi olan 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)'dir. MTT, mitokondriyal dehidrogenaz enzimleri ile suda çözünmeyen ve bu sebeple sitozolik kristaller şeklinde biriken mavi-mor renkli formazana parçalanır (222). Böylece canlı ve mitokondri fonksiyonu bozulmamış hücreler mavi-mor

renkle boyanırken, ölü ya da mitokondri aktivitesi bozulmuş hücreler boyanmazlar. Hücrelerin bulunduğu bölme MTT'nin ilave edilmesinden sonra, spektrofotometrenin formazanı belirleyebilmesi için hücrenin lizisi ve sitozolik kristallerin kısa sürede çözünmesi gerekir. Bu aşamalardan sonra spektrofotometre ile optik yoğunluk ölçülerek okuma yapılır (222). İkinci jenerasyon tetrazolium tuzlarından olan 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) veya 4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate (WST-1), MTT'den farklı olarak toksik olmayan, suda çözünebilir, membrandan geçebilen ve böylelikle serbestçe difüzyon yapabilen ürünlere parçalanırlar. Böylece hem MTS hem WST-1 kültürdeki hücrelerin canlılığını tehlikeye atmazlar ve arada çözünme gibi başka bir aşama gerektirmedikleri için daha kolay şekilde ve kısa sürede sonuçların elde edilmesini sağlarlar (222).

Biyouyumluk ideal kök ucu dolgu materyalinin karşılaması gereken temel kriterlerin başında geldiği için, günümüze kadar tanıtılan çok sayıdaki kök ucu dolgu materyali sitotoksitesite testleri ile sıklıkla değerlendirilmiştir. Modern endodontik cerrahi öncesi, kök ucu dolgu materyali olarak sıklıkla kullanılan amalgamın biyouyumluluğu ile ilgili endişeler o dönemde oldukça tartışılan bir konu olmuştur. Günümüzdeki endodontik cerrahi konseptinde, amalgamın yeri sadece tarihsel olarak mevcuttur. Bu sebeple kök ucu dolgu materyali olarak amalgamın altın standart kabul edildiği çalışmalardan çok, modern endodontik cerrahi konseptinde yer alan ve çalışmamızda da çeşitli özellikleri değerlendirilen güncel kök ucu dolgu materyallerinin ele alındığı çalışmalara odaklanılmıştır. Tablo 2.2'de bu konseptte yer alan materyallerin sitotoksitesitelerini değerlendiren çalışmalar özetlenmiştir.

Tablo 2.2. Güncel kök ucu dolgu materyallerinin değerlendirildiği sitotoksosite çalışmaları

	Kök ucu dolgu materyalleri	Hücre tipleri	Materyalin hücrelere uygulanma zamanı	Yöntem	Sonuçlar (sırayla en az toksik materyalden en çok olana doğru)
Torabinejad ve diğerleri (223)	MTA, Super EBA, IRM, amalgam	Fare L929 fibroblast hücreleri	Hemen ve 24 saat sonra	Agar difüzyon testi	Hemen: Amalgam, MTA, IRM, Super EBA 24 saat: Amalgam, MTA, Super EBA, IRM
Torabinejad ve diğerleri (223)	MTA, Super EBA, IRM, amalgam	Fare L929 fibroblast hücreleri	Hemen ve 24 saat sonra	Radyokromi um yayılma metodu (4 saat ve 24 saat inkübasyon sonrası)	4 saat inkübasyon: Tüm örnekler hafiften orta dereceye kadar toksik 24 saat inkübasyon (hemen ve 24 saat için): MTA, amalgam, Super EBA, IRM
Osorio ve diğerleri (224)	MTA, Super EBA, amalgam, Gallium GF2, Ketac Silver	Fare L929 fibroblast ve insan gingival fibroblast hücreleri	72 saat boyunca ekstraksiyon için mediumda bekleme	MTT analizi Kristal viyole analizi	MTA, Gallium GF2, Ketac Silver, Super EBA, amalgam
Keiser ve diğerleri (225)	MTA, Super EBA, amalgam	İnsan periodontal ligament fibroblast hücreleri	Hemen ve 24 saat sonra	MTT analizi (düşük ve yüksek konsantrasyonun ekstrakt ile)	Hemen: MTA, Super EBA, Amalgam 24 saat: Amalgam, MTA, Super EBA (düşük kons.); MTA, amalgam, Super EBA (yüksek kons.)
Lin ve diğerleri (226)	MTA, Super EBA, IRM, Fuji II, amalgam	İnsan periodontal ligament fibroblast hücreleri	Sertleştikten sonra 1,3 ve 5 gün süreli inkübasyon periodu ile hücrelere uygulama	MTT analizi (transwell filtre ile) Tripan mavisi ile hücre sayımı	MTA, Fuji II, amalgam, IRM=Super EBA
Ribeiro ve diğerleri (227)	MTA, Portland simanı, beyaz Portland simanı	Fare L5178Y lenfoma hücreleri	–	Tripan mavisi ile hücre sayımı	Üç materyal de sitotoksik bulunmamıştır.
Moazami ve diğerleri (228)	ProRoot MTA(PMTA), Root MTA (RMTA)	Fare L929 fibroblast hücreleri	72 saat sonra	Tripan mavisi ile hücre sayımı (48,72 ve 168 saat sonra)	PMTA=RMTA

Tablo 2.2. (Devam)

Mozayeni ve diğerleri (229)	MTA, IRM, Cold Ceramic (CC)	Fare L929 fibroblast hücreleri	Hemen ve sertleştikten sonra	MTT analizi (1, 24 saat ve 7 gün inkübasyon sonrası)	MTA, CC, IRM
De-Deus ve diğerleri (230)	MTA, BioAggregate	İnsan kemik iliğinden elde edilmiş mezenkim al hücreler	Hazırlandıktan hemen sonra 24,48 ve 72 saat süre ile mediumda bekleme	XTT analizi Nötral kırmızı testi Kristal viyole analizi (ekstrakt aracılığı ile)	MTA=BioAggregate
Badr ve diğerleri (26)	MTA, polimetilmeta krilat (PMMA) kemik simanı, amalgam	İnsan periodontal ligament fibroblast hücreleri	Hemen ve 24 saat sonra	Tripan mavisi ile hücre sayımı	MTA=PMMA kemik simanı, amalgam
Yuan ve diğerleri (231)	MTA, BioAggregate	Fare MC3T3-E1 osteoblast hücreleri	4 saat sonra	MTT analizi (1,2 ve 3 gün inkübasyon sonrası)	MTA=BioAggregate
Ma ve diğerleri (232)	GMTA, ERRM putty, ERRM paste, IRM, Cavit G	İnsan gingival fibroblast hücreleri	2 ve 7 gün sonrası	MTT analizi (ekstrakt aracılığı ile) (1, 3 ve 7 gün inkübasyon sonrası)	GMTA= ERRM putty=ERRM paste, IRM=Cavit G
Mozayeni ve diğerleri (233)	MTA, IRM, CEM	Fare L929 fibroblast hücreleri	Hemen ve 24 saat sonra	MTT analizi (1, 24 saat ve 7 gün inkübasyon sonrası)	MTA, CEM, IRM
Asgary ve diğerleri (234)	ProRoot MTA (PMTA), CEM	İnsan gingival fibroblast hücreleri	Hazırlandıktan 24 saat sonra, iki hafta mediumda bekleme	Taramalı elektron mikroskobu (1,3 ve 7 gün inkübasyon sonrası)	PMTA=CEM
Gupta ve diğerleri (235)	GerioStore, MTA, cam iyonomer siman (CİS)	İnsan periodontal ligament fibroblast hücreleri	-	MTT analizi (ekstrakt aracılığı ile) (24 ve 48 saat inkübasyon sonrası)	24 saat: GerioStore, CİS, MTA 48 saat: GerioStore, MTA, CİS
Lee ve diğerleri (32)	PMTA, Ortho MTA (OMTA), IRM, Fuji II	İnsan MG-63 hücreleri	1,4 ve 7 gün boyunca ekstraksiyon için mediumda bekleme	XTT analizi (ekstrakt aracılığı ile) (inkübasyon periodu=3saat)	1 gün: PMTA=OMTA, Fuji II, IRM 4 gün: PMTA, Fuji II, OMTA, IRM 7 gün: PMTA, Fuji II, OMTA, IRM

Tablo 2.2. (Devam)

Song ve diğerleri (34)	Endocem, PMTA, MTA Angelus, Super EBA	İnsan periodontal ligament fibroblast hücreleri	Endocem: hemen ve sertleştikten sonra Diğerleri : Sertleştikten sonra	WST-1 analizi Tripan mavisi ile hücre sayımı (72 saat sonunda)	Tripan mavisi: Super EBA toksik WST-1: PMTA=Angelus MTA, Endocem(sertleşmiş), Endocem (hemen), Super EBA
Zhou ve diğerleri (18)	Biodentine, beyaz PMTA, CIS	İnsan periodontal ligament fibroblast hücreleri	Hazırlandıktan 2 gün sonra, ekstraksiyon için 24 saat süre mediumda bekleme	Flow sitometri (1,3 ve 7 gün inkübasyon sonrası)	Biodentine = PMTA, CIS
Attik ve diğerleri (236)	Biodentine, PMTA	İnsan MG-63 osteoblast benzeri hücreleri	Hazırlandıktan sonra 3 gün mediumda bekleme	MTT analizi (1,3 ve 5 gün inkübasyon sonrası)	Biodentine = PMTA
Corral Nuñez ve diğerleri (237)	Biodentine, PMTA, Fuji IX	Fare 3T3 embriyo fibroblast hücreleri	24 saat sonra	Alamar mavisi testi (3, 6, 24 ve 72 saat inkübasyon sonrası)	Biodentine = PMTA, Fuji IX
Jang ve diğerleri (238)	MTA, Biodentine, BioAggregate	İnsan periodontal ligament fibroblast hücreleri	Hazırlandıktan 24 saat sonra, ekstraksiyon için 24 saat süre mediumda bekleme	XTT analizi (1,3 ve 7 gün inkübasyon sonrası)	1 gün: BioAggregate= MTA = Biodentine 3 gün: BioAggregate= MTA, Biodentine 7 gün: BioAggregate= MTA = Biodentine
Poggio ve diğerleri (239)	Dycal, CalciCur, Calcimol LC, TheraCal LC, Biodentine, MTA Angelus	Fare MDPC-23 odontoblast hücreleri	Hemen	MTT analizi (transwell filtre ile)	MTA ile Biodentine en az toksisiteyi göstermiştir.
Poggio ve diğerleri (240)	Dycal, PMTA, Biodentine, MTA Angelus	Fare MDPC-23 odontoblast hücreleri	Hemen	Alamar mavisi testi (24, 48, 72 saat inkübasyon sonrası) MTT analizi (72 saat inkübasyon sonrası) (transwell filtre ile)	Alamar mavisi testi: Biodentine, MTA Angelus=PMTA, Dycal MTT analizi: MTA Angelus, Biodentine, PMTA, Dycal

Tablo 2.2. (Devam)

Naghavi ve diğeri (241)	PMTA, CEM	Fare L929 fibroblast hücreleri	Hemen (0-1,000 µg/mL konstrasyon)	MTT analizi	En yüksek konsantrasyonda CEM daha az toksik iken diğeri tüm konsantrasyonlarda aralarında fark yoktur.
Khedmat ve diğeri (242)	Biodentine, CEM, Tech Biosealer, PMTA	İnsan monosit hücreleri	24 saat, 7 gün ve 28 gün sonra	MTT analizi (24 ve 48 saat inkübasyon sonrası)	24 saat inkübasyon: Fark yoktur. 48 saat inkübasyon: PMTA=Biodentine, Tech Biosealer=CEM

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu *in vitro* çalışma GO 13/106 nolu, 13.02.2013 tarihli ve GO 13/545 nolu, 20.11.2013 tarihli Tıbbi Araştırmalar Yerel Etik Kurulu raporları ile Tıbbi Etik açıdan uygun bulunmuş (Ek-1) ve Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından 013D05201001 ve 013D11201002 numaralı projeler ile desteklenmiştir. Çalışmamızın deney aşamaları Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı ve Orta Doğu Teknik Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda farklı tekniklerle hazırlanan kök ucu kavitelerine yerleştirilen farklı kök ucu dolgu materyallerinin sızdırmazlıkları, kenar uyumları ve hücrelere olan toksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan kök ucu dolgu materyalleri şunlardır (Şekil 3.1);

1. Mineral trioxide aggregate (MTA) (MTA-Angelus, Angelus, Londrina, PR, Brezilya)
2. Calcium enriched mixture cement (CEM) (BioniqueDent, Tahran, İran)
3. Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, Fransa)



Şekil 3.1. Çalışmamızda kullandığımız kök ucu dolgu materyalleri;

A. MTA, B. CEM, C. Biodentine

3.1. Diş Seçimi

Bu çalışmada kullanılmak üzere 72 adet tek köklü üst anterior dişler seçildi. Dişler seçilirken esas alınan kriterler; köklerin benzer uzunluk ve çapta olması, düz olması, apikal gelişimini tamamlamış olması, çürüksüz olması, köklerde kırık veya çatlak olmaması ve kökün herhangi bir yüzeyinde rezorpsiyon olmamasıydı. Dişlerin kriterlere uygun olup olmadığına operasyon mikroskobu altında yapılan inceleme sonrasında karar verildi. Dişlerin üzerindeki dokular nemli gazlı bezle kök yüzeylerine zarar verilmeden temizlendi. Deney aşamasına kadar dişler serum fizyolojik içerisinde bekletildi.

3.2. Dişlerin Hazırlanması

Dişler rastgele olacak şekilde deney grubu (n=60), pozitif kontrol grubu (n=6) ve negatif kontrol grubu (n=6) olmak üzere gruplara ayrıldı. Negatif kontrol grubundaki dişlere hiçbir işlem yapılmadan tüm yüzeylerine iki kat tırnak cilası sürüldü ve tırnak cilası kuruduktan sonra dişler deney aşamasına kadar nemli ortamda bekletildiler. Diğer gruplardaki dişler ise yüksek hızlı elmas separeler ile kök boyları 15 mm olacak şekilde kron kısımlarından kesildi. Sırasıyla 6, 8, 10 ve 15 numaralı paslanmaz çelik K tipi el eğeleri (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) kanal yolunun devamlılığını teyit etmek için kök kanallarına yerleştirildi. Çalışma boyu apikal foramenin 0,5 mm koronalinde olacak şekilde belirlendi. Kök kanallarının genişletilmesi ProTaper nikel titanyum döner alet sistemi (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda belirlenen hız ve tork değerlerinde X-Smart tork kontrollü elektrikli motor (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) ile gerçekleştirildi. Sırasıyla ProTaper sistemine ait SX, S1, S2, F1, F2, F3 ve F4 eğeleri ile çalışma boyuna kadar genişletme yapıldı ve her ege arasında 1 ml olacak şekilde %2,5 konsantrasyondaki sodyum hipoklorit (NaOCl) solüsyonu ile kanallar yıkandı. Kanalların genişletilmesi bittikten sonra sırasıyla her biri 5'er ml olacak şekilde %2,5'lük NaOCl, %15'lik etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) ve %2,5'lük NaOCl ile kanallar yıkandı. Kök kanalları 40 numaralı kağıt koniler (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) ile kanal içerisinde nem kalmayınca kadar kurutuldu. Bu aşamadan sonra pozitif kontrol grubunda yer alan dişlere daha fazla işlem yapılmadı ve deney aşamasına kadar

nemli ortamda bekletildiler. Deney grubunda yer alan dişlerin kök kanal dolgusu için AH plus kök kanal dolgu patı (DeTrey, Dentsply, Almanya) hazırlandı ve F4 gutta perka (Dentsply Maillefer, Ballaigues, İsviçre) ile beraber her bir kanala yerleştirildi. Deney grubundaki tüm örnekler 25 numaralı spreader ile kontrol edildi ve mevcut boşluklar lateral sıkıştırma tekniği uygulanarak yardımcı gutta perka konuları ile dolduruldu. Sonrasında dişler, nemli ortamda 1 hafta süre ile patın tamamen sertleşmesi için bekletildi.

Deney grubundaki tüm örneklerin kök uçları 3 mm kadar, kökün uzun aksına 90 derece açı ile olacak şekilde su soğutması altında aerotöre takılı elmas silindir frez ile kesildi. Sonrasında örnekler, kök ucu preparasyonu tekniği ve kök ucu dolgu materyali göz önünde tutularak rastgele olacak şekilde altı gruba ayrıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deney grubunda yer alan dişlerin sınıflandırılması

	Ultrasonik uç ile kök ucu preparasyonu	Lazer ucu ile kök ucu preparasyonu
MTA	Grup 1 (n=10)	Grup 4 (n=10)
CEM	Grup 2 (n=10)	Grup 5 (n=10)
Biodentine	Grup 3 (n=10)	Grup 6 (n=10)

Yukarıdaki gruplara göre dişlerin kök uçlarında ultrasonik uçlar veya lazer uçları ile 3 mm derinliğinde ve 1 mm çapında standart kaviteler hazırlandı. Dişlerin hazırlık sürecindeki tüm ölçüm aşamalarında, periodontal sond üzerindeki rehber çizgilerden yararlandı. Çalışmamızda piezoelektrik enerji ile çalışan ultrasonik sistem (Satelec, Merignac, Fransa) ile bu sisteme takılan 3 mm uzunluğunda ve 90 derece açılı elmas kaplı ultrasonik uçlar (E32D elmas kaplı ultrasonik uç, NSK, Satelec, Merignac, Fransa) kullanıldı (Şekil 3.2).



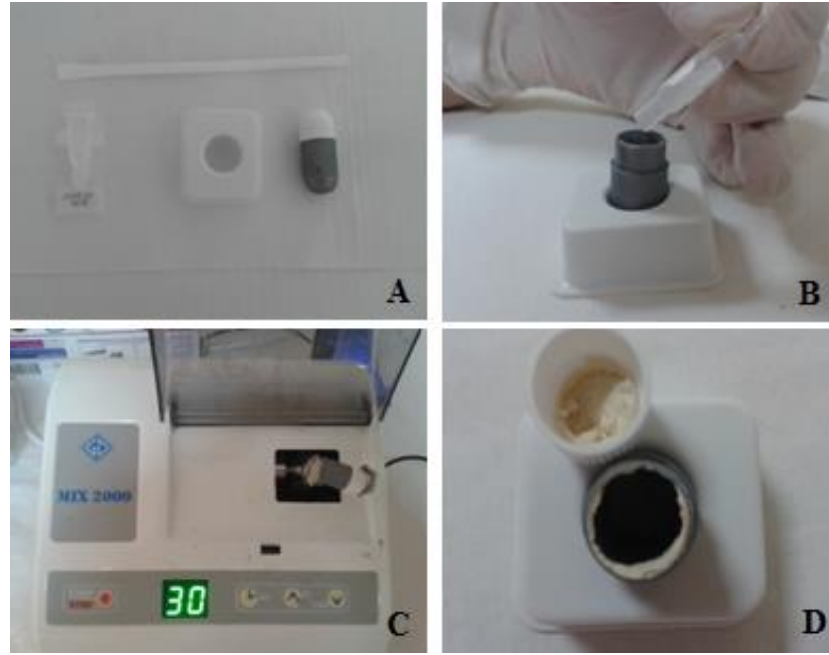
Şekil 3.2. A. Kök ucu kavitesi hazırlanmasında kullanılan ultrasonik uç,
B. Ultrasonik cihazın görünümü.

Kök ucu kavite preparasyonu esnasında ultrasonik sistem orta güçte çalıştırıldı ve devamlı su altında kök ucu kavite preparasyonları tamamlandı. Er:YAG lazer sistemi ile kök ucu kavitesi hazırlanan dişlerde ise lazer cihazına (Fotona AT Fidelis, Ljubljana, Slovenya) takılan 600 µm çaplı lazer uçları ile kontak modda ve devamlı su altında çalışıldı. Lazer sistemi 1,8 watt güç, 180 mJ atım enerjisi, 10 Hz atım tekrarlama oranı ve 2,94 µm dalga boyu parametrelerinde uygulandı (Şekil 3.3). İki sistemde de kök ucu kavite preparasyonu yapılırken her on örnekte bir eski uçlar yenileri ile değiştirildi.



Şekil 3.3. A. Çalışmamızda kullandığımız lazer sisteminin uygulama parametreleri,
B. Lazer ucu ile kontak modda çalışılarak kök ucu kavitesi hazırlanması

Kök ucu kavitelemi hazırlandıktan sonra her bir kavite 1 ml serum fizyolojik ile yıkandı ve ardından kağıt koniler ile kurutuldu. Dişler, kök ucu dolgu materyalleri kavitelere yerleştirilene kadar nemli gazlı beze sarılarak bekletildiler. Kök ucu dolgu materyalleri üretici firmalarının önerileri doğrultusunda hazırlandı. MTA ve CEM uygun oranlarda toz ve likitin karıştırılması ile hazırlanırken, Biodentine kapsül içerisinde yer alan toza beş damla likit damlatılması sonrasında kapsülün amalgamatörde 30 saniye karıştırılması ile hazırlandı (Şekil 3.4).

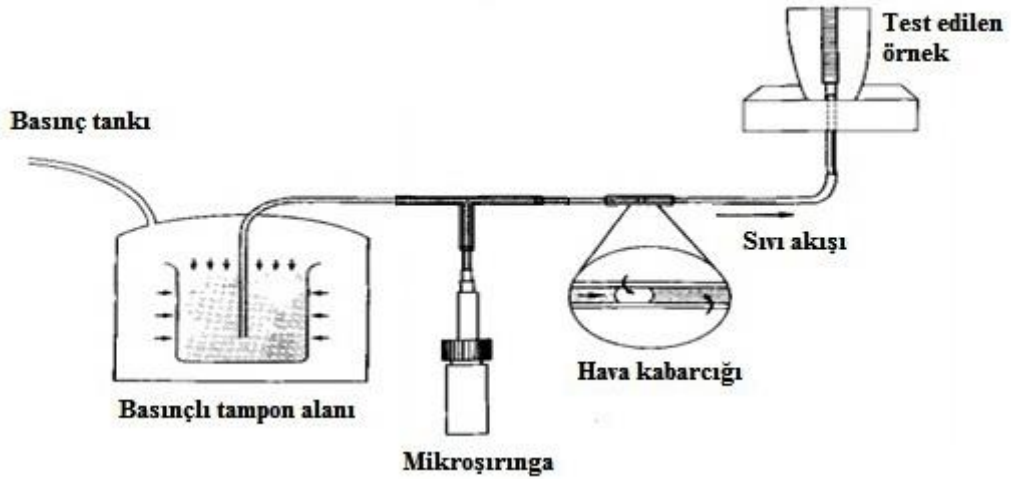


Şekil 3.4. A. Biodentine'in kapsül ve likiti, B. Kapsüle beş damla likit eklenmesi, C. 30 saniye boyunca amalgamatörde karıştırılması, D. Biodentine'in üretici firmanın önerilerine göre hazırlandıktan sonraki görünümü.

Kök ucu dolgu materyalleri kavitelere ince uçlu MTA tabancası ile taşındı ve plugger yardımı ile kavitelere yerleştirildiler. Tüm örnekler 24 saat boyunca nemli ortamda bekletildiler. Mikrosızıntı analizi öncesi, deney gruplarındaki dişlerin dış yüzeyleri (koronal ve apikal yüzeyleri hariç) iki kat tırnak cilası ile kaplandı.

3.3. Mikrosızıntı Analizi

Bu çalışmada Fogel ve diğerleri (162) tarafından modifiye edilmiş sıvı filtrasyon test modeli kullanıldı (Şekil 3.5). Mikrosızıntı miktarı, deiyonize su ile dolu 100 μl 'lik mikropipet içerisindeki küçük hava kabarcığının hareketi esas alınarak sayılabilir şekilde ölçüldü.



Şekil 3.5. Mikrosızıntı analizi için kullanılan modifiye edilmiş sıvı filtrasyon modeli

Sistemdeki bütün pipetler, şırıngalar ve plastik tüpler deiyonize su ile dolduruldu. Mikropipetin plastik tüpe ve plastik tüpün de test edilecek örneğe epoksi rezin esaslı materyal (Pattex; Henkel, Düsseldorf, Almanya) yardımı ile bağlanması sağlandı. Mikrosiringa yardımı ile sistem içerisindeki mikropipette 2 μl hava kabarcığı meydana gelmesi sağlandı. Mikrosiringa yardımı ile hava kabarcığının yeri uygun bir noktada ayarlandı. Basınç tankı ile 121,6 kPa (1240 cmH_2O) basıncında hava uygulanması ile, düzeneğe bağlı örneğin kök kanal sistemi boyunca yer alan boşluklardan sıvı geçmesi sağlandı. Kapiller tüp içerisindeki sıvının hareketi ile yer değiştiren hava kabarcığının zaman içerisindeki hareket miktarı ölçüldü. Hava kabarcığının çizgisel hareketi, $\mu\text{l}/\text{dakika}/\text{cmH}_2\text{O}$ olarak ifade edilecek şekilde hacimsel harekete dönüştürüldü. Tüm örneklerin 24 saat sonundaki sızıntı miktarı bu şekilde ölçüldü. Değerler Excel dosyasına (Microsoft Corporation, Redmond, WA, A.B.D.) kaydedildi ve SPSS programında (SPSS Inc, Chicago, IL, A.B.D.) istatistiksel değerlendirmeler iki yönlü varyans analizi ve Bonferroni testleri ile

gerçekleştirildi. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

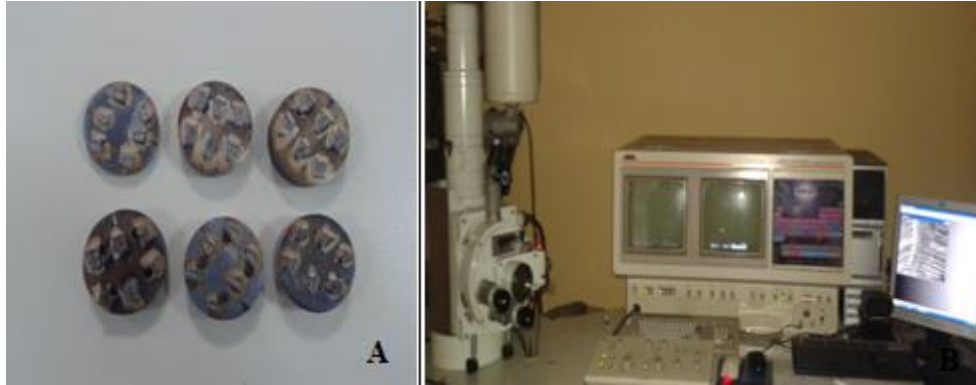
3.4. Kenar Uyumunun Analizi

Kenar uyumunun analizi için mikrosızıntı testinde kullanılan deney grubundaki dişler plastik tüplerden çıkartıldı. Toplamda 36 diş olacak şekilde, altı deney grubundan rastgele altışar diş kenar uyumu analizi için hazırlanmak üzere seçildi. Her bir diş elmas separe ile apikal üçlüyü içerecek şekilde 5 mm'lik bloklar halinde enine kesildi. Bu sayede elde edilen blokların kök ucu dolgu materyalinin tamamını ve kök kanal dolgu materyalinin 2 mm'lik kısmını içermesi sağlandı. Kenar uyumu analizi için taramalı elektron mikroskobu altında incelenecek yüzeylerin hazırlanmasında Rosa ve diğerlerinin (31) uyguladıkları yöntem modifiye edildi. Blokların dış yüzeyinde ve dolgu materyallerinin sonlandığı bölgenin 1 mm kadar uzağında uzunlamasına olacak şekilde elmas separe ile rehber çentikler oluşturuldu. Sonrasında her bir blokta aerotöre takılı elmas silindir frez ile bu rehber çentiklere kadar dentin uzaklaştırıldı. Böylelikle dolgu materyallerinin üzerinin 1 mm kalınlığında ince bir dentin tabakası ile örtülü hale gelmesi sağlandı. Bu aşamadan sonra zımpara ile 1 mm'lik dentin tabakası, dolgu materyallerine zarar verilmeden uzaklaştırıldı (Şekil 3.6). Bu aşamalar operasyon mikroskobu altında yapıldı.



Şekil 3.6. Kenar uyumu analizi için taramalı mikroskop altında incelenmek üzere hazırlanan örneğin görünümü

Taramalı elektron mikroskobu altında yapılan inceleme öncesi, örnekler kurutuldu ve her birinin yüzeyi 10 nanometre kalınlığında altın ile kaplandı. JEOL 6400 (JEOL Corporation, Tokyo, Japonya) taramalı elektron mikroskobu ile 20 kV'de yapılan inceleme esnasında elde edilen mikrograflar 65 kat büyütme altında incelendi (Şekil 3.7).



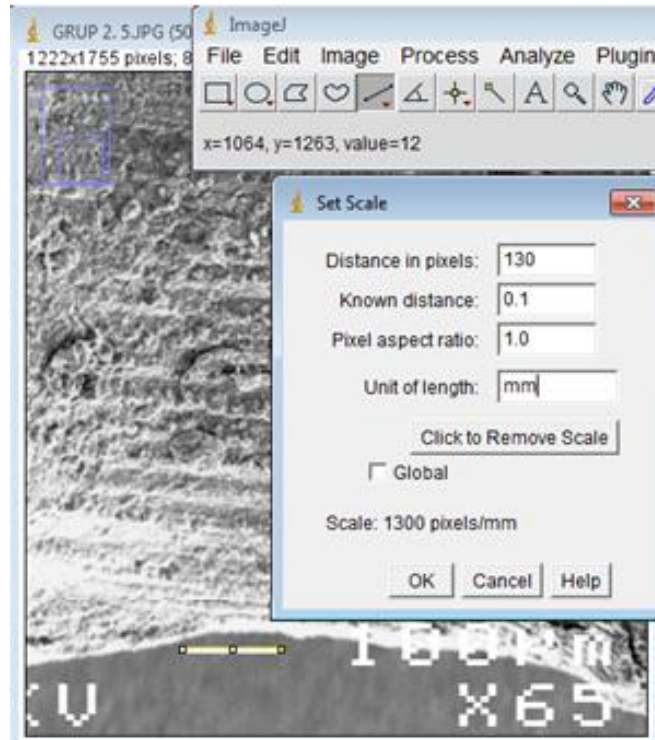
Şekil 3.7. A. Taramalı elektron mikroskobu altında incelenmek üzere altınla kaplanmış örnekler, B. Taramalı elektron mikroskobu.

Görüntülerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen iki araştırmacı tarafından Tablo 3.2'deki dört skorlu skalaya göre değerlendirme yapıldı. Araştırmacılar tarafından farklı skorların verilmesi durumunda ilgili mikrograf üzerinde tartışıldı ve ortak bir değerlendirmede bulunuldu. Skorlar Excel dosyasına kaydedildi ve SPSS programında istatistiksel analizleri Kruskal-Wallis testi, Mann-Whitney U testi ve Siegel & Castellan testi ile yapıldı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

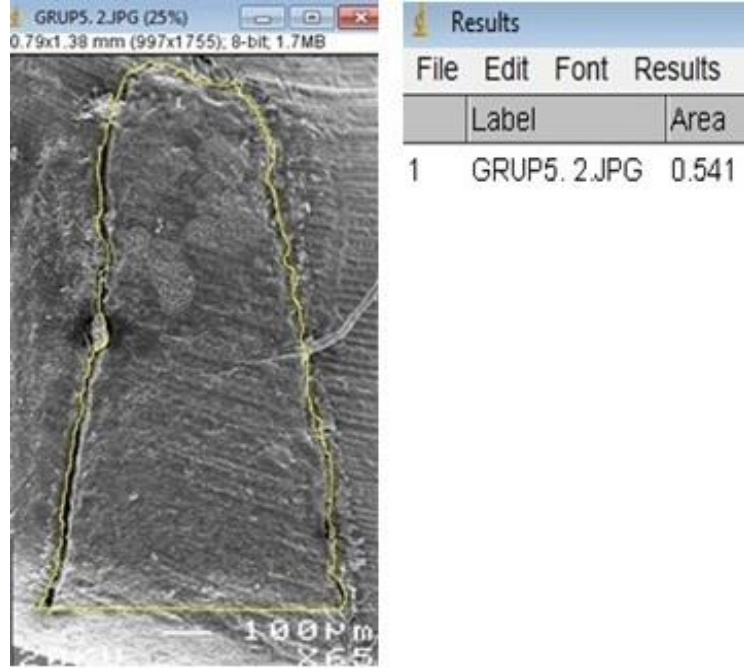
Tablo 3.2. Kenar uyumu değerlendirmesinde uygulanan skala

Skor 1	Kök ucu dolgu materyali ile onu çevreleyen yapılar arasındaki yüzeyin en fazla $\frac{1}{4}$ 'ünde uyumsuzluk olması
Skor 2	Kök ucu dolgu materyali ile onu çevreleyen yapılar arasındaki yüzeyin $\frac{1}{4}$ 'ü ile $\frac{1}{2}$ 'si arasında uyumsuzluk olması
Skor 3	Kök ucu dolgu materyali ile onu çevreleyen yapılar arasındaki yüzeyin $\frac{1}{2}$ 'si ile $\frac{3}{4}$ 'ü arasında uyumsuzluk olması
Skor 4	Kök ucu dolgu materyali ile onu çevreleyen yapılar arasındaki yüzeyin tamamında uyumsuzluk olması

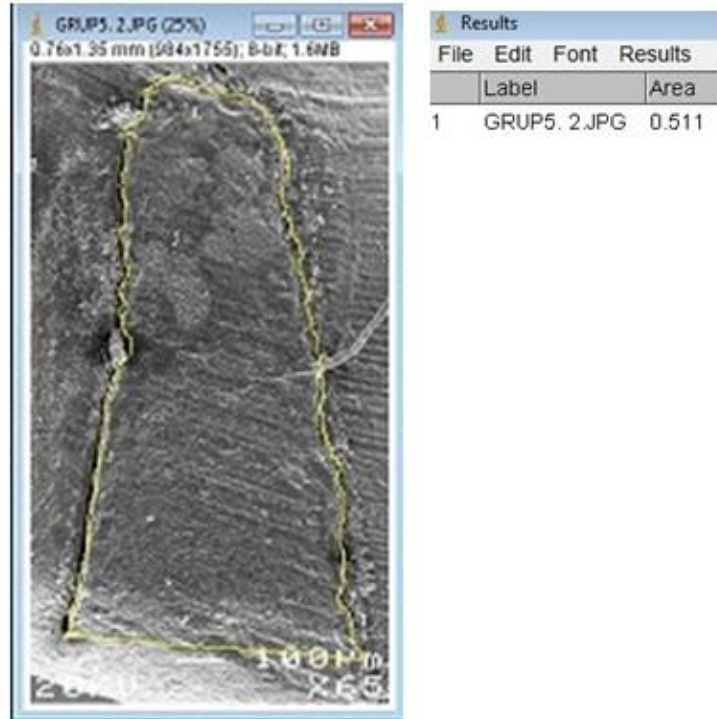
Dijital mikrograflar JPEG formunda başka bir bilgisayara taşındı ve Image J programı (ImageJ 1.47 V, National Institute of Health, A.B.D.) kullanılarak her bir örnek için kök ucu dolgu materyali ile onu çevreleyen yapılar (kök dentini ve gutta-perka) arasındaki boşlukların alanına dair matematiksel hesaplamalar yapıldı. Bunun için Image J programında birim olarak mm seçildi. Image J programında açılan her bir mikrograf üzerindeki rehber çubuklardan kalibrasyon için yararlanıldı (Şekil 3.8). Sonrasında kök ucu kavitesinin ve kök ucu dolgu materyalinin kapladığı alanlar hesaplandı (Şekil 3.9 ve Şekil 3.10). İkisi arasındaki fark, boşlukların alanı olarak kabul edildi. Sonrasında boşlukların alanı ile kök ucu kavitesinin alanı arasındaki oran yüzde olarak her bir örnek için hesaplandı. Değerler Excel dosyasına kaydedildi ve SPSS programında istatistiksel analizleri Kruskal-Wallis testi, Mann-Whitney U testi ve Siegel & Castellan testi ile yapıldı. Image J analizi ve skora ile yapılan analizlerin sonuçları arasındaki korelasyon miktarına Spearman korelasyon katsayısı ile bakıldı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 3.8. Mikrograf üzerinde sol alt tarafta yer alan rehber çubuğun bilinen uzunluğundan yararlanılarak Image J programında kalibrasyon yapıldı.



Şekil 3.9. Mikrograf üzerinde Image J programı ile kök ucu kavitesinin alanı hesaplandı.



Şekil 3.10. Mikrograf üzerinde Image J programı ile kök ucu dolgu materyalinin alanı hesaplandı.

3.5. Sitotoksitenin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada MTA, CEM ve Biodentine materyalleri üretici firmalarının önerileri doğrultusunda hazırlandıktan 24 saat sonra, insan periodontal ligament hücrelerinin yer aldığı 96 kuyulu plaklara yerleştirildi ve 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri sonunda WST-1 analizi ile materyallerin sitotoksik etkileri değerlendirildi. Bu çalışmada besiyeri olarak, içerisine %10 fetal bovine serum, 10000 units/ml penisilin, 10 mg/ml streptomisin ve 200 mM L-glutamin eklenmiş Dulbecco's modification of Eagle's Medium (DMEM, Lonza/ BioWhittaker, Walkersville, MD, A.B.D.) kullanıldı.

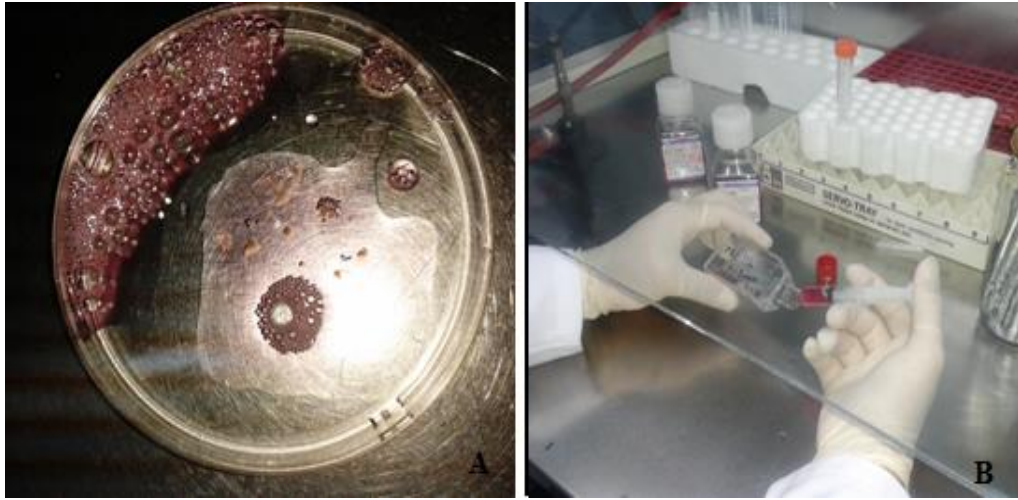
3.5.1. Hücre Kültürü ve Hücre Serisi Eldesi

Gömülü veya yarı gömülü olduğu için çekimi yapılan, çürüksüz üst ve alt üçüncü molar dişler, kron kısmından tutularak besiyeri içeren tüp içerisine yerleştirildi ve 1200 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüjlendi. Santrifüj işlemi sonrasında aseptik koşulları sağlayan laminar akım kabini içinde dişler tüplerden çıkartıldı ve steril aletler ile köklerin orta üçlüsündeki periodontal ligament hücreleri dikkatlice kök yüzeylerinden uzaklaştırıldı (Şekil 3.11).



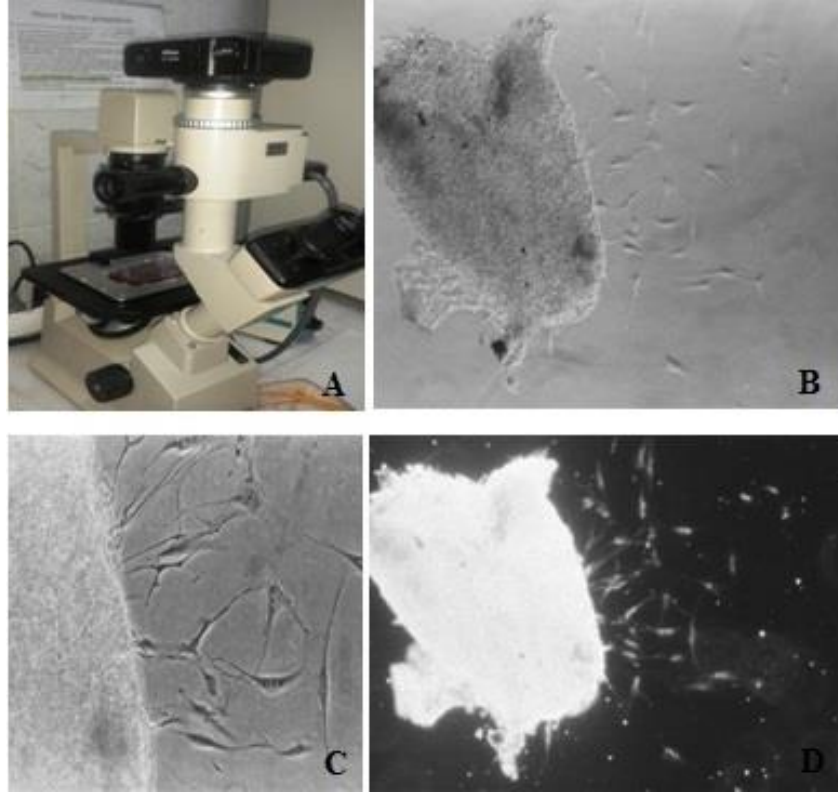
Şekil 3.11. A. Yeni çekilmiş diş periodontal ligament eldesi için kullanıldı. B. Steril aletler ile periodontal ligament diş yüzeyinden uzaklaştırıldı.

Sonrasında doku örnekleri besiyeri içeren steril petri içerisinde, steril aletler ile yaklaşık olarak 1 mm³ ebatında parçalara bölündü ve besiyeri içinde flasklara ekilerek primer kültürleri kuruldu. Flasklar 37°C'de %5 CO₂'li inkübatöre yavaşça yerleştirildi ve iki günde bir besiyeri ile beslendi (Şekil 3.12).



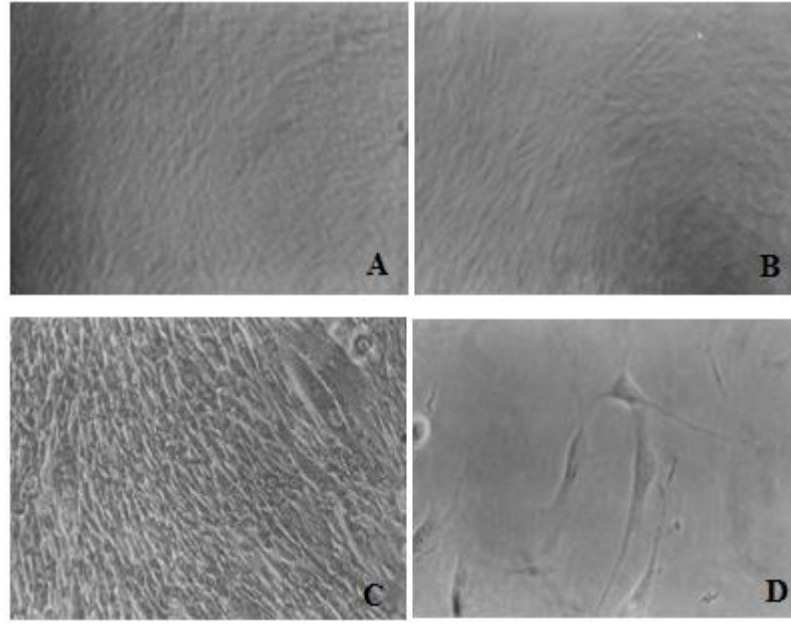
Şekil 3.12. A. Doku örnekleri küçük parçalara bölündü. B. Flasklara ekilerek primer kültürleri kuruldu.

Yedi günün sonunda faz kontrast mikroskobu altında işsi hücrelerin varlığı tespit edildi ve flasklar tekrar inkübatöre yerleştirildi (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. A. Faz kontrast mikroskobu altında flasklar incelendi B. Doku örnekleri çevresinde iğsi hücrelerin varlığı tespit edildi (x40 büyütme). C. İğsi hücreler (x100 büyütme) D. İğsi hücreler (x40 büyütme).

Faz kontrast mikroskobu altında yapılan incelemede sıkışık haldeki iğsi fibroblast hücrelerinin ekildikleri flaskların tabanını kapladıkları görüldüğünde, %0,25 Tripsin-EDTA kullanılarak pasajlama işlemi gerçekleştirildi (Şekil 3.14).

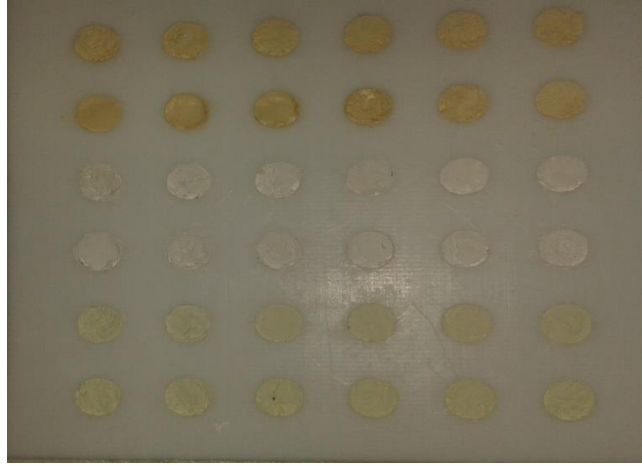


Şekil 3.14. Sıkışık haldeki iğsi insan periodontal ligament fibroblast hücreleri (Faz Kontrast Mikroskobu A, B: x40, C: x100), D. Sitoplazmaları şeffaf, ökromatik çekirdeklerinin içinde belirgin çekirdekçikleri olan iğsi insan periodontal ligament fibroblast hücreleri (x200).

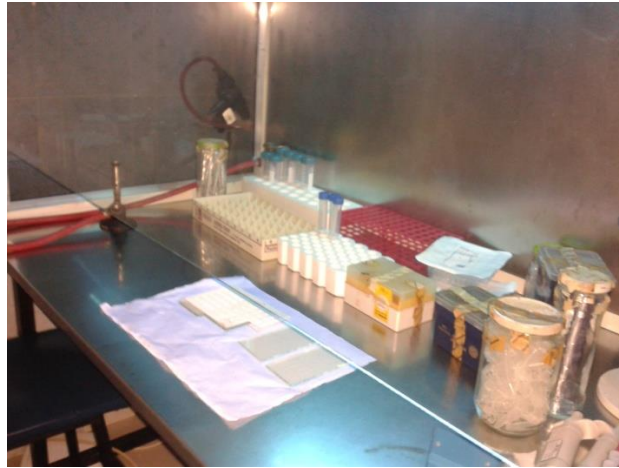
Pasaj sonrası hücrelerin bir kısmı dondurulup saklandı, kalan diğer kısmı ise yeni flaslara 1×10^6 hücre/ 80 cm^2 olacak şekilde ekilerek üremeleri sağlandı. Dördüncü pasaj sonrasında insan periodontal ligament fibroblastları 1×10^4 hücre/kuyu olacak şekilde 96 kuyulu plaklara (Falcon Biosciences, Milano, İtalya) ekildi ve hücrelerin tutunması için plaklar 24 saat süre ile inkübatörde tutuldu.

3.5.2. Kök Ucu Dolgu Materyallerinin Hazırlanması

MTA, CEM ve Biodentine üretici firmalarının önerileri doğrultusunda hazırlandı. Üç materyalin de aynı miktarda olabilmesi için çapı 5 mm, derinliği 2 mm olan politetrafloroetilen polimer kalıplara yerleştirildiler (Şekil 3.15). Kalıplar iki steril cam arasında fazla materyalin taşması için bastırıldı ve taşan materyal uzaklaştırıldıktan sonra kalıplar ultraviyole ışık altında 24 saat boyunca sterilizasyon için bırakıldı (Şekil 3.16).



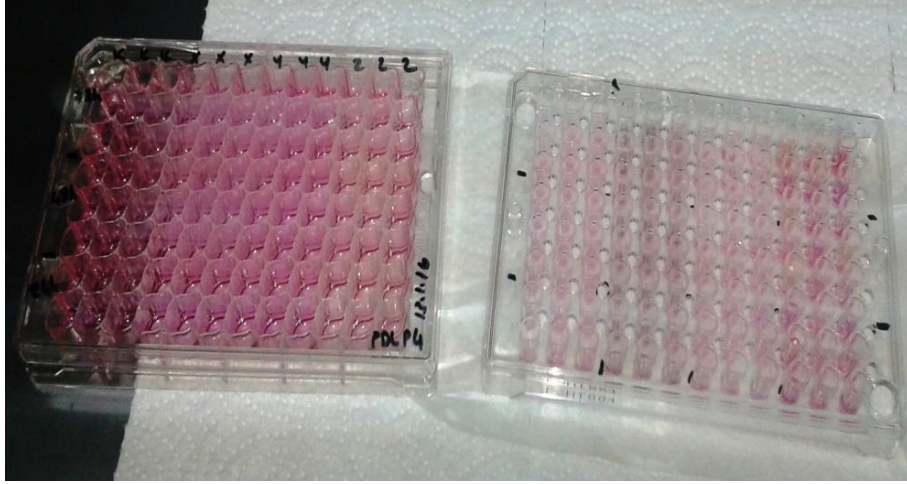
Şekil 3.15. Sitotoksisite analizi için kök ucu dolgu materyalleri hazırlandı.



Şekil 3.16. Sitotoksisite analizi öncesi materyaller sterilizasyon için 24 saat boyunca ultraviyole ışık altında bekletildi.

3.5.3. Sitotoksisite Testi

İnkübatörden çıkartılan insan periodontal ligament fibroblast hücrelerini içeren 96 kuyulu plaklar laminar akım kabine taşındı ve burada 96 kuyulu, 0,4 μm por çapına ve 0,12 cm^2 filtrasyon alanına sahip Millicell hücre kültür insert plakları (Millicell-96 Cell Culture Insert Plate, PSHT004S5, Millipore, Darmstadt, Almanya) insan periodontal ligament fibroblast hücrelerini içeren plakların üzerine oturtuldu (Şekil 3.17).

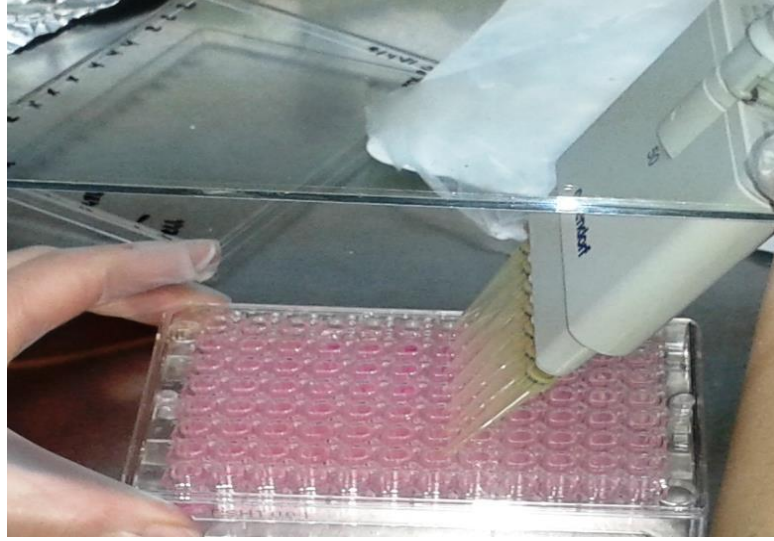


Şekil 3.17. Millicell hücre kültür insert plağının, hücreleri taşıyan plağın üzerine yerleştirilmeden önceki görünümü.

Sonrasında 24 saat önce hazırlanmış olan kök ucu dolgu materyalleri, Millicell hücre kültür insert plakları içerisindeki kuyulara yerleştirildi (Şekil 3.18) ve kuyulara besiyeri eklendikten sonra 24, 48 ve 72 saat süreli inkübasyon periodları boyunca inkübatörde tutuldu (Şekil 3.19).

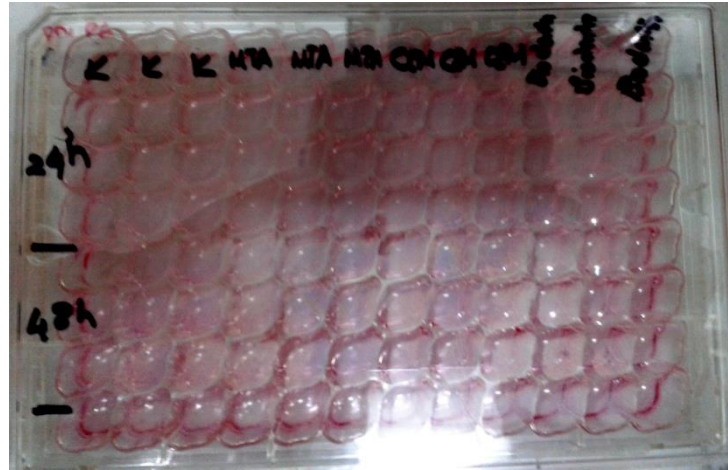


Şekil 3.18. Millicell hücre kültür insert plağı içerisindeki kuyulara materyaller yerleştirildi.



Şekil 3.19. Plaklar içerisindeki kuyulara besiyeri eklendi.

İnkübasyon periodları sonunda, hücre taşıyan plaklar ile üstte yer alan ve materyalleri taşıyan Millicell hücre kültür insert plakları birbirinden ayrıldı (Şekil 3.20) ve hücre taşıyan 96 kuyulu plağın kuyularına 10 μ l WST-1 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) eklendi ve tekrar inkübatöre yerleştirilerek 4 saat boyunca 37 °C'de ve %5 CO₂'li ortamda inkübe edildi.



Şekil 3.20. Materyalleri taşıyan Millicell hücre kültür insert plağı uzaklaştırıldıktan sonra hücreleri taşıyan 96 kuyulu plağın görünümü.

Dört saat sonrasında plaklar mikro-ELISA okuyucu (Versamax microplate reader, Moleculer Devices) içerisine yerleştirildi ve cihazın 440-600 nm dalga boyunda yaptığı okuma sonunda her kuyu için absorbands değerleri elde edildi (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. A. Kuyulara WST-1 eklendikten sonraki görünüm B. Absorbans değerlerinin belirlendiği mikro-ELISA okuyucu.

Plakların mikro-ELISA okuyucusuna yerleştirilmesinden sonra elde edilen değerler Excel dosyasına kaydedildi. Periodontal ligament fibroblast hücrelerinin bulunduğu ancak herhangi bir kök ucu dolgu materyali yerleştirilmemiş olan kuyular, kontrol grubu örnekleri olarak kabul edildi ve her bir zaman dilimi için ayrı olmak üzere, bu alanlardan elde edilen değerlerin ortalaması hesaplanarak ‘kontrol grubundaki örneklerin optikal densitesi’ değerine ulaşıldı. Sonrasında aşağıdaki formüle göre canlılık yüzdeleri hesaplandı.

$$\frac{\text{Test edilen örneklerin optikal densitesi}}{\text{Kontrol grubundaki örneklerin optikal densitesi}} \times 100$$

Sonrasında elde edilen değerler istatistiksel analizleri yapılmak üzere SPSS programına transfer edildi. İstatistiksel analizler tekrarlı ölçümlerde varyans analizi ve Bonferroni testi ile yapıldı ve $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Mikrosızıntı Analizine Ait Bulgular

Bu araştırmadan elde edilen bulgular MTA, CEM ve Biodentine'in ultrasonik ve lazer ile hazırlanmış standart kök ucu kavitelerindeki mikrosızıntı miktarlarına aittir. Negatif kontrol grubunda mikrosızıntı oluşmazken, pozitif kontrol grubunda en yüksek mikrosızıntı miktarı gözlenmiştir (1428 $\mu\text{l}/\text{dakika}/\text{cmH}_2\text{O}$). Deney grubuna ait istatistiksel veriler Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

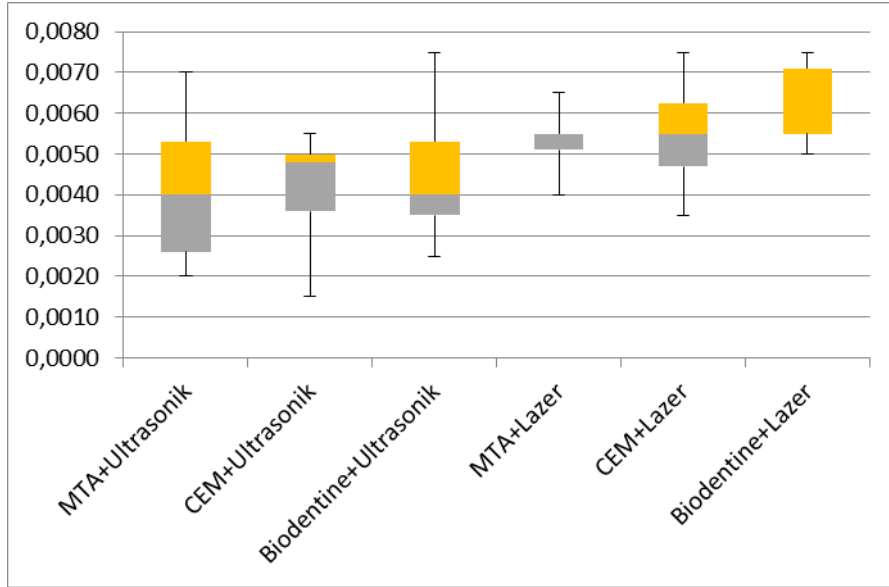
Tablo 4.1. Deney gruplarının sızıntı miktarlarına dair tanımlayıcı istatistiksel veriler

Gruplar	n	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Min.	Maks.
MTA+Ultrasonik	10	0,0041	0,0016	0,0040	0,0020	0,0070
CEM+Ultrasonik	10	0,0042	0,0013	0,0048	0,0015	0,0055
Biodentine+Ultrasonik	10	0,0045	0,0015	0,0040	0,0025	0,0075
MTA+Lazer	10	0,0054	0,0007	0,0055	0,0040	0,0065
CEM+Lazer	10	0,0055	0,0012	0,0055	0,0035	0,0075
Biodentine+Lazer	10	0,0060	0,0010	0,0055	0,0050	0,0075

Mikrosızıntı verilerinin istatistiksel analizleri için iki yönlü varyans analizi ile Bonferroni Testi kullanıldı ve $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlara göre;

- Dolgu materyalleri göz önünde tutulmaksızın değerlendirilme yapıldığında, ultrasonik uç ve lazer ucu ile açılan kök ucu kavitelerinde mikrosızıntı açısından anlamlı farklılık bulundu ($p < 0,001$). Lazer ile açılan gruplarda mikrosızıntı miktarı, ultrasonik ile açılan gruplardan anlamlı olarak daha fazladır.
- Ultrasonik uç ve lazer ucu ile açılan kök ucu kavite preparasyonları göz önünde tutulmaksızın değerlendirilme yapıldığında, dolgu materyalleri arasında mikrosızıntı açısından anlamlı farklılık bulunmadı ($p = 0,361$).

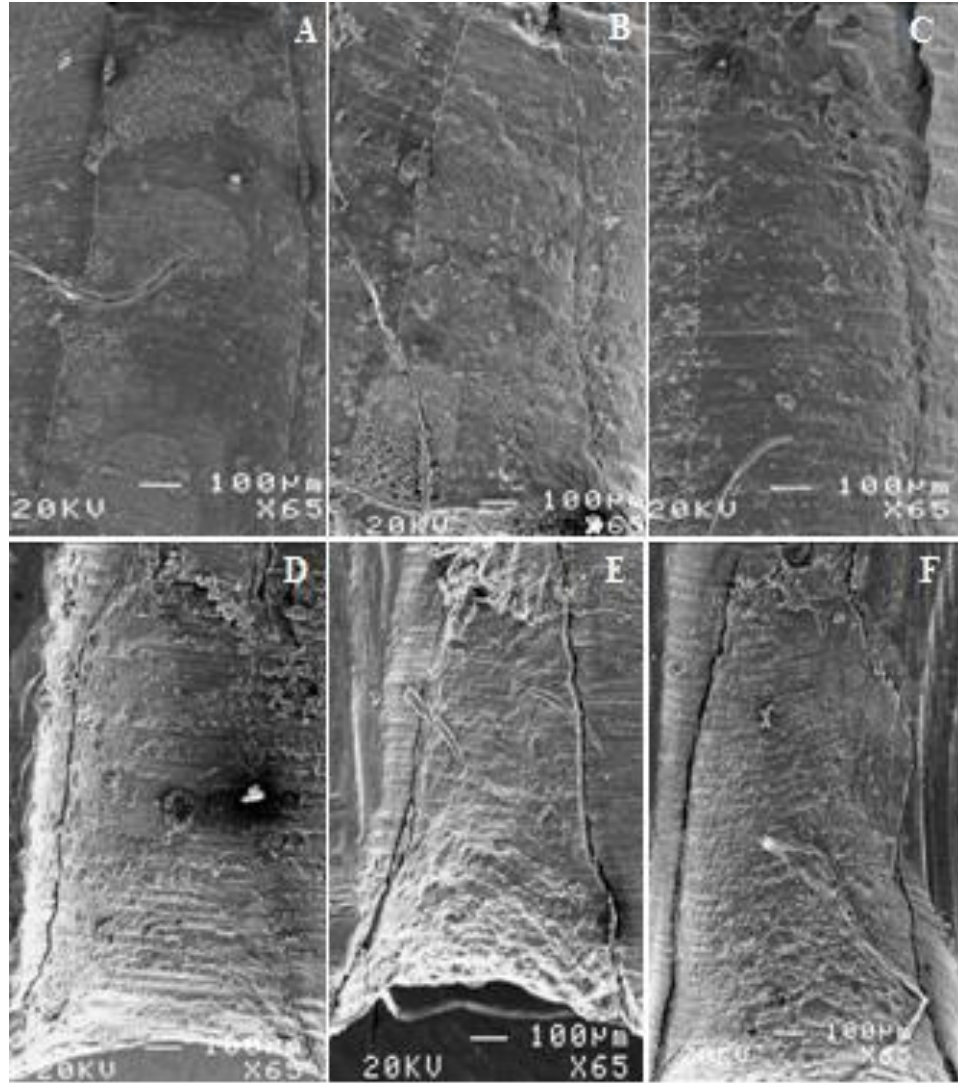
- Ultrasonik uç ile açılan kök ucu kavitelere yerleştirilen MTA, CEM ve Biodentine materyalleri arasında mikrosızıntı açısından anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,715$).
- Lazer ucu ile açılan kök ucu kavitelere yerleştirilen MTA, CEM ve Biodentine materyalleri arasında mikrosızıntı açısından anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,482$).
- MTA, ultrasonik uç ile açılan ve lazer ucu ile açılan kök ucu kaviterinde mikrosızıntı açısından farklılık gösterdi ($p=0,028$). Lazer ucu ile hazırlanan kaviterlerde MTA'nın, ultrasonik uç ile hazırlanan kaviterdekine göre, anlamlı olarak daha fazla mikrosızıntı oluşturduğu bulundu.
- CEM, ultrasonik uç ile açılan ve lazer ucu ile açılan kök ucu kaviterinde mikrosızıntı açısından farklılık gösterdi ($p=0,028$). Lazer ucu ile hazırlanan kaviterlerde CEM'in, ultrasonik uç ile hazırlanan kaviterdekine göre, anlamlı olarak daha fazla mikrosızıntı oluşturduğu bulundu.
- Biodentine, ultrasonik uç ile açılan ve lazer ucu ile açılan kök ucu kaviterinde mikrosızıntı açısından farklılık gösterdi ($p=0,012$). Lazer ucu ile hazırlanan kaviterlerde Biodentine'in, ultrasonik uç ile hazırlanan kaviterdekine göre, anlamlı olarak daha fazla mikrosızıntı oluşturduğu bulundu.



Şekil 4.1. Deney gruplarının mikrosızıntı analizi sonuçlarının karşılaştırıldığı kutu-çizgi grafiği (her kutunun ortasındaki horizontal çizgiler ortanca değerini ifade eder. Kutuların üst ve alt çizgileri sırasıyla 25. ve 75. çeyreklikleri gösterirken, en üst ve en alttaki çizgiler maksimum ve minimum değerleri gösterir).

4.2. Kenar Uyumu Analizine Ait Bulgular

Bu araştırmadan elde edilen bulgular MTA, CEM ve Biodentine'in ultrasonik ve lazer ile hazırlanmış standart kök ucu kaviteledeki kenar uyumlarına aittir. Kenar uyumunun değerlendirilmesi için, taramalı elektron mikroskobu ile örneklerin görüntüleri elde edildi (Şekil 4.2). Sonrasında skorlama yapılarak ve de Image J programı ile elde edilen matematiksel değerlerin yüzde bazında hesaplamaları yapılarak analizler iki farklı şekilde gerçekleştirildi. Tablo 4.2'de deney gruplarına ait örneklerin kenar uyumlarına dair skorlama sonuçları ve Tablo 4.3'te aynı grupların Image J programında analizi sonrası elde edilen değerleri verilmiştir.



Şekil 4.2. Taramalı elektron mikroskobu ile elde edilen örnek görüntüleri. A. MTA+Ultrasonik grubu, B. CEM+Ultrasonik grubu, C. Biodentine+Ultrasonik grubu, D. MTA+Lazer grubu, E. CEM+Lazer grubu, F. Biodentine+Lazer grubu.

Tablo 4.2. Deney gruplarındaki örneklerin kenar uyumlarına dair elde edilen skorlar

MTA+Ultrasonik	CEM+Ultrasonik	Biodentine+Ultrasonik	MTA+Lazer	CEM+Lazer	Biodentine+Lazer
2	2	1	4	4	3
3	3	2	3	3	3
2	3	3	4	3	4
3	1	2	4	4	4
3	3	3	3	4	3
2	3	3	3	4	4

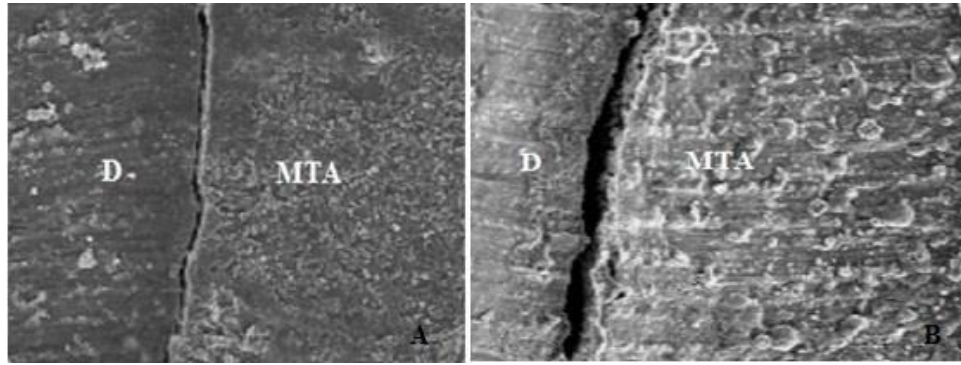
Tablo 4.3. Deney gruplarındaki örneklerin kenar uyumlarına dair Image J programında elde edilen matematiksel değerlerin yüzdesel ifadeleri

MTA+Ultrasonik	CEM+Ultrasonik	Biodentine+Ultrasonik	MTA+Lazer	CEM+Lazer	Biodentine+Lazer
1,75	1,17	0,88	2,12	2,76	2,48
3,05	1,17	1,17	2,76	2,76	4,08
1,61	2,04	2,57	4,05	3,06	2,19
1,98	1,04	0,86	3,6	2,17	1,67
0,65	3	1,58	2,46	1,85	2,73
0,7	2	1,41	1,95	3,97	3,07

Kenar uyumu değerlendirilmesi sonrası elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için Kruskal-Wallis testi ile Siegel & Castellan testi kullanıldı. Materyal farklılığı göz önünde tutulmaksızın, sadece ultrasonik ve lazer uçları ile kök ucu kavitesi hazırlanmasında, kenar uyumu sonuçları açısından istatistiksel olarak farklılık olup olmadığı ise Mann-Whitney U testi kullanılarak test edildi. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlara göre;

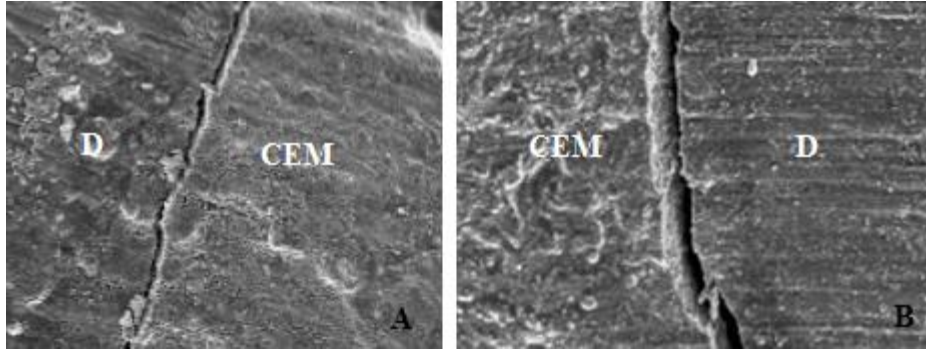
- Dolgu materyalleri göz önünde tutulmaksızın değerlendirilme yapıldığında, ultrasonik uç ve lazer ucu ile açılan kök ucu kavitelerinde kenar uyumu açısından her iki analiz tipinde de anlamlı farklılık bulundu (skorlama ile yapılan analiz için $p < 0,001$, Image J ile yapılan analiz için $p < 0,001$). Lazer ile açılan gruplarda hem skorlar hem de boşluk yüzdeleri, ultrasonik ile açılan gruplardan daha fazlaydı.
- Ultrasonik uç ve lazer ucu ile açılan kök ucu kavite preparasyonları göz önünde tutulmaksızın değerlendirilme yapıldığında, dolgu materyalleri arasında kenar uyumu açısından her iki analiz tipinde de anlamlı farklılık bulunmadı (skorlama ile yapılan analiz için $p = 0,841$, Image J ile yapılan analiz için $p = 0,843$).
- Ultrasonik uç ile açılan kök ucu kavitelerine yerleştirilen MTA, CEM ve Biodentine materyalleri arasında kenar uyumu açısından her iki analiz tipinde de anlamlı farklılık bulunmadı (skorlama ile yapılan analiz için $p = 0,889$, Image J ile yapılan analiz için $p = 0,687$).

- Lazer ucu ile açılan kök ucu kavitelere yerleştirilen MTA, CEM ve Biodentine materyalleri arasında kenar uyumu açısından her iki analiz tipinde de anlamlı farklılık bulunmadı (skorlama ile yapılan analiz için $p=0,809$, Image J ile yapılan analiz için $p=0,994$).
- MTA, ultrasonik uç ile açılan ve lazer ucu ile açılan kök ucu kavitelere kenar uyumu açısından her iki analiz tipinde de anlamlı farklılık gösterdi (skorlama ile yapılan analizde $p=0,026$, Image J ile yapılan analizde $p=0,041$). MTA lazer ile açılan kavitelere, ultrasonik ile açılan kavitelere göre her iki analiz tipinde de daha başarısız kenar uyumu sergilemiştir (Şekil 4.3).



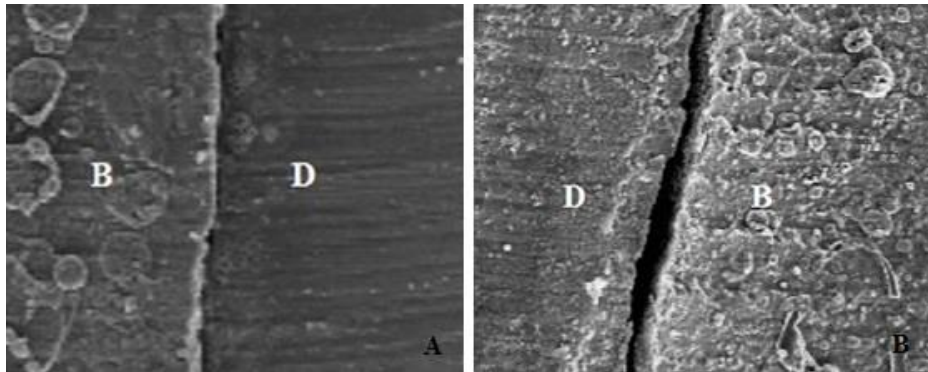
Şekil 4.3. MTA'nın dentin yüzeyine olan kenar uyumunu gösteren mikrograf.
A. Ultrasonik uç ile hazırlanmış kavite, B. Lazer ucu ile hazırlanmış kavite (D: Dentin)

- CEM, ultrasonik uç ile açılan ve lazer ucu ile açılan kök ucu kavitelere kenar uyumu açısından skorlama ile yapılan analizde anlamlı farklılık gösterirken ($p=0,026$), Image J ile yapılan analizde anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,065$). CEM simanı lazer ile açılan kavitelere, ultrasonik ile açılan kavitelere göre hem skorlamada hem de Image J ile yapılan analizde kenar uyumu açısından olumsuz sonuçları ifade eden daha yüksek değerlere sahiptir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. CEM'in dentin yüzeyine olan kenar uyumunu gösteren mikrograf.
A. Ultrasonik uç ile hazırlanmış kavite, B. Lazer ucu ile hazırlanmış kavite
(D: Dentin)

- Biodentine, ultrasonik uç ile açılan ve lazer ucu ile açılan kök ucu kavitelerinde kenar uyumu açısından her iki analiz tipinde de anlamlı farklılık gösterdi (skorlama ile yapılan analizde $p=0,026$, Image J ile yapılan analizde $p=0,015$). Biodentine lazer ile açılan kaviteelerde, ultrasonik ile açılan kavitelere göre her iki analiz tipinde de daha başarısız kenar uyumu sergilemiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Biodentine'in dentin yüzeyine olan kenar uyumunu gösteren mikrograf.
A. Ultrasonik uç ile hazırlanmış kavite, B. Lazer ucu ile hazırlanmış kavite
(D: Dentin, B: Biodentine)

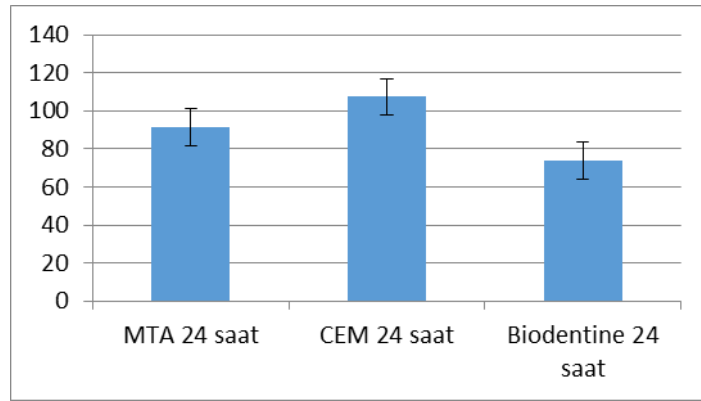
- Image J analizi ve skorlama ile yapılan analizlerin sonuçları arasındaki korelasyon miktarına Spearman korelasyon katsayısı ile bakıldı ve analizler arasında pozitif korelasyon $r=0,596$ ($p<0,001$) bulundu.

4.3. Sitotoksosite Analizine Ait Bulgular

Bu araştırmadan elde edilen bulgular MTA, CEM ve Biodentine'in insan periodontal hücre ligamentleri ile 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon periodları sonundaki sitotoksik etkilerine dairdir.

Sitotoksosite analizine ait verilerin istatistiksel analizleri tekrarlı ölçümlerde varyans analizi ve Bonferroni testi ile yapıldı ve $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlara göre;

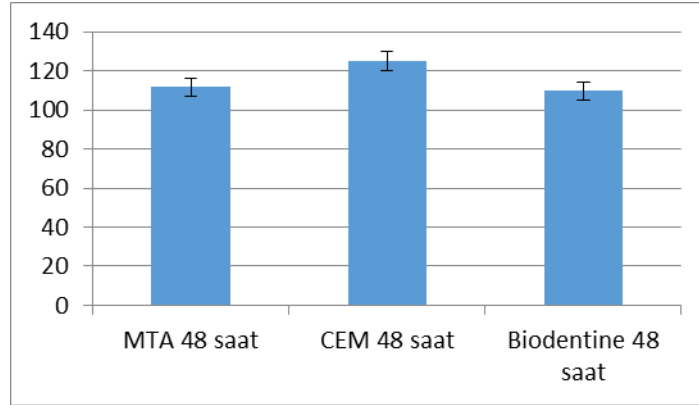
- Materyallerin 24 saatlik sitotoksosite miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p = 0,065$). Ancak Biodentine grubunda %73 hücre canlılığı görülürken, diğ er gruplarda %90'ın üzerinde hücre canlılığı görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Materyallerin 24 saat sonunda hücre canlılığına etkilerini gösteren grafik.

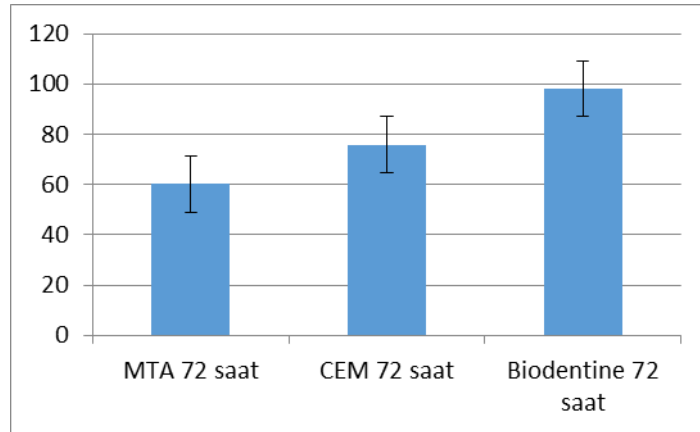
Değerler ortalama±standart hata olarak verildi.

- Materyallerin 48 saatlik sitotoksosite miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p = 0,604$). Tüm materyaller yüksek oranlarda hücre canlılığı göstermiştir (Şekil 4.7).



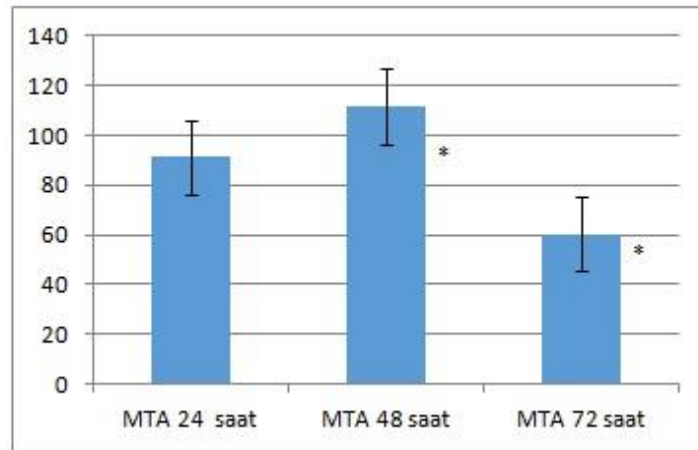
Şekil 4.7. Materyallerin 48 saat sonunda hücre canlılığına etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi.

- Materyallerin 72 saatlik sitotoksosite miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0,08$). MTA grubunda %60 oranında hücre canlılığı görülürken, CEM grubunda %75 oranında hücre canlılığı görülmüştür. Biodentine grubunda ise %100'e yakın hücre canlılığı görülmüştür (Şekil 4.8).



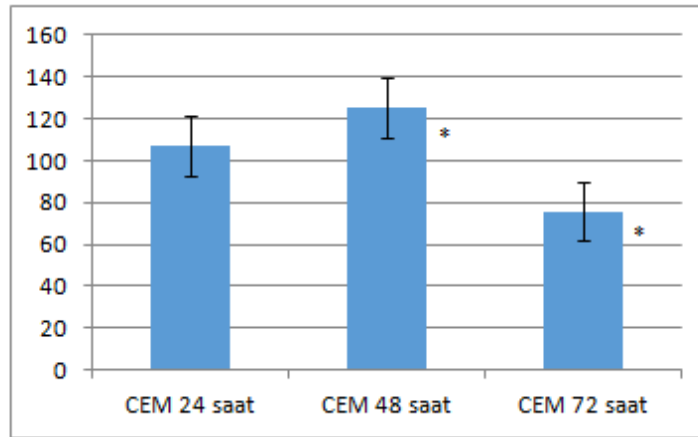
Şekil 4.8. Materyallerin 72 saat sonunda hücre canlılığına etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi

- MTA'nın sitotoksitesi zaman içerisinde anlamlı farklılık göstermiştir ($p=0,027$). 24 ve 48 saatlerde %90 üzerinde canlılık varken, 72 saatte hücre canlılığı %60'a düşmüştür (Şekil 4.9).



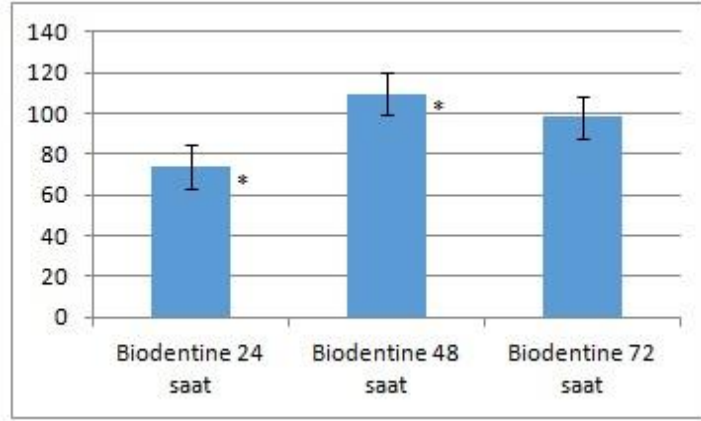
Şekil 4.9. MTA'nın hücre canlılığına zaman içerisindeki etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi (* $p<0,05$).

- CEM'in sitotoksitesi zaman içerisinde anlamlı farklılık göstermiştir ($p=0,039$). 24 ve 48 saatlerde yüksek oranda hücre canlılığı görülürken, 72 saatte %75 oranında hücre canlılığı görülmüştür (Şekil 4.10).



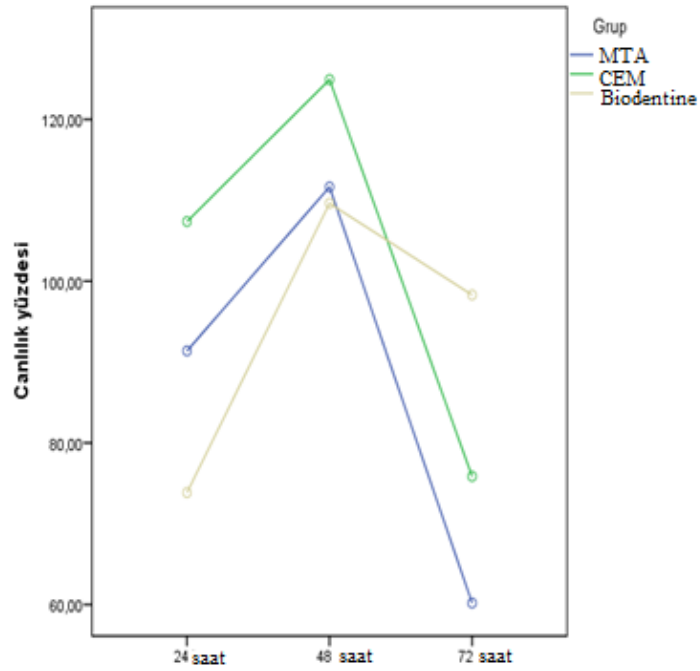
Şekil 4.10. CEM'in hücre canlılığına zaman içerisindeki etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi (* $p<0,05$).

- Biodentine'in sitotoksitesi zaman içerisinde anlamlı farklılık göstermemiştir ($p= 0,002$). 24 saatte %73 hücre canlılığı varken, 48 ve 72 saatlerde yüksek oranda hücre canlılığı görülmüştür (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Biodentine'in hücre canlılığına zaman içerisindeki etkilerini gösteren grafik. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi (* $p < 0,05$).

Canlılık yüzdelerinin zaman içerisindeki değişimleri ve materyallerin birbirlerine göre ilişkileri Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12. Materyallerin hücre canlılığına etkilerinin üç zamana göre karşılaştırmalı değişiminin gösterildiği grafik.

5. TARTIŞMA

Endodontik cerrahi, kök kanal tedavisi yenilemesi sonrası veya belli durumlarda kök kanal tedavisi sonrası iyileşme gerçekleşmediğinde, apikal periodontitisi tedavi etmek amacıyla uygulanan tedavi yöntemlerinden biridir (243). Endodontik cerrahinin başarı yüzdesi 2009 yılında yapılan bir sistematik derlemede 2-4 yıllık takip sonunda %77,8, 4-6 yıllık takip sonunda %71,8 olarak bildirilmiştir (11). Setzer ve diğerleri (244), 2010 yılında yaptıkları sistematik derlemede ise bir önceki çalışmadan farklı olarak endodontik cerrahiyi geleneksel endodontik cerrahi ve modern endodontik cerrahi olarak ayrı ayrı ele alıp, bu tedavi yaklaşımları için sırasıyla %59 ve %94 başarı oranları bildirmiştir. Mikrosızıntının endodontik cerrahinin başarısını etkileyen faktörlerin başında geldiği düşünülmektedir. Bu düşüncenin temeli, mikrosızıntı sonucu kök kanal sisteminde yer alan mikroorganizmaların apikal bölgeye geçerek enfeksiyon tekrarına yol açabilmesine dayanmaktadır. Teorik olarak bir kök ucu dolgu materyali küçük partiküllerin geçişine izin vermiyorsa, klinik şartlarda da mikroorganizma ve ürünlerinin geçişine izin vermeme potansiyeli daha olasıdır. Endodonti literatürü mikrosızıntı analizi için uygulanan boya penetrasyonu, izotop penetrasyonu, bakteri penetrasyonu, tükürük penetrasyon modelleri, elektrokimyasal yöntem, sıvı filtrasyon yöntemi gibi çok sayıda farklı yöntem içermektedir. Bu kadar çok yöntem ve farklı parametre oluşu, çalışmaların sonuçlarının genel olarak ortak bir paydada buluşamamasına neden olmaktadır (245). Bunun yanında *in vitro* mikrosızıntı çalışmalarının klinik gerçeklerle ilişkisi tartışmalı bir konudur. *In vitro* mikrosızıntı çalışmalarından çıkan sonuçların, klinik çalışmaların başarı ve başarısızlık sonuçları ile tutarlılık göstermediği söylenmektedir (246). Bu durumun sebeplerinden biri, ne kadar miktardaki mikrosızıntının klinik olarak başarısızlığa yol açtığına veya açabileceğinin bilinmemesi olabilir. Ancak bu durumun, sadece *in vitro* mikrosızıntı çalışmaları ile kısıtlı olduğu düşünülemez. Doğru klinik yanıtların elde edilmesini hedefleyen kanıta dayalı diş hekimliğinde, en yüksek seviyede kanıtı sağlayan çalışma tipi randomize kontrollü çalışmalar ve bunların sistematik derlemeleri iken, kanıt derecesi baz alındığında bu çalışma tiplerini kohort çalışmaları, vaka-kontrol çalışmaları, vaka serileri gibi diğer klinik çalışma tipleri takip eder ve en düşük seviyedeki kanıtı, tek vakadan oluşan vaka raporları sağlar (247). Kanıta dayalı diş

hekimliğinde *in vitro* çalışmalar, klinik çıkarımlarda bulunmak için yeterli kanıtı sağlayamazlar. Bu sebeple çalışma tipinin doğası gereği, sadece *in vitro* mikrosızıntı çalışmalarının değil, tüm *in vitro* çalışmaların sağladığı klinik kanıtlar oldukça kısıtlıdır. Ancak mikrosızıntı konusu ele alındığında endodonti alanında kullanılan materyallerin sızdırmazlık özelliği hala çok önemli bir parametredir ve bu nedenle yeni tanıtılan materyallerin değerlendirilmesinde önemli bir kriter olarak yer almaktadır. Çalışmamızda tüm tekniklerin avantajları ve dezavantajları değerlendirildikten sonra, güncel kök ucu dolgu materyallerinin, farklı iki teknik ile hazırlanmış kök ucu kaviteledeki mikrosızıntı miktarlarının sıvı filtrasyon yöntemi ile değerlendirilmesine karar verilmiştir. Bunun nedeni bu yöntemin nicel sonuçlar oluşturması, deneyin tekrarlanmasına olanak tanınması, volumetrik boşluklara dair bilgi sağlaması ve az hata payı ile materyaller arası sağlıklı karşılaştırma yapılmasına imkan tanınmasıdır (167). Çalışmamızın bulgularına göre MTA, CEM ve Biodentine materyalleri arasında mikrosızıntı miktarı açısından istatistiksel bir fark görülmezken, lazer ile kök ucu kavitesi hazırlandığında tüm materyaller için ultrasonik ile hazırlanan kök ucu kaviteledeki materyallere göre anlamlı olarak daha çok mikrosızıntı olduğu görülmüştür.

Asgary ve diğerleri (111) CEM simanını endodonti alanına tanıttıkları çalışmalarında, metilen mavisi kullanarak boya penetrasyonu yöntemi ile bu simanın kök ucu dolgu materyali olarak sızdırmazlığını çeşitli MTA markaları ile karşılaştırmışlar ve istatistiksel olarak materyaller arasında bir fark oluşmadığını bildirmişlerdir. Her ne kadar onların sonuçları, bizim çalışmamız ile uyum içerisinde olsa da değerlendirme esnasında bu çalışmanın yöntemi ile ilgili bazı durumlar göz önünde tutulmalıdır. Şöyle ki Wu ve diğerleri (129), metilen mavisi boyasının renginde Ca(OH)_2 ile temas sonucu kaybolma gerçekleştiğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada MTA'nın da metilen mavisi üzerinde benzer etkiyi gösterdiği, bunun sebebinin de MTA'nın kalsiyum oksit içermesi ve su ile karıştırıldığında Ca(OH)_2 oluşturması olduğu düşünülmüştür. Benzer açıdan ele alındığında CEM materyali de çeşitli kalsiyum bileşenleri içermektedir ve su ile karıştırıldıktan sonra metilen mavisi boyasının renginde ne dereceye kadar değişikliğe yol açabileceği bilinmemektedir. Bu sebeple söz konusu materyallerin metilen mavisi boyası kullanılarak test edildiği yöntemlerin, ne kadar güvenilir olduğu değerlendirme

esnasında göz önünde tutulmalıdır. Söz konusu duruma başka bir örnek ise Kazem ve diğerlerinin (138) çalışmasında görülebilir. Çalışmalarında CEM, amalgam ve iki farklı MTA markasını kök ucu dolgu materyali olarak kullanmışlar ve mikrosızıntıyı boya penetrasyonu ve bakteri penetrasyonu yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi, onlar da materyaller arasında mikrosızıntı açısından farklılık olmadığını söylemişler ancak mikrosızıntı analiz yöntemlerinin birbiriyle korelasyon içerisinde olmadığını belirtmişlerdir. Ancak bu durumun sebebi spesifik materyallerin metilen mavisi boyası ile olan etkileşimi olabilmesi gibi, bakteri penetrasyonu yönteminde tek bir bakteri sızıntısının besiyerinde bulanık renge yol açabilmesi de olabilir (148). Adel ve diğerleri (248) sıvı filtrasyon yöntemini kullandıkları çalışmalarında CEM simanının, MTA'ya göre çoğunlukla daha az sızıntıya yol açtığını bulmuşlardır. Ancak bu çalışmada materyaller, bizim çalışmamızdaki gibi hazırlanan kök ucu kavitelere değil, açık apeksli dişlere apikal tıkaç olarak yerleştirilmiştir ve 5 mm kalınlığındaki CEM simanının hiç sızıntıya yol açmadığı söylenmiştir. Bizim çalışmamızda ise materyallerin hepsi 3 mm derinliğindeki kavitelere yerleştirilmiştir. Materyal kalınlığı arttıkça, mikrosızıntı miktarının azaldığı düşünülmektedir (249). Öte yandan endodontik cerrahi açısından düşünülecek olursa, kök ucu kavitesinin derinliğinin artması, kalan kök miktarında zayıflamaya neden olacaktır. Bu yüzden mikrosızıntının önüne mümkün olduğunca geçilmesini sağlayacak en az derinlikteki kök ucu kavitesini oluşturma düşüncesi, konsept olarak 3 mm derinlikte olarak tanımlanmış ideal kök ucu kavitesi kavramının ortaya çıkmasına neden olmuştur (35). Klinik koşullarda ideal kök ucu kavitesi ve rezeksiyon miktarlarını yerine getirmek her zaman mümkün ve gerekli olmasa da, *in vitro* çalışmalarda bu koşulları yerine getirerek deney aşamalarını gerçekleştirmek çalışmalar arasında kıyaslama yapılabilmesi imkanını sağlamaktadır. Bu sebeple çalışmamızda 3 mm miktarında kök ucu rezeksiyonu ile 3 mm derinliğinde olan kök ucu kavite preparasyonu yapılmıştır. Benzer kriterleri yerine getiren diğer çalışmaların sonuçları (111,139,250) ile bizim çalışmamızın sonuçlarının, MTA ve CEM simanının mikrosızıntısı açısından karşılaştırıldığında paralellik gösterdiği görülmektedir. Ayrıca MTA ve CEM'in endodontik cerrahi harici alanlardaki uygulamalarında da benzer mikrosızıntı sonuçları oluşturduğu gösterilmiştir (251-253). Literatür, Biodentine ile ilgili mikrosızıntı çalışmaları açısından ise oldukça

kısıtlıdır. Biodentine, piyasaya ilk olarak koronal restorasyonların altında kullanılmak üzere ‘dentin yerine geçen’ materyal olarak tanıtılmış olduğu için az sayıdaki mikrosızıntı çalışmalarında çoğunlukla restorasyonlar altında taban maddesi olarak kullanılmış ve mikrosızıntı açısından olumlu sonuçlar gösterdiği söylenmiştir (254,255). Çalışmamızda kök ucu dolgu materyali olarak uygulanmış olan Biodentine, test ettiğimiz diğer materyaller ile benzer mikrosızıntı sonuçları göstermiştir. Bunun sebebi materyallerin fiziksel özelliklerinin benzerlik göstermesi olabilir. Bir çalışmada ikisi de kalsiyum silikat esaslı materyaller olan Biodentine ve ProRoot MTA’nın porözite miktarının benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (256). Başka bir çalışmada ise ProRoot MTA ile bizim çalışmamızda kullandığımız MTA Angelus arasında porözite açısından fark bulunmadığı belirtilmiştir (257). Materyallerin poröziteye dair özelliklerinin, mikrosızıntı miktarını etkileyebileceği göz önünde tutulduğunda (175), çalışmamızda çıkan sonuçların mevcut literatür ile uyum içerisinde olduğu düşünülebilir. Ayrıca, başka bir çalışmada Biodentine’in porözitesinin ortam koşullarından etkilendiği gösterilmiştir (258). Bu çalışmaya göre Biodentine nemli ortamda bekletildiğinde daha az poröz bir yapı gösterirken, kuru ortamda bekletildiğinde kök dentini ile materyal arasında çatlaklar oluştuğu ve materyal büzülmesine bağlı olarak oluşan boşlukların mikrosızıntıya yol açtığı gösterilmiştir. Bu açıdan düşünüldüğünde Biodentine, kuru ortam şartlarında yerleştirilen kavite taban maddesi olarak kullanımından ziyade, kök ucu dolgu materyali olarak kullanım gibi nemli ortam sürekliliğinin olduğu durumlarda daha iyi sonuçlar verebilir. Çalışmamızda kök ucu dolgu materyalleri, kök ucu kavitelere yerleştirildikten sonra, hem endodontik cerrahi ortamını bir miktar yansıtabilmek amacıyla hem de MTA ve CEM’in sertleşmek için neme ihtiyaç duyması nedeniyle nemli ortamda bekletilmiştir. Dolayısıyla, Biodentine’i de nemli ortamda bekletmiş olmamız, Biodentine’in mikrosızıntı analizi sonuçlarına katkı sağlamış olabilir.

Çalışmamızda kök ucu kavitesi preparasyon tekniklerinin mikrosızıntı açısından farklılık oluşturduğu bulunmuştur. Sonuçlarımıza göre tüm materyaller için lazer ucu ile hazırlanan kök ucu kavitelere, ultrasonik uç ile açılan kök ucu kavitelere göre daha fazla mikrosızıntı görülmüştür. Benzer şekilde, erbiyum lazerlerden olan Er, Cr: YSGG lazer kullanılarak kök ucu kavitesi hazırlanmış olan başka bir çalışmada da, mikrosızıntı analizi için sıvı filtrasyon yöntemi kullanılmış

ve ultrasonik uç ile yapılan kavite preparasyonuna göre lazerin daha başarısız sonuçlar oluşturduğu gösterilmiştir (259). Ancak bu çalışmada, lazer uygulaması sırasında güç ayarı 3,5 W olarak ayarlanmış olup, düşük enerji ayarında lazer uygulamasının farklı sonuçlar oluşturabileceği yorumu yapılmıştır. Çünkü aynı lazer tipinin, uygulama parametreleri değiştirildiğinde aynı doku üzerinde farklı etkiler oluşturabileceği bilinmektedir. Takeda ve diğerleri (53), Er:YAG lazeri 1 W güç ayarında dentin yüzeyine uyguladıkları çalışmalarında, lazerin smear tabakası ve debrisini uzaklaştırdığını bildirilmişlerdir. Bizim çalışmamızda uyguladığımız gibi Er:YAG lazeri 1,8 W güç ayarında uygulayan başka bir çalışmada da, Er:YAG lazer sonrası smear tabakasının uzaklaşmış olduğu ve açık dentin tübüllerinin yuvarlak alanlar halinde dentin yüzeyinde toplandığı gösterilmiştir (260). Er:YAG lazerin dentin yüzeyinde oluşturduğu düzensiz alanlar ve açık tübüller, bizim çalışmamızda lazer grubunda daha fazla mikrosızıntı oluşmasının nedeni olabilir. Öte yandan Karlovic ve diğerleri (168), kök ucu dolgu materyali olarak MTA, Super EBA ve IRM kullandıkları çalışmalarında Er:YAG lazerin, ultrasonik uç ile preparasyona göre daha az mikrosızıntıya yol açtığını söylemişler ve ilginç şekilde bizimle benzer açıklamaları gerekçe olarak sunmuşlardır. Bu noktada smear tabakasının mikrosızıntıya olan etkisini irdelemek gerekli olmaktadır. Smear tabakasının uzaklaşması sonucu açık hale gelen dentin tübüllerinin, uygulanan materyallerin dentin tübülleri içerisine girmesi sonucu tıkanığında mikrosızıntının azalması gerektiği düşünülebilir. Diğer taraftan, materyallerin dentin tübüllerinin içerisine girebilmesi sadece tübül ağzlarının açık olmasına bağlı bir durum değildir. Bu aşamada tübül çapları ve uygulanan materyalin partikül büyüklüğü de rol oynamaktadır. Uygulanan materyalin partikül büyüklüğü, tübül çapından küçük değil ise, materyalin dentin tübülü içerisine girmesi ve dolayısıyla mikrosızıntıyı azaltması mümkün olamaz. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, MTA'nın dentin tübüllerine hiçbir seviyede penetre olamadığı bildirilmiştir (261). Bunun nedeni olarak, kalsiyum silikat esaslı materyallerin ortalama partikül büyüklüklerinin, dentin tübüllerinin çapından (0,9-2,5 μm) büyük oluşu gösterilmiştir (262). Benzer şekilde başka bir çalışmada, CEM simanının da ortalama partikül büyüklüğünün 2,5 μm 'den büyük olduğu bulunmuştur (263). Dolayısıyla çalışmamızda lazer gruplarının mikrosızıntı açısından başarısız sonuçlar oluşturması, smear tabakasının lazer etkisi sonucu

uzaklaşmış olması ve dentin tübüllerinin açık hale gelmiş olması olabilir. Bu çıkarım, smear tabakasının uzaklaştırılmasının, MTA'nın apikal sızdırmazlığını olumsuz yönde etkilediğini bildiren başka çalışmalar ile de desteklenebilir (155,173).

Çalışmamızın deney aşamalarında, lazer sistemi kullanılarak yapılan kök ucu kavite preparasyonunun, ultrasonik uçlara kıyasla daha zaman alıcı olduğunu tespit ettik. Lazer sistemi için bir dezavantaj sayılabilecek bu duruma, başka çalışmalar tarafından da değinilmiştir (259,264). Bu durumun sebebi, erbiyum lazerin su molekülleri hedefli çalışması ve gutta-perkanın su molekülü içermemesi nedeniyle lazer tarafından uzaklaştırılmasının zor oluşu olabilir. Bu sorunun önüne geçmek için, lazer ile kök ucu kavitesi preparasyonu öncesi gutta perka sıcak aletler ile uzaklaştırılabilir. Literatürde kök ucu preparasyonu ile ilgili çok tartışılan başka bir nokta ise, preparasyon sonrası dentin yüzeyinde görülen mikroçatlak oluşumdur. Bazı çalışmalar ultrasonik uç ile kök ucu kavite preparasyonu yapılmasını, mikroçatlak oluşumu ile ilişkilendirmiştir (40,41). Ancak bu çalışmalarda ultrasonik uç olarak, paslanmaz çelik uçların kullanılmış olduğu dikkat çekmektedir. Öte yandan bizim çalışmamızda kullandığımız elmas kaplı ultrasonik uçların daha hızlı kesim yaparak bu sorunun önüne geçmeleri mümkün olabilir. Bunun yanında ultrasonik sistem yüksek güç ayarında çalıştırıldığında, daha yüksek oranda mikroçatlak oluşumu görüldüğü bildirilmiştir (41). Waplington ve diğerleri (190), mikroçatlak oluşumunun önüne geçmek için ultrasonik sisteminin düşük-orta güç ayarında çalıştırılmasını önermişlerdir. Çalışmamızda, bu bilgiler göz önünde tutularak ultrasonik sistem orta güç ayarında çalıştırılmıştır. Ultrasonik uçlar ile lazer uçları karşılaştırıldığında, mikroçatlak oluşumu sıklığı açısından arada fark olmadığı belirtilmiştir (265,266). Mikroçatlak oluşumunun kök ucu kavite preparasyonu esnasında kullanılan sistemlerden ve uç tiplerinden ziyade, çekim esnasında bir şekilde hasar görmüş dişlerin kullanılması, dişlerin dehidrate olması, klinik koşulların ve ağız ortamının tam olarak taklit edilememesi gibi genel olarak tüm laboratuvar çalışmalarının özünde olan problemlerden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (41). Bu durum Taschieri ve diğerlerinin (267), orta güç ayarında farklı ultrasonik uçlar kullanarak gerçekleştirdikleri klinik çalışmalarında değişkenler arasında fark bulunmaksızın, %91,3 başarı elde ettiklerini göstermeleri ile desteklenmiştir. Çalışmamız laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiş olduğu için,

linik koşullara göre örneklerde daha fazla mikroçatlak oluşmuş olması olasıdır. Öte yandan metodoloji bölümünde belirttiğimiz diş seçimi kriterleri, çalışmamız süresince tüm dişlerin nemli ortamda bekletilmesi ve uygulama esnasında ultrasonik sistemin orta güç ayarında çalıştırılması ile bu problemin önüne geçilmeye çalışılmıştır.

Kök ucu dolgu materyallerinin sızdırmazlığını analiz etmenin başka bir yolu ise kenar uyumunun kalitesini değerlendirmektir (24). Çalışmamızda sızdırmazlık sıvı filtrasyon yöntemi kullanarak mikrosızıntı miktarının analiz edilmesi ile direkt olarak ve taramalı elektron mikroskopu kullanılarak kenar uyumunun değerlendirilmesi ile indirekt olarak incelenmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına göre, genel olarak kenar uyumu analizi ile mikrosızıntı analizi bulguları paralellik göstermektedir. Çalışmamız, kenar uyumu ile mikrosızıntı miktarını karşılaştıran çalışmaların bir kısmı ile bu yönden uyum içerisindedir (24,131). Öte yandan, literatürde iki değerlendirme yöntemi arasında herhangi bir korelasyon bulamadıklarını bildiren çalışmalar da vardır (127,268). İki yöntemin korelasyonuna dair sonuçlar değerlendirilirken, kenar uyumu analizine yöntem olarak ait limitasyonların göz önünde tutulması çok önemlidir. şöyle ki taramalı elektron mikroskopunda incelenen kısımlar, ilgili alanın tümünü temsil etmeyebilir. Bu yüzden, mikroskop ile elde edilen görüntülerde kenar uyumu mükemmel görünürken, ilgili örneğin başka bir tarafında boşluklar mevcut olabilir. Bu sebeple, literatürdeki çalışmalar birbirinden farklılık gösteriyor olabilir. Çalışmamızda mikrosızıntı analizinde olduğu gibi, kenar uyumu analizinde de materyaller arasında fark bulunmazken, lazer grubunda kenar uyumu ultrasonik grubuna göre daha başarısız bulunmuştur. Mikrosızıntının, sıvı filtrasyon analizi yönteminde düzenekteki sıvının test edilen örnekteki boşluklardan geçmesi ile tespit edildiği düşünüldüğünde, daha çok mikrosızıntı görülen gruplarda daha çok boşluk tespit edilmiş olmasının tutarlı bir sonuç olduğunu düşünmekteyiz.

Kenar uyumu analizi için kök ucu bölgesinden alınan kesit genel olarak elmas separe veya frezler ile elde edilmektedir. Bu aşama esnasında oluşan kuvvetler ve titreşimler dolgu materyallerinin orjinal halinin bozulmasına ve yerlerinin değişmesine neden olabilir (187). Çalışmamızda bu durumun üstesinden gelebilmek için kök yüzeylerinde elmas separe ile rehber çentikler oluşturulmuş, böylece frez ile

yapılan uzunlamasına kesim esnasında dolgu materyallerine temas olmadan, üzerlerinde ince bir dentin zarı kalıncaya kadar yaklaşmıştır. Sonrasında zımpara yardımı ile ince dentin tabakası da uzaklaştırılmış ve dolgu materyalleri frez veya elmas separe temasına maruz kalmadan açığa çıkarılmıştır.

Genel bilgiler bölümünde detaylı olarak sunduğumuz literatür taramamız, çalışmalarda kenar uyumu analizi için elde edilen mikrografların kimi zaman üzerinde yorumlama yapılarak niteliksel olarak, kimi zaman ise ölçümler yapılarak niceliksel olarak değerlendirilmiş olduğunu göstermektedir. Gondim ve diğerleri tarafından (29), ölçüme dayalı niceliksel değerlendirmelerin, objektif ve güvenilir sonuçlar sağladığı belirtilmiştir. Niceliksel değerlendirmeler, bir skor skalası baz alınarak veya bir bilgisayar programı yardımı ile matematiksel ölçümler yapılarak gerçekleştirilebilir. Çalışmamızda kenar uyumu analizi hem skor skalası, hem de Image J programı kullanılarak iki ayrı şekilde niceliksel olarak analiz edilmiştir. Skor skalası her ne kadar ölçülebilir ifadelerle dayanarak oluşturulsa da, okuyucunun değerlendirme esnasındaki algısı ve yorumları skorlamada etkili olduğu için yöntem bir miktar subjektif bir hal almaktadır. Image J programında ise istenen bölgenin direkt olarak matematiksel karşılığının elde edilmesi ve bu esnada yorumlama yapılmaması bu yöntemin daha güvenilir olduğunu düşündürmektedir. Öte yandan, çalışmamızdaki istatistiksel analizlere göre iki yöntemin anlamlı olarak birbiriyle pozitif korelasyon içerisinde olduğu bulunmuştur. Çalışmamızdaki gibi bilgisayar programı kullanarak analiz yapan bazı çalışmalar boşluğun uzunluğunu veya genişliğini ölçerken, bazıları boşlukların alanını hesaplamıştır (29,59,200). Çalışmamızda daha doğru ve karşılaştırılabilir sonuçlar vereceğini düşündüğümüz için boşluk alanının, tüm kök ucu kavite preparasyonu alanına olan oranına dair yüzdesel hesaplamalar yapılmıştır.

Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri incelendiğinde, tüm lazer grubu örneklerinde, ultrasonik grubu örneklerine göre materyaller ile dentin duvarları arasında daha başarısız bir uyum olduğu görülmüştür. Bunun sebebi, lazer ucu ile kavite preparasyonu sonrası dentin yüzeyinde meydana gelen özellikler olabilir. Yakın zamanda bir çalışmada, 100 mJ enerjide Er:YAG lazer uygulaması sonrası dentin yüzeyinde geniş ablasyon defektlerinin oluştuğu gösterilmiştir (269). Dentin yüzeyindeki bu farklı görüntünün nedeni, Er:YAG lazerin çalışma prensibi ile

ilgilidir. Er:YAG lazer, inorganik dokular içerisinde mikropatlamalar oluşturarak termomekanik olarak ablyasyon yapar. Er:YAG lazer erime noktasını aşmadan, dentinin inorganik bileşenini parçalayacak iç basınç oluşana kadar, suyu ve diğer su içeren organik yapıları buharlaştırır (270). Er:YAG lazerin, daha az su içeren peritübüler dentinden ziyade daha çok su içeren intertübüler dentini uzaklaştırma eğilimi taşıdığı belirtilmiştir (271). Bu sebeple lazer uygulaması sonrası kraterlerin mevcut olduğu bir dentin yüzeyinin oluştuğu düşünülmektedir (54). Çalışmamızda her ne kadar birbirine eş kök ucu kaviteyi hazırlamaya çalışmış olsak da, iç yüzeydeki bu tarz kraterimsi alanlar nedeniyle lazer grubundaki örneklerde kavite preparasyonunun yüzey alanı artmış olabilir. Pürüzlü yüzeyin materyallerin adaptasyonunu iyileştirmesi beklenirken, aksine derin ve düzensiz krater alanları söz konusu olunca, yüksek viskoziteleri nedeniyle uyguladığımız materyaller bu alanlara yeterince penetre olamamış olabilir. Bu sonuç, MTA'nın erbiyum lazer ile hazırlanan kök ucu kavitelere olan bağlanma dayanımının, ultrasonik uç ile hazırlananlara göre daha zayıf olduğunun bildirildiği çalışma ile de desteklenmektedir (272). Bütün bu noktalar, kenar uyumu analizinde lazer grubunda neden daha büyük boşluklar bulduğumuzu ve mikrosızıntı analizinde neden daha çok mikrosızıntı gördüğümüzü açıklayabilir.

Çalışmamızda MTA, CEM ve Biodentine'in insan periodontal ligament hücreleri ile 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon periodları sonundaki sitotoksik etkileri WST-1 analizi ile test edilmiştir. Laboratuvar ortamında gerçekleştirilen biyouyumluluk çalışmalarında hücre tipi seçimi kritik önem taşımaktadır. Şöyle ki test edilen materyal, deney esnasında kültürü yapılan hücrelere toksik etki gösterirse, o materyalin klinik koşullarda da toksik etki göstereceği düşünülebilir. Bu sebeple çalışmamızda klinik duruma yakın bir ortam hazırlayabilmek için, kök ucu dolgu materyallerinin klinik olarak yerleştirildiği bölge ve yakın temas halinde oldukları hücreler göz önünde tutularak, insan periodontal ligament fibroblast hücrelerini kullanmayı tercih ettik. Çalışmamızda dördüncü pasaj sonrası deneyi gerçekleştirmek için yeterli hücre yoğunluğuna ulaşıldı ve böylece az sayıda pasajlama sürecinden geçmiş oldukları için, hücrelerin karakteristik olarak minimal değişime uğradıkları düşünüldü. Uygun hücre seçimi konusuna benzer şekilde, sitotoksisite analizini gerçekleştirmeden önce uygun test yönteminin seçimi de önemlidir. Bu noktada, test

edilecek materyallerin kimyasal özellikleri dikkate alınarak uygun test yönteminin seçilmesi gereklidir. Test ettiğimiz materyaller hidrofilik özellikte olduğu ve iyonik bileşenler açığa çıkarma potansiyelleri olduğu için, hücre içi enzimatik aktiviteleri etkilemeleri daha olasıdır (225). Bu sebeple, metabolik aktiviteyi tespit eden WST-1 boyasının kullanıldığı analiz tipi çalışmamızda yöntem olarak uygulanmıştır.

Çalışmamızda test ettiğimiz MTA, CEM ve Biodentine hazırlandıktan sonra katı forma ulaşan materyallerdir ve suda çözünürlükleri sınırlıdır. Gerçekleştirdiğimiz sitotoksisite analizinde, materyaller hücreler ile temas haline getirildikten ve analiz aşamaları tamamlandıktan sonra, plakların mikro-ELISA okuyucusuna koyularak kuyulardaki absorbans değerlerinin elde edilmesi gerekiyordu. Materyallerin katı formda olması, cihaz içerisindeki okuma esnasında alttaki hücrelerin görünmesine engel olacağı için, doğru sonuçlar elde edilemeyecekti. Bunun üstesinden gelmek için materyallerin besiyerinde bekletilmesi ile ekstraktları elde edilebilirdi. Ancak materyallerin çözünürlüklerinin sınırlı olması, sertleşme reaksiyonları ve hücrelerle etkileşimleri sonucu zaman içerisinde farklı iyon salınımları yapmaları gibi nedenlerle ekstrakt eldesinin, kliniğe yakın koşulları temsil etmeyeceğini düşündük. Bu sebeple çalışmamızda bariyer kullanımının uygun olacağına karar verdik ve Millicell hücre kültür insert plaklarını kullandık. Bu plaklar sayesinde, incelemek istediğimiz süre zarfında materyaller klinikte olduğu gibi katı form halinde hücrelerle temas halinde tutulabildiler ve okuma esnasında materyalleri taşıyan Millicell hücre kültür insert plağının, hücreleri taşıyan alttaki plaktan ayrılması ile materyaller uzaklaştırılabilir. Böylece hücrelerin olduğu kuyulardaki okuma, mikro-ELISA okuyucusu içerisinde sorunsuzca gerçekleştirilebilir. Klinik ortamda kök ucu dolgu materyalleri, arada herhangi bir bariyer olmadan periapikal dokularla temas halindedir ve bu açıdan düşünüldüğünde, uygulamış olduğumuz bariyer yöntemi avantajlı gibi görünmeyebilir. Ancak Millicell hücre kültür insert plaklarındaki porlar sayesinde, materyallerden zaman içerisinde salınan iyonlar ve bileşenler hücrelerin olduğu kısma geçerken, hücrelerin de porlardan uzanarak materyal ile bir miktar temasa geçmesi söz konusu olabilir. Ayrıca materyalin fiziksel etkisi hücreleri etkileyebileceğinden, laboratuvar koşullarında özellikle katı formda bulunan materyalleri, hücreler ile direkt kontak haline getirmek test sonuçlarını karmaşıktırabilir (220). Bu durum Tang ve diğerlerinin (221), negatif

kontrol olarak inert bir materyal olan cam disklerini kullandıkları çalışmalarında, cam diskleri ile hücreler arasındaki direkt kontak sonucu hücrelerde %40'a varan canlılık kaybı oluşmasıyla gösterilmiştir.

Sitotoksosite analizi sonuçlarımıza göre hücrelerle olan 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon periodları sonunda materyaller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu anlamda sonuçlarımız, literatürdeki çalışmalar ile uyum içerisindedir (18,233,236,237,239,241). Öte yandan canlılık yüzdeleri açısından değerlendirildiğinde, MTA ve CEM'in 24 ve 48 saatlerde yüksek hücre canlılığı gösterdiği ancak 72 saatte anlamlı olarak canlılık yüzdelerinde düşüş olduğu görülmüştür. Biodentine ise diğer iki materyale göre 24 saatte daha düşük hücre canlılığı gösterirken, zaman içerisinde anlamlı olarak canlılık yüzdelerinde artış görülmüş ve 72 saatte %100'e yakın hücre canlılığı sergilemiştir. MTA ve CEM materyallerine ait canlılık yüzdelerinde 72 saat sonunda görmüş olduğumuz düşüşün nedeni, materyaller içerisinde devam eden hidrasyon reaksiyonuna bağlı olarak açığa çıkan kalsiyum hidroksit olabilir (16,273). Yüksek alkalinite ortamı oluşturan ve zaman içerisinde kademeli olarak açığa çıkan hidroksil iyonları hücre canlılığını özellikle laboratuvar ortamında negatif yönde etkileyebilir (233). Ancak bu sonucu yorumlarken, klinik koşullarda mevcut olan doku sıvılarının bu bazik ortamı nötralize edebileceği ve bu sebeple söz konusu materyallerin klinik kullanımda hücre canlılığını laboratuvar koşullarındaki kadar negatif düzeyde etkilemeyebileceği göz önünde tutulmalıdır. Biodentine'in 24 saat sonunda diğer zaman dilimlerine göre daha düşük hücre canlılığı göstermiş olmasının nedeni ise sertleşme reaksiyonuna bağlı erken dönemde meydana gelen yüksek pH olabilir. Benzer durum MTA ve CEM materyalleri için de söz konusu olabilir, çünkü grafikler incelendiğinde 24 saat sonunda, 48 saat sonuna göre bir miktar bu materyaller için de hücre canlılığının düşük olduğu görülmektedir. Biodentine de test ettiğimiz diğer materyallere benzer şekilde hidrasyon reaksiyonu sonucu kalsiyum hidroksit açığa çıkartmaktadır (274). Ancak Biodentine likiti içerisindeki kalsiyum klorit sayesinde, diğer kalsiyum silikat esaslı materyallere göre daha kısa sürede sertleşme reaksiyonunu tamamlar (274). Bu sebeple diğer grupların aksine, Biodentine grubunda açığa çıkan kalsiyum hidroksidin hücre canlılığı üzerine etkisi ilk 24 saat ile sınırlı kalmış olabilir. Ayrıca Biodentine, farklı bir teknoloji (Aktif Biosilikat Teknolojisi) ile üretildiği için, üretici

firma tarafından diğer kalsiyum silikat esaslı materyaller gibi içeriğinde istenmeyen metalik bileşenler olmadığı ve daha saf halde olduğu söylenmektedir (107). Kalsiyum silikat esaslı bir materyal olan MTA için, bu durum başka çalışmalar tarafından da dile getirilmiş ve içeriğinde arsenik, kromiyum ve kurşun gibi toksik ağır metaller bulunduğu bildirilmiştir (275,276). Yakın zamanda yapılan bir çalışma ise, benzer bileşenlere Biodentine’de de rastlandığını göstermiştir (277). Öte yandan, yine aynı çalışma tarafından MTA’nın aksine Biodentine’in trikalsiyum alüminat safhasını içermediği söylenmiş, dolayısıyla üretici firmanın da iddia ettiği gibi Biodentine’in içeriğinde alüminyum bulunmadığı doğrulanmıştır (277). Bunların yanında Biodentine içerik olarak radyoopasite verici bileşen açısından da MTA’dan farklılık göstermektedir. Radyoopasite sağlaması için Biodentine’in içeriğine zirkonyum oksit eklenmişken, MTA’nın içeriğine bizmut oksit eklenmiştir. MTA’nın içeriğindeki bizmut oksit, hücre canlılığını olumsuz yönde etkileyebileceği için literatürde soru işaretlerine sebep olmuştur ve normalde bizmut oksit içermeyen Portland simanına bizmut oksit eklendiğinde sitotoksitede artış olduğu gösterilmiştir (278,279). Biodentine’in içeriğindeki zirkonyum oksidin ise hücreler üzerinde biyoyumluluk açısından olumlu sonuçlar oluşturduğu bildirilmiştir (280). Bütün bunlar, çalışmamızda Biodentine’in genel olarak tüm zaman dilimlerinde yüksek hücre canlılığı göstermesine katkı sağlamış olabilir.

Çalışmamızda tüm materyaller için canlılık yüzdeleri zaman içerisinde dalgalanmalar göstermiş olsa da, genel olarak test ettiğimiz materyaller sitotoksitede anlamında olumlu sonuçlar oluşturmuştur ve istatistiksel açıdan ele alındığında materyaller birbirlerine göre üstünlük göstermemiştir. Bu sonuçları klinik ortama birebir uyarlamak, laboratuvar çalışmasının doğası gereği sahip olduğu limitasyonlar nedeniyle doğru değildir. Çünkü laboratuvar ortamında, periapikal dokularda gerçekleşen savunma veya inflamatuvar reaksiyonlar gibi biyolojik yanıtları bütünüyle yansıtmak mümkün olamamaktadır. Öte yandan yakın zamandaki *in vivo* çalışmalar incelendiğinde, çalışmamızın sonuçlarını destekledikleri görülmektedir ve bu durum sonuçlarımızı daha anlamlı hale getirmektedir. Örneğin, köpeklerde MTA ve CEM’in kök ucu dolgu materyali olarak kullanıldıkları bir *in vivo* çalışmada, materyaller oldukça biyoyumlu bulunmuştur (281). Bunun yanında yine, MTA ve CEM’in insan daimi dişlerinde pulpotomi için kullanıldıkları klinik çalışmalarda,

oldukça başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (282-285). Benzer şekilde yakın zamandaki başka bir klinik çalışmada, ortodontik sebepler ile çekimi planlanan çürüksüz insan daimi molar dişlerinde mekanik olarak pulpa ekspozları oluşturulmuş ve sonrasında dişlere MTA veya Biodentine yerleştirilerek pulpa kaplaması yapılmıştır. 6 hafta sonra dişler çekildiğinde histolojik olarak incelenmiş ve sonuç olarak iki materyalin de pulpa üzerinde dentin köprüsü yapımını stimule etmiş olduğu ve pulpada herhangi bir inflamatuvar yanıtı yol açmadıkları gösterilmiştir (286). Bu çalışmalara göre, test etmiş olduğumuz materyaller biyouyumluluk açısından olumlu bir durum sergilemektedir. Dolayısıyla çalışmamızın sonuçları literatürde kısıtlı sayıda olan *in vivo* çalışmalar ile de uyum içerisinde görünmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Farklı kök ucu kavite preparasyon tekniklerinin, kök ucu dolgu materyallerinin mikrosızıntısı ve kavite duvarlarına olan kenar uyumu üzerine etkisi olduğu görülmüştür. Çalışmamızda lazer sistemi ile hazırlanan kök ucu kavitelere yerleştirilen materyallerde, ultrasonik uç ile hazırlanan kavitelere yerleştirilenlere göre daha fazla mikrosızıntı gerçekleşmiştir. Benzer şekilde taramalı elektron mikroskopunda elde edilen görüntülerde lazer sistemi ile hazırlanan kök ucu kavitelere yerleştirilen materyallerin daha başarısız kenar uyumu sergilediği görülmüştür. Bu sonuçlara göre MTA, CEM veya Biodentine kök ucu dolgu materyali olarak uygulanacağı zaman, kök ucu kavitesinin lazer sisteminden ziyade ultrasonik sistem ile hazırlanmasını önermekteyiz. Çalışmamızda lazer uygulaması esnasında tespit ettiğimiz başka bir nokta ise, gutta perka uzaklaştırmanın zaman alıcı olmasıdır. Bu sebeple klinik uygulamalarda, öncelikle sıcak aletler yardımı ile gutta perka uzaklaştırması yapıp, sonrasında bu sistemler ile kök ucu kavite preparasyonuna geçilebilir.
2. Çalışmamızda mikrosızıntıyı değerlendirdiğimiz sıvı filtrasyon yöntemi ile taramalı elektron mikroskopu ile elde edilen görüntüler üzerinde gerçekleştirmiş olduğumuz kenar uyumu analizinin birbirini destekler nitelikte sonuçlar oluşturduğu görülmüştür. Sonuçlarımız, dolgu materyallerinin kavite duvarlarına olan kenar uyumunun, mikrosızıntı miktarını direkt olarak etkileyen bir faktör olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Bunun yanında, kenar uyumu analizi için uygulamış olduğumuz skor skalasına ve bilgisayar programına dayalı iki yöntemin de istatistiksel olarak pozitif korelasyon içerisinde olduğu bulunmuştur. Skor skalası yanında bilgisayar programlarından yararlanılarak ölçümler yapılmasının sonuçları daha objektif hale getirdiğini düşündüğümüz için, ileriki çalışmalarda da iki yöntemin bir arada uygulanmasını önermekteyiz. Ayrıca uygulamış olduğumuz yüzdeye dayalı hesaplamanın, farklı aletler, materyaller veya teknikleri uygulayan benzer çalışmalar arasında karşılaştırma yapılabilmesini daha mümkün kılacağı düşüncesiyle ileriki çalışmaların analizlerini yüzde bazlı gerçekleştirmelerini önermekteyiz.
3. MTA, CEM ve Biodentine'in insan periodontal ligament hücrelerine olan sitotoksosite analizine göre materyaller olumlu sonuçlar sergilemiş ve aralarında

istatistiksel fark görülmemiştir. 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon periodlarında her bir materyal kendi içinde, sitotoksik etki anlamında dalgalanmalar göstermiştir. Biodentine ilk 24 saat sonunda, diğer zamanlara göre daha yüksek sitotoksisite gösterirken, MTA ve CEM'de 72 saat sonunda daha yüksek sitotoksisite görülmüştür. Sitotoksisite analizi için kullanmış olduğumuz Millicell hücre kültür insert plaklarının, katı formdaki materyallerin hücre üzerine sitotoksisitelerinin istenen zaman dilimlerinde incelenmesine olanak tanınması ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle, bu tür testler gerçekleştirilirken kullanılmasını önermekteyiz.

4. Çalışmamızda kök ucu dolgu materyali olarak uyguladığımız MTA, CEM ve Biodentine arasında genel olarak mikrosızıntı, kenar uyumu ve sitotoksisite açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu anlamda CEM ve Biodentine'in, kök ucu dolgu materyali olarak günümüzde altın standart olarak kabul edilen MTA için birer alternatif olabileceklerini söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Sjogren, U., Hagglund, B., Sundqvist, G., Wing, K. (1990) Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *Journal of Endodontics*, 16 (10), 498-504.
2. Marquis, V.L., Dao, T., Farzaneh, M., Abitbol, S., Friedman, S. (2006) Treatment outcome in endodontics: the Toronto Study. Phase III: initial treatment. *Journal of Endodontics*, 32 (4), 299-306.
3. Boucher, Y., Matossian, L., Rilliard, F., Machtou, P. (2002) Radiographic evaluation of the prevalence and technical quality of root canal treatment in a French subpopulation. *International Endodontic Journal*, 35 (3), 229-238.
4. Dugas, N.N., Lawrence, H.P., Teplitsky, P.E., Pharoah, M.J., Friedman, S. (2003) Periapical health and treatment quality assessment of root-filled teeth in two Canadian populations. *International Endodontic Journal*, 36 (3), 181-192.
5. Kakehashi, S., Stanley, H.R., Fitzgerald, R.J. (1965) The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 20 340-349.
6. Nair, P.N. (2006) On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *International Endodontic Journal*, 39 (4), 249-281.
7. Nair, P.N.R. (1987) Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *Journal of Endodontics*, 13 (1), 29-39.
8. Wilson, M. (1996) Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents. *Journal of Medical Microbiology*, 44 (2), 79-87.
9. Farzaneh, M., Abitbol, S., Friedman, S. (2004) Treatment outcome in endodontics: the Toronto study. Phases I and II: Orthograde retreatment. *Journal of Endodontics*, 30 (9), 627-633.
10. de Chevigny, C., Dao, T.T., Basrani, B.R., Marquis, V., Farzaneh, M., Abitbol, S. ve diğeri. (2008) Treatment outcome in endodontics: the Toronto study--phases 3 and 4: orthograde retreatment. *Journal of Endodontics*, 34 (2), 131-137.

11. Torabinejad, M., Corr, R., Handysides, R., Shabahang, S. (2009) Outcomes of nonsurgical retreatment and endodontic surgery: a systematic review. *Journal of Endodontics*, 35 (7), 930-937.
12. Gutmann, J.L., Harrison, J.W. (1985) Posterior endodontic surgery: anatomical considerations and clinical techniques. *International Endodontic Journal*, 18 (1), 8-34.
13. Wuchenich, G., Meadows, D., Torabinejad, M. (1994) A comparison between two root end preparation techniques in human cadavers. *Journal of Endodontics*, 20 (6), 279-282.
14. Wallace, J.A. (2006) Effect of Waterlase laser retrograde root-end cavity preparation on the integrity of root apices of extracted teeth as demonstrated by light microscopy. *Australian Endodontic Journal*, 32 (1), 35-39.
15. Torabinejad, M., Watson, T.F., Pitt Ford, T.R. (1993) Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *Journal of Endodontics*, 19 (12), 591-595.
16. Asgary, S., Shahabi, S., Jafarzadeh, T., Amini, S., Kheirieh, S. (2008) The properties of a new endodontic material. *Journal of Endodontics*, 34 (8), 990-993.
17. Laurent, P., Camps, J., De Meo, M., Dejou, J., About, I. (2008) Induction of specific cell responses to a Ca(3)SiO(5)-based posterior restorative material. *Dental Materials*, 24 (11), 1486-1494.
18. Zhou, H.M., Shen, Y., Wang, Z.J., Li, L., Zheng, Y.F., Hakkinen, L. ve diğ erleri. (2013) In vitro cytotoxicity evaluation of a novel root repair material. *Journal of Endodontics*, 39 (4), 478-483.
19. Miletic, I., Anic, I., Pezelj-Ribaric, S., Jukic, S. (1999) Leakage of five root canal sealers. *International Endodontic Journal*, 32 (5), 415-418.
20. Cobankara, F.K., Adanir, N., Belli, S., Pashley, D.H. (2002) A quantitative evaluation of apical leakage of four root-canal sealers. *International Endodontic Journal*, 35 (12), 979-984.

21. Wu, M.K., De Gee, A.J., Wesselink, P.R., Moorer, W.R. (1993) Fluid transport and bacterial penetration along root canal fillings. *International Endodontic Journal*, 26 (4), 203-208.
22. Verissimo, D.M., do Vale, M.S. (2006) Methodologies for assessment of apical and coronal leakage of endodontic filling materials: a critical review. *Journal of Oral Science*, 48 (3), 93-98.
23. Torabinejad, M., Pitt Ford, T.R. (1996) Root end filling materials: a review. *Endodontics & Dental Traumatology*, 12 (4), 161-178.
24. Stabholz, A., Friedman, S., Abed, J. (1985) Marginal adaptation of retrograde fillings and its correlation with sealability. *Journal of Endodontics*, 11 (5), 218-223.
25. Torabinejad, M., Smith, P.W., Kettering, J.D., Pitt Ford, T.R. (1995) Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *Journal of Endodontics*, 21 (6), 295-299.
26. Badr A.E. (2010) Marginal adaptation and cytotoxicity of bone cement compared with amalgam and mineral trioxide aggregate as root-end filling materials. *Journal of Endodontics*, 36 (6), 1056-1060.
27. Tanzilli, J.P., Raphael, D., Moodnik, R.M. (1980) A comparison of the marginal adaptation of retrograde techniques: a scanning electron microscopic study. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 50 (1), 74-80.
28. Shipper, G., Grossman, E.S., Botha, A.J., Cleaton-Jones, P.E. (2004) Marginal adaptation of mineral trioxide aggregate (MTA) compared with amalgam as a root-end filling material: a low-vacuum (LV) versus high-vacuum (HV) SEM study. *International Endodontic Journal*, 37 (5), 325-336.
29. Gondim, E., Zaia, A.A., Gomes, B.P., Ferraz, C.C., Teixeira, F.B., Souza-Filho, F.J. (2003) Investigation of the marginal adaptation of root-end filling materials in root-end cavities prepared with ultrasonic tips. *International Endodontic Journal*, 36 (7), 491-499.

30. Munhoz, M.F., Marchesan, M.A., Cardoso, D.R., Silva, S.R., Silva-Sousa, Y.T., Sousa-Neto, M.D. (2011) Quantitative 3D profilometry and SEM analysis of the adaptation of root-end filling materials placed under an optical microscope. *International Endodontic Journal*, 44 (6), 560-566.
31. Rosa, R.A., Santini, M.F., Heiden, K., So, B.B., Kuga, M.C., Pereira, J.R. ve diğerleri. (2013) SEM Evaluation of the Interface Between Filling and Root-End Filling Materials. *Scanning*, 2013 Jun 3. [Epub ahead of print]
32. Lee, B.N., Son, H.J., Noh, H.J., Koh, J.T., Chang, H.S., Hwang, I.N. ve diğerleri. (2012) Cytotoxicity of newly developed ortho MTA root-end filling materials. *Journal of Endodontics*, 38 (12), 1627-1630.
33. Maeda, H., Tomokiyo, A., Koori, K., Monnouchi, S., Fujii, S., Wada, N. ve diğerleri. (2011) An in vitro evaluation of two resin-based sealers on proliferation and differentiation of human periodontal ligament cells. *International Endodontic Journal*, 44 (5), 425-431.
34. Song, M., Yoon, T.S., Kim, S.Y., Kim, E. (2014) Cytotoxicity of newly developed pozzolan cement and other root-end filling materials on human periodontal ligament cell. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 39 (1), 39-44.
35. Kim, S., Kratchman, S. (2006) Modern endodontic surgery concepts and practice: a review. *Journal of Endodontics*, 32 (7), 601-623.
36. Barone, C., Dao, T.T., Basrani, B.B., Wang, N., Friedman, S. (2010) Treatment outcome in endodontics: the Toronto study--phases 3, 4, and 5: apical surgery. *Journal of Endodontics*, 36 (1), 28-35.
37. Song, M., Chung, W., Lee, S.J., Kim, E. (2012) Long-term outcome of the cases classified as successes based on short-term follow-up in endodontic microsurgery. *Journal of Endodontics*, 38 (9), 1192-1196.
38. von Arx, T., Walker, W.A. (2000) Microsurgical instruments for root-end cavity preparation following apicoectomy: a literature review. *Endodontics & Dental Traumatology*, 16 (2), 47-62.

39. Khabbaz, M.G., Kerezoudis, N.P., Aroni, E., Tsatsas, V. (2004) Evaluation of different methods for the root-end cavity preparation. *Oral surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 98 (2), 237-242.
40. Saunders, W.P., Saunders, E.M., Gutmann, J.L. (1994) Ultrasonic root-end preparation, Part 2. Microleakage of EBA root-end fillings. *International Endodontic Journal*, 27 (6), 325-329.
41. Layton, C.A., Marshall, J.G., Morgan, L.A., Baumgartner, J.C. (1996) Evaluation of cracks associated with ultrasonic root-end preparation. *Journal of Endodontics*, 22 (4), 157-160.
42. Gray, G.J., Hatton, J.F., Holtzmann, D.J., Jenkins, D.B., Nielsen, C.J. (2000) Quality of root-end preparations using ultrasonic and rotary instrumentation in cadavers. *Journal of Endodontics*, 26 (5), 281-283.
43. Maiman, T.H. (1960) Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*, 187 493-494.
44. Weichman, J.A., Johnson, F.M. (1971) Laser use in endodontics. A preliminary investigation. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 31 (3), 416-420.
45. Lee, B.S., Lin, C.P., Lin, F.H., Lan, W.H. (2002) Ultrastructural changes of human dentin after irradiation by Nd:YAG laser. *Lasers in Surgery and Medicine*, 30 (3), 246-252.
46. Pozza, D.H., Fregapani, P.W., Xavier, C.B., Weber, J.B., Oliveira, M.G. (2009) CO₂, Er: YAG and Nd:YAG lasers in endodontic surgery. *Journal of Applied Oral Science*, 17 (6), 596-599.
47. Cobb, C.M. (2006) Lasers in periodontics: a review of the literature. *Journal of Periodontology*, 77 (4), 545-564.
48. RizoIU, I., Kohanghadosh, F., Kimmel, A.I., Eversole, L.R. (1998) Pulpal thermal responses to an erbium,chromium: YSGG pulsed laser hydrokinetic system. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 86 (2), 220-223.

49. Kimura, Y., Yu, D.G., Kinoshita, J., Hossain, M., Yokoyama, K., Murakami, Y. ve diğerleri. (2001) Effects of erbium:chromium:YSGG laser irradiation on root surface: morphological and atomic analytical studies. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 19 (2), 69-72.
50. Paghdiwala, A.F. (1993) Root resection of endodontically treated teeth by erbium: YAG laser radiation. *Journal of Endodontics*, 19 (2), 91-94.
51. Hibst, R., Keller, U. (1989) Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers in Surgery and Medicine*, 9 (4), 338-344.
52. Keller, U., Hibst, R. (1989) Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: II. Light microscopic and SEM investigations. *Lasers in Surgery and Medicine*, 9 (4), 345-351.
53. Takeda, F.H., Harashima, T., Kimura, Y., Matsumoto, K. (1998) Comparative study about the removal of smear layer by three types of laser devices. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 16 (2), 117-122.
54. Samad-Zadeh, A., Harsono, M., Belikov, A., Shatilova, K.V., Skripnik, A., Stark, P. ve diğerleri. (2011) The influence of laser-textured dentinal surface on bond strength. *Dental Materials*, 27 (10), 1038-1044.
55. Komori, T., Yokoyama, K., Takato, T., Matsumoto, K. (1997) Clinical application of the erbium:YAG laser for apicoectomy. *Journal of Endodontics*, 23 (12), 748-750.
56. Buckova, M., Kasparova, M., Dostalova, T., Jelinkova, H., Sulc, J., Nemecek, M. ve diğerleri. (2013) Er:YAG and CTH:YAG laser radiation:contact versus non-contact enamel ablation and sonic-activated bulk composite placement. *Laser Physics*, 23 055605.
57. Bornstein, E. (2004) Proper use of Er:YAG lasers and contact sapphire tips when cutting teeth and bone: scientific principles and clinical application. *Dentistry Today*, 23 (8), 84, 86-89.

58. Ekworapoj, P., Sidhu, S.K., McCabe, J.F. (2007) Effect of different power parameters of Er,Cr:YSGG laser on human dentine. *Lasers in Medical Science*, 22 (3), 175-182.
59. Camargo Villela Berbert, F.L., de Faria-Junior, N.B., Tanomaru-Filho, M., Guerreiro-Tanomaru, J.M., Bonetti-Filho, I., Leonardo Rde, T. ve diğeri. (2010) An in vitro evaluation of apicoectomies and retropreparations using different methods. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 110 (4), e57-63.
60. Carr, G.B. (1992) Microscopes in endodontics. *Journal of the California Dental Association*, 20 (11), 55-61.
61. Kim, S. (1997) Principles of endodontic microsurgery. *Dental Clinics of North America*, 41 (3), 481-497.
62. Rubinstein, R. (1997) The anatomy of the surgical operating microscope and operating positions. *Dental Clinics of North America*, 41 (3), 391-413.
63. Parirokh, M., Torabinejad, M. (2010) Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *Journal of Endodontics*, 36 (1), 16-27.
64. Pitt Ford, T.R., Andreasen, J.O., Dorn, S.O., Kariyawasam, S.P. (1995) Effect of various zinc oxide materials as root-end fillings on healing after replantation. *International Endodontic Journal*, 28 (6), 273-278.
65. Chong, B.S., Ford, T.R., Kariyawasam, S.P. (1997) Tissue response to potential root-end filling materials in infected root canals. *International Endodontic Journal*, 30 (2), 102-114.
66. Chong, B.S., Pitt, Ford T.R., Kariyawasam, S.P. (1997) Short-term tissue response to potential root-end filling materials in infected root canals. *International Endodontic Journal*, 30 (4), 240-249.
67. Gartner, A.H., Dorn, S.O. (1992) Advances in endodontic surgery. *Dental Clinics of North America*, 36 (2), 357-378.

68. Dorn, S.O., Gartner, A.H. (1990) Retrograde filling materials: a retrospective success-failure study of amalgam, EBA, and IRM. *Journal of Endodontics*, 16 (8), 391-393.
69. Grung, B., Molven, O., Halse, A. (1990) Periapical surgery in a Norwegian county hospital: follow-up findings of 477 teeth. *Journal of Endodontics*, 16 (9), 411-417.
70. Frank, A.L., Glick, D.H., Patterson, S.S., Weine, F.S. (1992) Long-term evaluation of surgically placed amalgam fillings. *Journal of Endodontics*, 18 (8), 391-398.
71. Wesson, C.M., Gale, T.M. (2003) Molar apicectomy with amalgam root-end filling: results of a prospective study in two district general hospitals. *British Dental Journal*, 195 (12), 707-714.
72. Saxena, P., Gupta, S.K., Newaskar, V. (2013) Biocompatibility of root-end filling materials: recent update. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 38 (3), 119-127.
73. Friedman, C.M., Sandrik, J.L., Heuer, M.A., Rapp, G.W. (1975) Composition and mechanical properties of gutta-percha endodontic points. *Journal of Dental Research*, 54 (5), 921-925.
74. Kaplan, S.D., Tanzilli, J.P., Raphael, D., Moodnik, R.M. (1982) A comparison of the marginal leakage of retrograde techniques. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 54 (5), 583-585.
75. Chong, B.S., Owadally, I.D., Pitt Ford, T.R., Wilson, R.F. (1994) Cytotoxicity of potential retrograde root-filling materials. *Endodontics & Dental Traumatology*, 10 (3), 129-133.
76. Markowitz, K., Moynihan, M., Liu, M., Kim, S. (1992) Biologic properties of eugenol and zinc oxide-eugenol. A clinically oriented review. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 73 (6), 729-737.
77. Meryon, S.D., Jakeman, K.J. (1985) The effects in vitro of zinc released from dental restorative materials. *International Endodontic Journal*, 18 (3), 191-198.

78. Chong, B.S., Pitt Ford, T.R. (2005) Root-end filling materials: rationale and tissue response. *Endodontic Topics*, 11 114-130.
79. Oynick, J., Oynick, T. (1978) A study of a new material for retrograde fillings. *Journal of Endodontics*, 4 (7), 203-206.
80. Crooks, W.G., Anderson, R.W., Powell, B.J., Kimbrough, W.F. (1994) Longitudinal evaluation of the seal of IRM root end fillings. *Journal of Endodontics*, 20 (5), 250-252.
81. Vasudev, S.K., Goel, B.R., Tyagi, S. (2003) Root end filling materials – a review. *Endodontology*, 15 12-18.
82. Bodrumlu, E. (2008) Biocompatibility of retrograde root filling materials: a review. *Australian Endodontic Journal*, 34 (1), 30-35.
83. Barkhordar, R.A., Pelzner, R.B., Stark, M.M. (1989) Use of glass ionomers as retrofilling materials. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 67 (6), 734-739.
84. Oliveira, M.G., Xavier, C.B., Demarco, F.F., Pinheiro, A.L., Costa, A.T., Pozza, D.H. (2007) Comparative chemical study of MTA and Portland cements. *Brazilian Dental Journal*, 18 (1), 3-7.
85. Torabinejad, M., Hong, C.U., McDonald, F., Pitt Ford, T.R. (1995) Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *Journal of Endodontics*, 21 (7), 349-353.
86. Torabinejad, M., Chivian, N. (1999) Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 25 (3), 197-205.
87. De Deus, G., Ximenes, R., Gurgel-Filho, E.D., Plotkowski, M.C., Coutinho-Filho, T. (2005) Cytotoxicity of MTA and Portland cement on human ECV 304 endothelial cells. *International Endodontic Journal*, 38 (9), 604-609.
88. Menezes, R., Bramante, C.M., Letra, A., Carvalho, V.G., Garcia, R.B. (2004) Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings.

Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics, 98 (3), 376-379.

89. Al-Rabeah, E., Perinpanayagam, H., MacFarland, D. (2006) Human alveolar bone cells interact with ProRoot and tooth-colored MTA. *Journal of Endodontics*, 32 (9), 872-875.
90. Torabinejad, M., Hong, C.U., Pitt Ford, T.R., Kettering, J.D. (1995) Antibacterial effects of some root end filling materials. *Journal of Endodontics*, 21 (8), 403-406.
91. Porter, M.L., Berto, A., Primus, C.M., Watanabe, I. (2010) Physical and chemical properties of new-generation endodontic materials. *Journal of Endodontics*, 36 (3), 524-528.
92. Kogan, P., He, J., Glickman, G.N., Watanabe, I. (2006) The effects of various additives on setting properties of MTA. *Journal of Endodontics*, 32 (6), 569-572.
93. Wiltbank, K.B., Schwartz, S.A., Schindler, W.G. (2007) Effect of selected accelerants on the physical properties of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Journal of Endodontics*, 33 (10), 1235-1238.
94. Bortoluzzi, E.A., Broon, N.J., Bramante, C.M., Felipe, W.T., Tanomaru Filho, M., Esberard, R.M. (2009) The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with a radiopacifier. *Journal of Endodontics*, 35 (4), 550-554.
95. Gomes-Filho, J.E., de Moraes Costa, M.T., Cintra, L.T., Lodi, C.S., Duarte, P.C., Okamoto, R. ve diğeri. (2010) Evaluation of alveolar socket response to Angelus MTA and experimental light-cure MTA. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 110 (5), e93-97.
96. Best, S.M., Porter, A.E., Thian, E.S., Huang, J. (2008) Bioceramics: Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society*, 28 1319-1327.

97. Malhotra, S., Hegde, N.M., Shetty, C. (2014) Bioceramic Technology in Endodontics. *British Journal of Medicine & Medical Research*, 4 (12), 2446-2454.
98. Alanezi, A.Z., Jiang, J., Safavi, K.E., Spangberg, L.S., Zhu, Q. (2010) Cytotoxicity evaluation of endosequence root repair material. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 109 (3), e122-125.
99. Leal, F., De-Deus, G., Brandao, C., Luna, A.S., Fidel, S.R., Souza, E.M. (2011) Comparison of the root-end seal provided by bioceramic repair cements and White MTA. *International Endodontic Journal*, 44 (7), 662-668.
100. Shokouhinejad, N., Nekoofar, M.H., Razmi, H., Sajadi, S., Davies, T.E., Saghiri, M.A. ve diğerleri. (2012) Bioactivity of EndoSequence root repair material and bioaggregate. *International Endodontic Journal*, 45 (12), 1127-1134.
101. Hashem, A.A., Wanees Amin, S.A. (2012) The effect of acidity on dislodgment resistance of mineral trioxide aggregate and bioaggregate in furcation perforations: an in vitro comparative study. *Journal of Endodontics*, 38 (2), 245-249.
102. Shokouhinejad, N., Razmi, H., Nekoofar, M.H., Sajadi, S., Dummer, P.M., Khoshkhounejad, M. (2013) Push-out bond strength of bioceramic materials in a synthetic tissue fluid. *Journal of Dentistry of Tehran University of Medical Sciences*, 10 (6), 540-547.
103. Walsh, R.M., Woodmansey, K.F., Glickman, G.N., He, J. (2014) Evaluation of Compressive Strength of Hydraulic Silicate-based Root-end Filling Materials. *Journal of Endodontics*, 40 (7), 969-972.
104. Wang, Z., Ma, J., Shen, Y., Haapasalo, M. (2014) Acidic pH weakens the microhardness and microstructure of three tricalcium silicate materials. *International Endodontic Journal*, 2014 May 28. [Epub ahead of print]
105. Shokouhinejad, N., Nekoofar, M.H., Ashoftehyazdi, K., Zahraee, S., Khoshkhounejad, M. (2014) Marginal adaptation of new bioceramic materials

- and mineral trioxide aggregate: a scanning electron microscopy study. *Iranian Endodontic Journal*, 9 (2), 144-148.
106. Chang, S.W., Lee, S.Y., Kum, K.Y., Kim, E.C. (2014) Effects of ProRoot MTA, Bioaggregate, and Micromega MTA on odontoblastic differentiation in human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*, 40 (1), 113-118.
107. Septodont Biodentine™ Active Biosilicate Technology™ Scientific File.
Erişim: 2010,
http://www.septodont.fr/fichiers_upload/biodentinescientificfile.pdf
108. Han, L., Okiji, T. (2011) Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate-based endodontic materials into root canal dentine. *International Endodontic Journal*, 44 (12), 1081-1087.
109. Koubi, G., Colon, P., Franquin, J.C., Hartmann, A., Richard, G., Faure, M.O. ve diğerleri. (2013) Clinical evaluation of the performance and safety of a new dentine substitute, Biodentine, in the restoration of posterior teeth - a prospective study. *Clinical Oral Investigations*, 17 (1), 243-249.
110. Laurent, P., Camps, J., About, I. (2012) Biodentine(TM) induces TGF-beta1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *International Endodontic Journal*, 45 (5), 439-448.
111. Asgary, S., Eghbal, M.J., Parirokh, M., Torabzadeh, H. (2006) Sealing ability of three commercial mineral trioxide aggregates and an experimental root-end filling material. *Iranian Endodontic Journal*, 1 (3), 101-105.
112. Asgary, S., Eghbal, M.J., Parirokh, M., Ghoddusi, J. (2009) Effect of two storage solutions on surface topography of two root-end fillings. *Australian Endodontic Journal*, 35 (3), 147-152.
113. Asgary, S., Akbari Kamrani, F., Taheri, S. (2007) Evaluation of antimicrobial effect of MTA, calcium hydroxide, and CEM cement. *Iranian Endodontic Journal*, 2 (3), 105-109.
114. Grossman, I.L. (1939) A Study of Temporary Fillings as Hermetic Sealing Agents. *Journal of Dental Research*, 18 67-71.

115. Goldman, M., Simmonds, S., Rush, R. (1989) The usefulness of dye-penetration studies reexamined. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 67 (3), 327-332.
116. Wu, M.K., Wesselink, P.R. (1993) Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology, application and relevance. *International Endodontic Journal*, 26 (1), 37-43.
117. Peters, L.B., Harrison, J.W. (1992) A comparison of leakage of filling materials in demineralized and non-demineralized resected root ends under vacuum and non-vacuum conditions. *International Endodontic Journal*, 25 (6), 273-278.
118. Lucena-Martin, C., Ferrer-Luque, C.M., Gonzalez-Rodriguez, M.P., Robles-Gijon, V., Navajas-Rodriguez de Mondelo, J.M. (2002) A comparative study of apical leakage of Endomethasone, Top Seal, and Roeko Seal sealer cements. *Journal of Endodontics*, 28 (6), 423-426.
119. Ahlberg, K.M., Assavanop, P., Tay, W.M. (1995) A comparison of the apical dye penetration patterns shown by methylene blue and india ink in root-filled teeth. *International Endodontic Journal*, 28 (1), 30-34.
120. Robertson, D., Leeb, I.J., McKee, M., Brewer, E. (1980) A clearing technique for the study of root canal systems. *Journal of Endodontics*, 6 (1), 421-424.
121. Roy, C.O., Jeansonne, B.G., Gerrets, T.F. (2001) Effect of an acid environment on leakage of root-end filling materials. *Journal of Endodontics*, 27 (1), 7-8.
122. Valois, C.R., Costa Jr, E.D. (2004) Influence of the thickness of mineral trioxide aggregate on sealing ability of root-end fillings in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 97 (1), 108-111.
123. Islam, I., Chng, H.K., Yap, A.U. (2005) Comparison of the root-end sealing ability of MTA and Portland cement. *Australian Endodontic Journal*, 31 (2), 59-62.
124. Rahimi, S., Shahi, S., Lotfi, M., Yavari, H.R., Charehjo, M.E. (2008) Comparison of microleakage with three different thicknesses of mineral

- trioxide aggregate as root-end filling material. *Journal of Oral Science*, 50 (3), 273-277.
125. Gondim Jr, E., Kim, S., de Souza-Filho, F.J. (2005) An investigation of microleakage from root-end fillings in ultrasonic retrograde cavities with or without finishing: a quantitative analysis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 99 (6), 755-760.
 126. Pereira, C.L., Cenci, M.S., Demarco, F.F. (2004) Sealing ability of MTA, Super EBA, Vitremer and amalgam as root-end filling materials. *Brazilian Oral Research*, 18 (4), 317-321.
 127. Xavier, C.B., Weismann, R., de Oliveira, M.G., Demarco, F.F., Pozza, D.H. (2005) Root-end filling materials: apical microleakage and marginal adaptation. *Journal of Endodontics*, 31 (7), 539-542.
 128. Tanomaru Filho, M., Figueiredo, F.A., Tanomaru, J.M. (2005) Effect of different dye solutions on the evaluation of the sealing ability of Mineral Trioxide Aggregate. *Brazilian Oral Research*, 19 (2), 119-122.
 129. Wu, M.K., Kontakiotis, E.G., Wesselink, P.R. (1998) Decoloration of 1% methylene blue solution in contact with dental filling materials. *Journal of Dentistry*, 26 (7), 585-589.
 130. Vogt, B.F., Xavier, C.B., Demarco, F.F., Padilha, M.S. (2006) Dentin penetrability evaluation of three different dyes in root-end cavities filled with mineral trioxide aggregate (MTA). *Brazilian Oral Research*, 20 (2), 132-136.
 131. Tobon-Arroyave, S.I., Restrepo-Perez, M.M., Arismendi-Echavarria, J.A., Velasquez-Restrepo, Z., Marin-Botero, M.L., Garcia-Dorado, E.C. (2007) Ex vivo microscopic assessment of factors affecting the quality of apical seal created by root-end fillings. *International Endodontic Journal*, 40 (8), 590-602.
 132. Lee, S.J., Chung, J., Na, H.S., Park, E.J., Jeon, H.J., Kim, H.C. (2013) Characteristics of novel root-end filling material using epoxy resin and Portland cement. *Clinical Oral Investigations*, 17 (3), 1009-1015.

133. El Sayed, M., Saeed, M. (2012) In vitro comparative study of sealing ability of Diadent BioAggregate and other root-end filling materials. *Journal of Conservative Dentistry*, 15 (3), 249-252.
134. Ashraf, H., Faramarzi, F., Paymanpour, P. (2013) Sealing Ability of Resilon and MTA as Root-end Filling Materials: A Bacterial and Dye Leakage Study. *Iranian Endodontic Journal*, 8 (4), 177-181.
135. Shahi, S., Yavari, H.R., Rahimi, S., Eskandarinezhad, M., Shakouei, S., Unchi, M. (2011) Comparison of the sealing ability of mineral trioxide aggregate and Portland cement used as root-end filling materials. *Journal of Oral Science*, 53 (4), 517-522.
136. Arruda, R.A., Cunha, R.S., Miguita, K.B., Silveira, C.F., De Martin, A.S., Pinheiro, S.L. ve diğ erleri. (2012) Sealing ability of mineral trioxide aggregate (MTA) combined with distilled water, chlorhexidine, and doxycycline. *Journal of Oral Science*, 54 (3), 233-239.
137. Bortoluzzi, E.A., Broon, N.J., Bramante, C.M., Garcia, R.B., de Moraes, I.G., Bernardineli, N. (2006) Sealing ability of MTA and radiopaque Portland cement with or without calcium chloride for root-end filling. *Journal of Endodontics*, 32 (9), 897-900.
138. Kazem, M., Eghbal, M.J., Asgary, S. (2010) Comparison of bacterial and dye microleakage of different root-end filling materials. *Iranian Endodontic Journal*, 5 (1), 17-22.
139. Hasheminia, M., Loriaei Nejad, S., Asgary, S. (2010) Sealing Ability of MTA and CEM Cement as Root-End Fillings of Human Teeth in Dry, Saliva or Blood-Contaminated Conditions. *Iranian Endodontic Journal*, 5 (4), 151-156.
140. Hasheminia, S.M., Nejad, S.L., Dianat, O., Modaresi, J., Mahjour, F. (2013) Comparing the sealing properties of mineral trioxide aggregate and an experimental ceramic based root end filling material in different environments. *Indian Journal of Dental Research*, 24 (4), 474-477.

141. Andelin, W.E., Browning, D.F., Hsu, G.H., Roland, D.D., Torabinejad, M. (2002) Microleakage of resected MTA. *Journal of Endodontics*, 28 (8), 573-574.
142. de Souza, E.B., de Amorim, C.V., Marques, J.L. (2006) Effect of diode laser irradiation on the apical sealing of MTA retrofillings. *Brazilian Oral Research*, 20 (3), 231-234.
143. Sullivan, J., Pileggi, R., Varella, C. (2009) Evaluation of Root-End Resections Performed by Er, Cr: YSGG Laser with and without Placement of a Root-End Filling Material. *International Journal of Dentistry*, 2009, 798786.
144. Post, L.K., Lima, F.G., Xavier, C.B., Demarco, F.F., Gerhardt-Oliveira, M. (2010) Sealing ability of MTA and amalgam in different root-end preparations and resection bevel angles: an in vitro evaluation using marginal dye leakage. *Brazilian Dental Journal*, 21 (5), 416-419.
145. Rosales-Leal, J.I., Olmedo-Gaya, V., Vallecillo-Capilla, M., Luna-del Castillo, J.D. (2011) Influence of cavity preparation technique (rotary vs. ultrasonic) on microleakage and marginal fit of six end-root filling materials. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 16 (2), e185-189.
146. Timpawat, S., Amornchat, C., Trisuwan, W.R. (2001) Bacterial coronal leakage after obturation with three root canal sealers. *Journal of Endodontics*, 27 (1), 36-39.
147. Maltezos, C., Glickman, G.N., Ezzo, P., He, J. (2006) Comparison of the sealing of Resilon, Pro Root MTA, and Super-EBA as root-end filling materials: a bacterial leakage study. *Journal of Endodontics*, 32 (4), 324-327.
148. Chailertvanitkul, P., Saunders, W.P., Saunders, E.M., MacKenzie, D. (1997) An evaluation of microbial coronal leakage in the restored pulp chamber of root-canal treated multirooted teeth. *International Endodontic Journal*, 30 (5), 318-322.
149. Torabinejad, M., Rastegar, A.F., Kettering, J.D., Pitt Ford, T.R. (1995) Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *Journal of Endodontics*, 21 (3), 109-112.

150. Fischer, E.J., Arens, D.E., Miller, C.H. (1998) Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and Super-EBA as a root-end filling material. *Journal of Endodontics*, 24 (3), 176-179.
151. Adamo, H.L., Buruiana, R., Schertzer, L., Boylan, R.J. (1999) A comparison of MTA, Super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. *International Endodontic Journal*, 32 (3), 197-203.
152. Montellano, A.M., Schwartz, S.A., Beeson, T.J. (2006) Contamination of tooth-colored mineral trioxide aggregate used as a root-end filling material: a bacterial leakage study. *Journal of Endodontics*, 32 (5), 452-455.
153. Asnaashari, M., Asgary, S., Khatami, A. (2006) Bacterial leakage of mineral trioxide aggregates and portland cement. *Iranian Endodontic Journal*, 1 (3), 93-96.
154. Pariookh, M., Askarifard, S., Mansouri, S., Haghdoost, A.A., Raoof, M., Torabinejad, M. (2009) Effect of phosphate buffer saline on coronal leakage of mineral trioxide aggregate. *Journal of Oral Science*, 51 (2), 187-191.
155. Yildirim, T., Er, K., Tasdemir, T., Tahan, E., Buruk, K., Serper, A. (2010) Effect of smear layer and root-end cavity thickness on apical sealing ability of MTA as a root-end filling material: a bacterial leakage study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 109 (1), e67-72.
156. Estrela, C., Estrada-Bernabe, P.F., de Almeida-Decurcio, D., Almeida-Silva, J., Rodrigues-Araujo-Estrela, C., Poli-Figueiredo, J.A. (2011) Microbial leakage of MTA, Portland cement, Sealapex and zinc oxide-eugenol as root-end filling materials. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 16 (3), e418-424.
157. Nair, U., Ghattas, S., Saber, M., Natera, M., Walker, C., Pileggi, R. (2011) A comparative evaluation of the sealing ability of 2 root-end filling materials: an in vitro leakage study using *Enterococcus faecalis*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 112 (2), e74-77.

158. Hirschberg, C.S., Patel, N.S., Patel, L.M., Kadouri, D.E., Hartwell, G.R. (2013) Comparison of sealing ability of MTA and EndoSequence Bioceramic Root Repair Material: a bacterial leakage study. *Quintessence International*, 44 (5), e157-162.
159. Birang, R., Kiani, S., Shokrane, A., Hasheminia, S.M. (2013) Effect of Nd: YAG laser on the apical seal after root-end resection and MTA retrofill: a bacterial leakage study. *Lasers in Medical Science*, 2013 Jun 21. [Epub ahead of print]
160. Pashley, D.H., Thompson, S.M., Stewart, F.P. (1983) Dentin permeability: effects of temperature on hydraulic conductance. *Journal of Dental Research*, 62 (9), 956-959.
161. Derkson, G.D., Pashley, D.H., Derkson, M.E. (1986) Microleakage measurement of selected restorative materials: a new in vitro method. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 56 (4), 435-440.
162. Fogel, H.M. (1995) Microleakage of posts used to restore endodontically treated teeth. *Journal of Endodontics*, 21 (7), 376-379.
163. Pommel, L., Camps, J. (2001) Effects of pressure and measurement time on the fluid filtration method in endodontics. *Journal of Endodontics*, 27 (4), 256-258.
164. Bates, C.F., Carnes, D.L., del Rio, C.E. (1996) Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *Journal of Endodontics*, 22 (11), 575-578.
165. Wu, M.K., Kontakiotis, E.G., Wesselink, P.R. (1998) Long-term seal provided by some root-end filling materials. *Journal of Endodontics*, 24 (8), 557-560.
166. Yatsushiro, J.D., Baumgartner, J.C., Tinkle, J.S. (1998) Longitudinal study of the microleakage of two root-end filling materials using a fluid conductive system. *Journal of Endodontics*, 24 (11), 716-719.
167. Fogel, H.M., Peikoff, M.D. (2001) Microleakage of root-end filling materials. *Journal of Endodontics*, 27 (7), 456-458.

168. Karlovic, Z., Pezelj-Ribaric, S., Miletic, I., Jukic, S., Grgurevic, J., Anic, I. (2005) Erbium:YAG laser versus ultrasonic in preparation of root-end cavities. *Journal of Endodontics*, 31 (11), 821-823.
169. Kocak, M.M., Kocak, S., Aktuna, S., Gorucu, J., Yaman, S.D. (2011) Sealing ability of retrofilling materials following various root-end cavity preparation techniques. *Lasers in Medical Science*, 26 (4), 427-431.
170. Garip, H., Garip, Y., Orucoglu, H., Hatipoglu, S. (2011) Effect of the angle of apical resection on apical leakage, measured with a computerized fluid filtration device. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 111 (3), e50-55.
171. Gandolfi, M.G., Sauro, S., Mannocci, F., Watson, T.F., Zanna, S., Capoferri, M. ve diğ erleri. (2007) New tetrasilicate cements as retrograde filling material: an in vitro study on fluid penetration. *Journal of Endodontics*, 33 (6), 742-745.
172. Tay, K.C., Loushine, B.A., Oxford, C., Kapur, R., Primus, C.M., Gutmann, J.L. ve diğ erleri. (2007) In vitro evaluation of a Ceramicrete-based root-end filling material. *Journal of Endodontics*, 33 (12), 1438-1443.
173. Yildirim, T., Orucoglu, H., Cobankara, F.K. (2008) Long-term evaluation of the influence of smear layer on the apical sealing ability of MTA. *Journal of Endodontics*, 34 (12), 1537-1540.
174. De Bruyne, M.A., De Bruyne, R.J., Rosiers, L., De Moor, R.J. (2005) Longitudinal study on microleakage of three root-end filling materials by the fluid transport method and by capillary flow porometry. *International Endodontic Journal*, 38 (2), 129-136.
175. De Bruyne, M.A., De Bruyne, R.J., De Moor, R.J. (2006) Capillary flow porometry to assess the seal provided by root-end filling materials in a standardized and reproducible way. *Journal of Endodontics*, 32 (3), 206-209.
176. Xu, Q., Fan, M.W., Fan, B., Cheung, G.S., Hu, H.L. (2005) A new quantitative method using glucose for analysis of endodontic leakage. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 99 (1), 107-111.

177. Shemesh, H., Souza, E.M., Wu, M.K., Wesselink, P.R. (2008) Glucose reactivity with filling materials as a limitation for using the glucose leakage model. *International Endodontic Journal*, 41 (10), 869-872.
178. Ravichandra, P.V., Harikumar, V., Deepthi, K., Jayaprada Reddy, S., Ramkiran, D., Jaya Nagendra Krishna, M. ve diğerleri. (2014) Comparative Evaluation of Marginal Adaptation of Biodentine(TM) and Other Commonly Used Root End Filling Materials-An In vitro Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8 (3), 243-245.
179. Oliveira, H.F., Goncalves Alencar, A.H., Poli Figueiredo, J.A., Guedes, O.A., de Almeida Decurcio, D., Estrela, C. (2013) Evaluation of marginal adaptation of root-end filling materials using scanning electron microscopy. *Iranian Endodontic Journal*, 8 (4), 182-186.
180. Peters, C.I., Peters, O.A. (2002) Occlusal loading of EBA and MTA root-end fillings in a computer-controlled masticator: a scanning electron microscopic study. *International Endodontic Journal*, 35 (1), 22-29.
181. Biggs, J.T., Benenati, F.W., Powell, S.E. (1995) Ten-year in vitro assessment of the surface status of three retrofilling materials. *Journal of Endodontics*, 21 (10), 521-525.
182. Weston, G.D., Moule, A.J., Bartold, P.M. (1999) A scanning electron microscopic evaluation of root surfaces and the gutta-percha interface following root-end resection in vitro. *International Endodontic Journal*, 32 (6), 450-458.
183. Nedderman, T.A., Hartwell, G.R., Protell, F.R. (1988) A comparison of root surfaces following apical root resection with various burs: scanning electron microscopic evaluation. *Journal of Endodontics*, 14 (9), 423-427.
184. Morgan, L.A., Marshall, J.G. (1998) The topography of root ends resected with fissure burs and refined with two types of finishing burs. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 85 (5), 585-591.
185. Duarte, M.A., Domingues, R., Matsumoto, M.A., Padovan, L.E., Kuga, M.C. (2007) Evaluation of apical surface roughness after root resection: a scanning

- electron microscopic study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 104 (6), e74-76.
186. Bernardes, R.A., de Souza Junior, J.V., Duarte, M.A., de Moraes, I.G., Bramante, C.M. (2009) Ultrasonic chemical vapor deposition-coated tip versus high- and low-speed carbide burs for apicoectomy: time required for resection and scanning electron microscopy analysis of the root-end surfaces. *Journal of Endodontics*, 35 (2), 265-268.
187. Bidar, M., Moradi, S., Jafarzadeh, H., Bidad, S. (2007) Comparative SEM study of the marginal adaptation of white and grey MTA and Portland cement. *Australian Endodontic Journal*, 33 (1), 2-6.
188. Cunningham, J. (1975) The seal of root fillings at apicectomy. A scanning electron microscope study. *British Dental Journal*, 139 (11), 430-435.
189. Engel, T.K., Steiman, H.R. (1995) Preliminary investigation of ultrasonic root end preparation. *Journal of Endodontics*, 21 (9), 443-445.
190. Waplington, M., Lumley, P.J., Walmsley, A.D., Blunt, L. (1995) Cutting ability of an ultrasonic retrograde cavity preparation instrument. *Endodontics & Dental Traumatology*, 11 (4), 177-180.
191. Lloyd, A., Jaunberzins, A., Dummer, P.M., Bryant, S. (1996) Root-end cavity preparation using the MicroMega Sonic Retro-prep Tip. SEM analysis. *International Endodontic Journal*, 29 (5), 295-301.
192. Gorman, M.C., Steiman, H.R., Gartner, A.H. (1995) Scanning electron microscopic evaluation of root-end preparations. *Journal of Endodontics*, 21 (3), 113-117.
193. Gutmann, J.L., Saunders, W.P., Nguyen, L., Guo, I.Y., Saunders, E.M. (1994) Ultrasonic root-end preparation. Part 1. SEM analysis. *International Endodontic Journal*, 27 (6), 318-324.
194. Beling, K.L., Marshall, J.G., Morgan, L.A., Baumgartner, J.C. (1997) Evaluation for cracks associated with ultrasonic root-end preparation of gutta-percha filled canals. *Journal of Endodontics*, 23 (5), 323-326.

195. Gondim Jr, E., Gomes, B.P., Ferraz, C.C., Teixeira, F.B., Souza-Filho, F.J. (2002) Effect of sonic and ultrasonic retrograde cavity preparation on the integrity of root apices of freshly extracted human teeth: scanning electron microscopy analysis. *Journal of Endodontics*, 28 (9), 646-650.
196. Taschieri, S., Testori, T., Francetti, L., Del Fabbro, M. (2004) Effects of ultrasonic root end preparation on resected root surfaces: SEM evaluation. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 98 (5), 611-618.
197. Calzonetti, K.J., Iwanowski, T., Komorowski, R., Friedman, S. (1998) Ultrasonic root end cavity preparation assessed by an in situ impression technique. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 85 (2), 210-215.
198. Morgan, L.A., Marshall, J.G. (1999) A scanning electron microscopic study of in vivo ultrasonic root-end preparations. *Journal of Endodontics*, 25 (8), 567-570.
199. Chong, B.S., Pitt Ford, T.R., Watson, T.F., Wilson R.F. (1995) Sealing ability of potential retrograde root filling materials. *Endodontics & Dental Traumatology*, 11 (6), 264-269.
200. Al-Fouzan, K., Al-Garawi, Z., Al-Hezaimi, K., Javed, F., Al-Shalan, T., Rotstein, I. (2012) Effect of acid etching on marginal adaptation of mineral trioxide aggregate to apical dentin: microcomputed tomography and scanning electron microscopy analysis. *International Journal of Oral Science*, 4 (4), 202-207.
201. Gandolfi, M.G., Taddei, P., Siboni, F., Modena, E., Ciapetti, G., Prati, C. (2011) Development of the foremost light-curable calcium-silicate MTA cement as root-end in oral surgery. Chemical-physical properties, bioactivity and biological behavior. *Dental Materials*, 27 (7), e134-157.
202. Costa, A.T., Post, L.K., Xavier, C.B., Weber, J.B., Gerhardt-Oliveira, M. (2008) Marginal adaptation and microleakage of five root-end filling materials: an in vitro study. *Minerva Stomatologica*, 57 (6), 295-300.

203. Costa, A.T., Konrath, F., Dedavid, B., Weber, J.B., de Oliveira, M.G. (2009) Marginal adaptation of root-end filling materials: an in vitro study with teeth and replicas. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 10 (2), 75-82.
204. Tewari, S. (1999) Marginal adaptation and sealability of orthograde and retrograde amalgam obturation. An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*, 10 (3), 96-103.
205. Rosales, J.I., Vallecillo, M., Osorio, R., Bravo, M., Toledano, M. (1996) An in vitro comparison of micro leakage in three glass ionomer cements used as retrograde filling materials. *International Dental Journal*, 46 (1), 15-21.
206. Moodnik, R.M., Levey, M.H., Besen, M.A., Borden, B.G. (1975) Retrograde amalgam filling: a scanning electron microscopic study. *Journal of Endodontics*, 1 (1), 28-31.
207. Torabinejad, M., Lee, S.J., Hong, C.U. (1994) Apical marginal adaptation of orthograde and retrograde root end fillings: a dye leakage and scanning electron microscopic study. *Journal of Endodontics*, 20 (8), 402-407.
208. Cehreli, Z.C., Uyanik, M.O., Nagas, E., Tuncel, B., Er, N., Comert, F.D. (2013) A comparison of residual smear layer and erosion following different endodontic irrigation protocols tested under clinical and laboratory conditions. *Acta Odontologica Scandinavica*, 71 (5), 1261-1266.
209. Airoidi, R.L., Krejci, I., Lutz, F. (1992) In vitro evaluation of dentinal bonding agents in mixed Class V cavity preparations. *Quintessence International*, 23 (5), 355-362.
210. Wataha, J.C. (2001) Principles of biocompatibility for dental practitioners. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 86 (2), 203-209.
211. International Standards Organization. (2008). Dentistry-Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry (ISO 7405). **http://www.iso.org/iso/catalogue_detail?csnumber=38059**

212. International Standards Organization. (1997) Biological evaluation of medical devices (ISO 10993).
<http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM348890.pdf>
213. Hensten-Pettersen, A. (1988) Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *International Endodontic Journal*, 21 (2), 89-99.
214. Murray, P.E., Garcia Godoy, C., Garcia Godoy, F. (2007) How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 12 (3), E258-266.
215. Schmalz, G. (1994) Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials- advantages and limitations. *Journal of Dentistry*, 22 (Suppl 2), S6-11.
216. Tuncer, S., Demirci, M. (2011) Dental Materyallerde Biyouyumluluk Değerlendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2, 141-149.
217. Peters, O.A. (2013) Research that matters - biocompatibility and cytotoxicity screening. *International Endodontic Journal*, 46 (3), 195-197.
218. Polyzois, G.L. (1994) In vitro evaluation of dental materials. *Clinical Materials*, 16 (1), 21-60.
219. Schmalz, G., Garhammer, P., Schweiki, H. (1996) A commercially available cell culture device modified for dentin barrier tests. *Journal of Endodontics*, 22 (5), 249-252.
220. Wennberg, A., Hasselgren, G., Tronstad, L. (1979) A method for toxicity screening of biomaterials using cells cultured on millipore filters. *Journal of Biomedical Materials Research*, 13 (1), 109-120.
221. Tang, A.T., Li, J., Ekstrand, J., Liu, Y. (1999) Cytotoxicity tests of in situ polymerized resins: methodological comparisons and introduction of a tissue culture insert as a testing device. *Journal of Biomedical Materials Research*, 45 (3), 214-222.

222. Galluzzi, L., Aaronson, S.A., Abrams, J., Alnemri, E.S., Andrews, D.W., Baehrecke, E.H. ve diğerleri. (2009) Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death and Differentiation*, 16 (8), 1093-1107.
223. Torabinejad, M., Hong, C.U., Pitt Ford, T.R., Kettering, J.D. (1995) Cytotoxicity of four root end filling materials. *Journal of Endodontics*, 21 (10), 489-492.
224. Osorio, R.M., Hefti, A., Vertucci, F.J., Shawley, A.L. (1998) Cytotoxicity of endodontic materials. *Journal of Endodontics*, 24 (2), 91-96.
225. Keiser, K., Johnson, C.C., Tipton, D.A. (2000) Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Endodontics*, 26 (5), 288-291.
226. Lin, C.P., Chen, Y.J., Lee, Y.L., Wang, J.S., Chang, M.C., Lan, W.H. ve diğerleri. (2004) Effects of root-end filling materials and eugenol on mitochondrial dehydrogenase activity and cytotoxicity to human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Biomedical Materials Research*, 71 (2), 429-440.
227. Ribeiro, D.A., Duarte, M.A., Matsumoto, M.A., Marques, M.E., Salvadori, D.M. (2005) Biocompatibility in vitro tests of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements. *Journal of Endodontics*, 31 (8), 605-607.
228. Moazami, F., Shahsiah, S. (2006) The Cellular Behavior and SEM Evaluation of ProRoot and Root MTAs on Fibroblast L929. *Iranian Endodontic Journal*, 1 (3), 87-92.
229. Mozayeni, M.A., Salem Milani, A., Alim Marvasti, L., Mashadi Abbas, F., Modaresi, S.J. (2009) Cytotoxicity of Cold Ceramic Compared with MTA and IRM. *Iranian Endodontic Journal*, 4 (3), 106-111.
230. De-Deus, G., Canabarro, A., Alves, G., Linhares, A., Senne, M.I., Granjeiro, J.M. (2009) Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. *Journal of Endodontics*, 35 (10), 1387-1390.

231. Yuan, Z., Peng, B., Jiang, H., Bian, Z., Yan, P. (2010) Effect of bioaggregate on mineral-associated gene expression in osteoblast cells. *Journal of Endodontics*, 36 (7), 1145-1148.
232. Ma, J., Shen, Y., Stojicic, S., Haapasalo, M. (2011) Biocompatibility of two novel root repair materials. *Journal of Endodontics*, 37 (6), 793-798.
233. Mozayeni, M.A., Milani, A.S., Marvasti, L.A., Asgary, S. (2012) Cytotoxicity of calcium enriched mixture cement compared with mineral trioxide aggregate and intermediate restorative material. *Australian Endodontic Journal*, 38 (2), 70-75.
234. Asgary, S., Moosavi, S.H., Yadegari, Z., Shahriari, S. (2012) Cytotoxic effect of MTA and CEM cement in human gingival fibroblast cells. Scanning electronic microscope evaluation. *The New York State Dental Journal*, 78 (2), 51-54.
235. Gupta, S.K., Saxena, P., Pant, V.A., Pant, A.B. (2013) Adhesion and biologic behavior of human periodontal fibroblast cells to resin ionomer Geristore: a comparative analysis. *Dental Traumatology*, 29 (5), 389-393.
236. Attik, G.N., Villat, C., Hallay, F., Pradelle-Plasse, N., Bonnet, H., Moreau, K. ve diğerleri. (2014) In vitro biocompatibility of a dentine substitute cement on human MG63 osteoblasts cells: Biodentine versus MTA. *International Endodontic Journal*, 47 (12), 1133-1141.
237. Corral Nunez, C.M., Bosomworth, H.J., Field, C., Whitworth, J.M., Valentine, R.A. (2014) Biodentine and mineral trioxide aggregate induce similar cellular responses in a fibroblast cell line. *Journal of Endodontics*, 40 (3), 406-411.
238. Jang, Y.E., Lee, B.N., Koh, J.T., Park, Y.J., Joo, N.E., Chang, H.S. ve diğerleri. (2014) Cytotoxicity and physical properties of tricalcium silicate-based endodontic materials. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 39 (2), 89-94.
239. Poggio, C., Arciola, C.R., Beltrami, R., Monaco, A., Dagna, A., Lombardini, M. ve diğerleri. (2014) Cytocompatibility and antibacterial properties of capping materials. *The Scientific World Journal*, 2014, 181945.

240. Poggio, C., Ceci, M., Beltrami, R., Dagna, A., Colombo, M., Chiesa, M. (2014) Biocompatibility of a new pulp capping cement. *Annali di Stomatologia*, 5 (2), 69-76.
241. Naghavi, N., Ghoddusi, J., Sadeghnia, H.R., Asadpour, E., Asgary, S. (2014) Genotoxicity and cytotoxicity of mineral trioxide aggregate and calcium enriched mixture cements on L929 mouse fibroblast cells. *Dental Materials Journal*, 33 (1), 64-69.
242. Khedmat, S., Dehghan, S., Hadjati, J., Masoumi, F., Nekoofar, M.H., Dummer, P.M. (2014) In vitro cytotoxicity of four calcium silicate-based endodontic cements on human monocytes, a colorimetric MTT assay. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 39 (3), 149-154.
243. Karabucak, B., Setzer, F. (2007) Criteria for the ideal treatment option for failed endodontics: surgical or nonsurgical? *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 28 (7), 391-397.
244. Setzer, F.C., Shah, S.B., Kohli, M.R., Karabucak, B., Kim, S. (2010) Outcome of endodontic surgery: a meta-analysis of the literature--part 1: Comparison of traditional root-end surgery and endodontic microsurgery. *Journal of Endodontics*, 36 (11), 1757-1765.
245. Pommel, L., Jacquot, B., Camps, J. (2001) Lack of correlation among three methods for evaluation of apical leakage. *Journal of Endodontics*, 27 (5), 347-350.
246. Theodosopoulou, J.N., Niederman, R. (2005) A systematic review of in vitro retrograde obturation materials. *Journal of Endodontics*, 31 (5), 341-349.
247. Mead, C., Javidan-Nejad, S., Mego, M.E., Nash, B., Torabinejad, M. (2005) Levels of evidence for the outcome of endodontic surgery. *Journal of Endodontics*, 31 (1), 19-24.
248. Adel, M., Nima, M.M., Shivaie Kojoori, S., Norooz Oliaie, H., Naghavi, N., Asgary, S. (2012) Comparison of endodontic biomaterials as apical barriers in simulated open apices. *ISRN Dentistry*, 2012 359873.

249. Gilheany, P.A., Figdor, D., Tyas, M.J. (1994) Apical dentin permeability and microleakage associated with root end resection and retrograde filling. *Journal of Endodontics*, 20 (1), 22-26.
250. Milani, A.S., Shakouie, S., Borna, Z., Sighari Deljavan, A., Asghari Jafarabadi, M., Pournaghi Azar, F. (2012) Evaluating the Effect of Resection on the Sealing Ability of MTA and CEM Cement. *Iranian Endodontic Journal*, 7 (3), 134-138.
251. Yavari, H.R., Samiei, M., Shahi, S., Aghazadeh, M., Jafari, F., Abdolrahimi, M. ve diğ erleri. (2012) Microleakage comparison of four dental materials as intra-orifice barriers in endodontically treated teeth. *Iranian Endodontic Journal*, 7 (1), 25-30.
252. Nazari Moghadam, K., Aghili, H., Rashed Mohasel, A., Zahedpasha, S., Moghadamnia, A.A. (2014) A in-vitro comparative study on bacterial leakage of mineral trioxide aggregate, calcium enriched cement and bone cement in furcal perforations. *Minerva Stomatologica*, 2014 Jul 8. [Epub ahead of print].
253. Haghgoo, R., Arfa, S., Asgary, S. (2013) Microleakage of CEM Cement and ProRoot MTA as Furcal Perforation Repair Materials in Primary Teeth. *Iranian Endodontic Journal*, 8 (4), 187-190.
254. Raskin, A., Eschrich, G., Dejoui, J., About, I. (2012) In vitro microleakage of Biodentine as a dentin substitute compared to Fuji II LC in cervical lining restorations. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 14 (6), 535-542.
255. Koubi, S., Elmerini, H., Koubi, G., Tassery, H., Camps, J. (2012) Quantitative evaluation by glucose diffusion of microleakage in aged calcium silicate-based open-sandwich restorations. *International Journal of Dentistry*, 2012, 105863.
256. De Souza, E.T., Nunes Tameirao, M.D., Roter, J.M., De Assis, J.T., De Almeida Neves, A., De-Deus, G.A. (2013) Tridimensional quantitative porosity characterization of three set calcium silicate-based repair cements for endodontic use. *Microscopy Research and Technique*, 76 (10), 1093-1098.

257. Basturk, F.B., Nekoofar, M.H., Gunday, M., Dummer, P.M. (2014) Effect of various mixing and placement techniques on the flexural strength and porosity of mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 40 (3), 441-445.
258. Camilleri, J., Grech, L., Galea, K., Keir, D., Fenech, M., Formosa, L. ve diğeri. (2014) Porosity and root dentine to material interface assessment of calcium silicate-based root-end filling materials. *Clinical Oral Investigations*, 18 (5), 1437-1446.
259. Caliskan, M.K., Parlar, N.K., Orucoglu, H., Aydin, B. (2010) Apical microleakage of root-end cavities prepared by Er, Cr: YSGG laser. *Lasers in Medical Science*, 25 (1), 145-150.
260. Müller Ramalho, K., Martins Marques, M., Apel, C., Thais Meneguzzo, D., de Paula Eduardo, C., Gutknecht, N. (2005) Morphological analysis of root canal walls after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation: a preliminary SEM investigation. *Journal of Oral Laser Applications* 5(2), 91-96.
261. Bird, D.C., Komabayashi, T., Guo, L., Opperman, L.A., Spears, R. (2012) In vitro evaluation of dentinal tubule penetration and biomineralization ability of a new root-end filling material. *Journal of Endodontics*, 38 (8), 1093-1096.
262. Komabayashi, T., Spangberg, L.S. (2008) Comparative analysis of the particle size and shape of commercially available mineral trioxide aggregates and Portland cement: a study with a flow particle image analyzer. *Journal of Endodontics*, 34 (1), 94-98.
263. Soheilipour, E., Kheirieh, S., Madani, M., Akbarzadeh Baghban, A., Asgary, S. (2009) Particle size of a new endodontic cement compared to Root MTA and calcium hydroxide. *Iranian Endodontic Journal*, 4 (3), 112-116.
264. Batista de Faria-Junior, N., Tanomaru-Filho, M., Guerreiro-Tanomaru, J.M., de Toledo Leonardo, R., Camargo Villela Berbert, F.L. (2009) Evaluation of ultrasonic and ErCr:YSGG laser retrograde cavity preparation. *Journal of Endodontics*, 35 (5), 741-744.
265. Rahimi, S., Yavari, H.R., Shahi, S., Zand, V., Shakoui, S., Reyhani, M.F. ve diğeri. (2010) Comparison of the effect of Er, Cr-YSGG laser and ultrasonic

- retrograde root-end cavity preparation on the integrity of root apices. *Journal of Oral Science*, 52 (1), 77-81.
266. Aydemir, S., Cimilli, H., Hazar Yoruc, A.B., Kartal, N. (2013) Evaluation of two different root-end cavity preparation techniques: A scanning electron microscope study. *European Journal of Dentistry*, 7 (2), 186-190.
267. Taschieri, S., Del Fabbro, M., Testori, T., Francetti, L., Weinstein, R. (2005) Endodontic surgery with ultrasonic retrotips: one-year follow-up. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 100 (3), 380-387.
268. Yoshimura, M., Marshall, F.J., Tinkle, J.S. (1990) In vitro quantification of the apical sealing ability of retrograde amalgam fillings. *Journal of Endodontics*, 16 (1), 5-12.
269. Gaspirc, B., Skaleric, U. (2001) Morphology, chemical structure and diffusion processes of root surface after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation. *Journal of Clinical Periodontology*, 28 (6), 508-516.
270. Li, Z.Z., Code, J.E., Van De Merwe, W.P. (1992) Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. *Lasers in Surgery and Medicine*, 12 (6), 625-630.
271. Aoki, A., Ishikawa, I., Yamada, T., Otsuki, M., Watanabe, H., Tagami, J. ve diğ erleri. (1998) Comparison between Er:YAG laser and conventional technique for root caries treatment in vitro. *Journal of Dental Research*, 77 (6), 1404-1414.
272. Shokouhinejad, N., Razmi, H., Fekrazad, R., Asgary, S., Neshati, A., Assadian, H. ve diğ erleri. (2012) Push-out bond strength of two root-end filling materials in root-end cavities prepared by Er,Cr:YSGG laser or ultrasonic technique. *Australian Endodontic Journal*, 38 (3), 113-117.
273. Camilleri, J., Pitt Ford, T.R. (2006) Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. *International Endodontic Journal*, 39 (10), 747-754.

274. Camilleri, J., Sorrentino, F., Damidot, D. (2013) Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dental Materials*, 29 (5), 580-593.
275. Schembri, M., Peplow, G., Camilleri, J. (2010) Analyses of heavy metals in mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Journal of Endodontics*, 36 (7), 1210-1215.
276. Monteiro Bramante, C., Demarchi, A.C., de Moraes, I.G., Bernadineli, N., Garcia, R.B., Spangberg, L.S. ve diğeri. (2008) Presence of arsenic in different types of MTA and white and gray Portland cement. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 106 (6), 909-913.
277. Camilleri, J., Kralj, P., Veber, M., Sinagra, E. (2012) Characterization and analyses of acid-extractable and leached trace elements in dental cements. *International Endodontic Journal*, 45 (8), 737-743.
278. Min, K.S., Chang, H.S., Bae, J.M., Park, S.H., Hong, C.U., Kim, E.C. (2007) The induction of heme oxygenase-1 modulates bismuth oxide-induced cytotoxicity in human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*, 33 (11), 1342-1346.
279. Kim, E.C., Lee, B.C., Chang, H.S., Lee, W., Hong, C.U., Min, K.S. (2008) Evaluation of the radiopacity and cytotoxicity of Portland cements containing bismuth oxide. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 105 (1), e54-57.
280. Gomes Cornelio, A.L., Salles, L.P., Campos da Paz, M., Cirelli, J.A., Guerreiro-Tanomaru, J.M., Tanomaru Filho, M. (2011) Cytotoxicity of Portland cement with different radiopacifying agents: a cell death study. *Journal of Endodontics*, 37 (2), 203-210.
281. Asgary, S., Eghbal, M.J., Ehsani, S. (2010) Periradicular regeneration after endodontic surgery with calcium-enriched mixture cement in dogs. *Journal of Endodontics*, 36 (5), 837-841.

282. Asgary, S., Ehsani, S. (2009) Permanent molar pulpotomy with a new endodontic cement: A case series. *Journal of Conservative Dentistry*, 12 (1), 31-36.
283. Asgary, S., Eghbal, M.J. (2010) The effect of pulpotomy using a calcium-enriched mixture cement versus one-visit root canal therapy on postoperative pain relief in irreversible pulpitis: a randomized clinical trial. *Odontology*, 98 (2), 126-133.
284. Asgary, S., Eghbal, M.J. (2010) A clinical trial of pulpotomy vs. root canal therapy of mature molars. *Journal of Dental Research*, 89 (10), 1080-1085.
285. Nosrat, A., Seifi, A., Asgary, S. (2013) Pulpotomy in caries-exposed immature permanent molars using calcium-enriched mixture cement or mineral trioxide aggregate: a randomized clinical trial. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 23 (1), 56-63.
286. Nowicka, A., Lipski, M., Parafiniuk, M., Sporniak-Tutak, K., Lichota, D., Kosierkiewicz, A. ve diğ erleri. (2013) Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 39 (6), 743-747.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



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








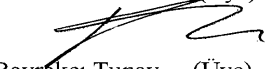

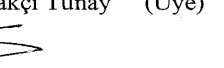



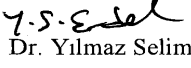
Sayı : 16969557 – 35

10 Ocak 2014

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 08.01.2014 ÇARŞAMBA
Toplantı No : 2014/01
Proje No : GO 13/545 (Değerlendirme Tarihi 20.11.2013)
Karar No : GO 13/545 - 12

Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Mehmet Ömer GÖRDUYSUS'un sorumlu araştırmacısı olduğu Dt.Selen KÜÇÜKKAYA, Doç.Dr.Naciye Dilara ZEYBEK ve Prof.Dr.Sevda Fatma MÜFTÜOĞLU ile birlikte çalışacakları GO13/545 kayıt numaralı ve "Farklı Kök Ucu Dolgu Maddelerinin Sitotoksik Etkilerinin Karşılaştırılması Olarak Değerlendirilmesi" başlıklı proje önerisi araştırmının gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | | | |
|-----------------------------------|---|--------------------------------------|--|
| 1. Prof. Dr. Nurten Akarsu | 
(Başkan) | 9 Prof. Dr. Melahat Görduysus | (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Nüket Örnek Buken | 
(Üye) | 10. Prof. Dr. Cansın Saçkesen | (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yılmaz Sara | 
(Üye) | 11. Prof. Dr. R. Köksal Özgül | 
(Üye) |
| İZİNLİ | | 12. Prof. Dr. Ayşe Lale Doğan | 
(Üye) |
| 4. Prof. Dr. Sevda F. Müftüoğlu | 
(Üye) | 13 Doç. Dr. S. Kutay Demirkan | 
(Üye) |
| 5. Prof. Dr. Cenk Sökmensüer | 
(Üye) | 14. Prof. Dr Leyla Dineç | 
(Üye) |
| 6. Prof. Dr. Volga Bayrakçı Tunay | 
(Üye) | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev Turnagöl | 
(Üye) |
| 7. Prof. Dr. Songül Waizoğlu | 
(Üye) | 16. Av. Meltem Onurlu | 
(Üye) |
| 8. Prof. Dr. Yılmaz Selim Erdal | 
(Üye) | | |



Sayı: 16969557 - 330

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 13.03.2013 ÇARŞAMBA
Toplantı No : 2013/05
Proje No : GO 13/106 (Değerlendirme Tarihi 13.02.2013)
Karar No : GO 13/106 - 16

Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, öğretim üyelerinden Prof. Dr. Mehmet Ömer Görduysus'un sorumlu araştırmacı olduğu Dt. Selen Küçükkaya'nın tezi olan GO 13/106 kayıt numaralı ve "Farklı Retrograd Dolgu Maddelerinin Çeşitli Retrograd Kavite Preparasyon Yöntemlerine Bağlı Olarak Apikal Sızıntı ve Kenar Uyumlarının Karşılaştırılması Olarak Değerlendirilmesi" başlıklı proje önerisi Kurulumuzda değerlendirilmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|---|---|
| 1. Prof. Dr. Nurten Akarsu (Başkan) | 8. Prof. Dr. Cansın Saçkesen (Üye) |
| İZİNLİ | Dosyanın görüşülmesi esnasında toplantıda bulunmadı |
| 2. Prof. Dr. Nüket Örnek Buken (Üye) | 9. Prof. Dr. Melahat Görduysus (Üye) |
| 3. Prof. Dr. Songül Vaizoğlu (Üye) | 10. Doç. Dr. R. Köksal Özgül (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Sevdâ F. Müftüoğlu (Üye) | 11 Doç. Dr. Ayşe Lale Doğan (Üye) |
| Prof. Dr. Cenk Sökmensüer (Üye) | İZİNLİ |
| 6. Prof. Dr. Yılmaz Selim Erdal (Üye) | 12. Doç. Dr. S. Kutay Demirkan (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Volga Bayrakçı Tunay (Üye) | KATILMADI |
| | 13. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev Turnagöl (Üye) |
| | 14. Av. Meltem Onurlu (Üye) |