

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**2-HİDROKSİİZOKAPROİK ASİTİN KÖK KANALINDAN
UZAKLAŞTIRILABİLİRLİĞİNİN VE MTA'NIN BAĞLANMA DAYANIMINA
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Dt. Sıla Nur USTA

Endodonti Programı

UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2021

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**2-HİDROKSİİZOKAPROİK ASİTİN KÖK KANALINDAN
UZAKLAŞTIRILABİLİRLİĞİNİN VE MTA'NIN BAĞLANMA DAYANIMINA
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Dt. Sıla Nur USTA

Endodonti Programı

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Ayhan EYMİRLİ

ANKARA

2021

ONAY SAYFASI

BEYAN SAYFASI

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Dr. Öğr. Üyesi Ayhan EYMiRLi danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Sıla Nur Usta

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana örnek olan, bu süreçteki zorluklarda desteğini esirgemeyen sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Ayhan Eymirli'ye,

Hem tezimde hem de diğer çalışmalarımda bana destek olan Doç. Dr. Emel Uzunoğlu Özyürek'e,

Tezimin deneylerinin bir kısmını yapmamda bana üniversitesinin kapılarını açarak koşulsuz yardımcı olan Doç. Dr. Suat Özcan'a,

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Zeliha Yılmaz'a, Prof. Dr. Özgür Uyanık'a, Doç. Dr. Behram Tuncel'e, Doç. Dr. Emre Altundaşar'a ve Doç. Dr. Derya Deniz Sungur'a olmak üzere Endodonti Anabilim Dalı'nda yolumun kesiştiği, bilgi ve birikimlerinden yararlandığım tüm hocalarıma,

Araştırma yapmak üzere beni Granada Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na kabul eden, bu süreçte desteğini ve sevgisini her zaman gösteren Doç. Dr. Teresa Arias Moliz'e ve arkadaşlığı için Dr. Antonio Magan Fernandez'e,

Uzmanlık sürecimin her dakikasında beraber olmaktan ve aynı odayı paylaşmaktan zevk aldığım Dt. Begüm Cömert'e, Dt. Gizem Özdemir'e, Dt. Nilay Ezentaş'a ve diğer tüm asistan arkadaşlarıma,

Her zaman desteklerini hissettiğim başta annelerim Saadet Deniz'e ve Sebahat Usta'ya, babalarım Şevket Deniz'e ve Mehmet Usta'ya ve biricik kardeşim Buğra Deniz'e olmak üzere tüm aileme,

Ve de en önemlisi; tüm bunları anlamlı kılan, bütün hayallerimi gerçekleştiren, hayattaki en büyük şansım, en iyi arkadaşım, canım eşim Eray Usta'ya,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Usta, SN. 2-Hidroksiizokaproik asitin kök kanalından uzaklaştırılabilirliğinin ve MTA'nın bağlanma dayanımına etkisinin incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara, 2021. Bu çalışmanın amacı, rejeneratif tedavilerde kullanılması önerilen 2-Hidroksiizokaproik asitin (HICA) kök kanalından uzaklaştırılabilirliğini; ikili antibiyotik patı (DAP) ve kalsiyum hidroksit (Ca(OH)_2) ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmek ve mineral trioksit agregatın (MTA) dentine bağlanma dayanımına etkisini incelemektir. Çalışma kapsamında 126 adet tek kanallı diş kullanılmıştır. Dişlerin dekorone edilmesini takiben, standart bir iç çap elde etmek ve dişleri immatür diş formuna getirmek için, kök kanalları ProTaper eğe sistemi ve #1-6 numara Peeso reamerlar ile prepare edilmiştir. Dişler; DAP, HICA ve Ca(OH)_2 'nin uygulandığı 3 deney grubuna (n=108) ayrılmıştır. 18 diş kontrol grubu olarak kullanılmıştır. 3 hafta sonra her gruptan 18 diş HICA'nın kök kanalından uzaklaştırılabilirliği kapsamında incelenmiştir. Kanal içinde kalan ilaçlar Image J programında poligonlar ile belirlenmiş ve ölçülmüştür. 72 diş (3 deney ve 1 kontrol grubu) bağlanma dayanımı kapsamında kullanılmıştır. Kanal içi ilaçların uzaklaştırılmasını takiben MTA koronal 4 mm'ye yerleştirilmiş ve bağlanma dayanımı push-out testi ile ölçülmüştür. Kırılma tipleri kaydedilmiştir. Veriler istatistiksel olarak analiz edilmiştir. DAP, HICA ve Ca(OH)_2 arasında kök kanalından uzaklaştırılabilirlik açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bununla birlikte, HICA grubunda MTA'nın bağlanma dayanımı diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde daha düşük çıkmıştır ($p<0.05$). Tüm dişler bazında karışık tip kırıklar daha yüksek oranda gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda, DAP, HICA ve Ca(OH)_2 'yi kök kanalından tam olarak uzaklaştırmak mümkün değildir. HICA diğer ilaçlara oranla önemli ölçüde daha az bağlanma değerine sahiptir. HICA'nın yüksek antibakteriyel özelliklerine ve pulpa hücreleri üzerindeki düşük sitotoksik etkisine rağmen, rejeneratif tedavilerde kullanılacaksa bağlanma dayanımını azaltıcı etkisi göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: 2-hidroksiizokaproik asit, ikili antibiyotik patı, kalsiyum hidroksit, mineral trioksit agregat

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir (TDH-2020-18705).

ABSTRACT

Usta, SN. Evaluation of the removal of 2-Hydroxyisocaproic acid from the root canal and its effect on the bond strength of MTA. Hacettepe University, Faculty of Dentistry, Department of Endodontics, Specialization Thesis, Ankara, 2021. The aim of this study was to evaluate the removal of 2-Hydroxyisocaproic acid (HICA) from the root canal space and its effect on the bond strength of the mineral trioxide aggregate (MTA) in comparison with double antibiotic paste (DAP) and calcium hydroxide (CH). In this study, 126 single-canal teeth were selected. After decoronation of teeth, they were instrumented with ProTaper rotary system and #1 to #6 Peeso reamers in order to obtain a standard internal diameter and stimulate immature teeth model. Teeth were randomly divided into 3 experimental groups (n=108) that were treated with DAP, HICA, and CH. 18 teeth were used as a control group. After 3 weeks, 18 teeth from each experimental group (n=54) were examined within the scope of the removal of HICA from the root canal. The remaining intracanal medicaments were determined with Image J software using polygons and measured. 72 teeth (3 experimental groups and a control group) were used within the scope of the evaluation of the bond strength of the MTA. Following the removal of the intracanal medicaments, MTA was applied into the coronal 4 mm. The bond strength between MTA and dentin was measured by using push-out test. Moreover, failure types were also recorded. Data were statistically analysed. There was no statistically significant difference between HICA, DAP, and CH groups in terms of removability ($p>0.05$). Bond strength of the MTA had significantly less in the HICA group compared to other groups ($p<0.05$). There was a predominance of mix failures between root dentin and MTA. According to the results of this study, DAP, HICA and CH could not be removed entirely from root canal space. HICA had significantly lower bond strength values than DAP and CH. Despite the high antibacterial properties of HICA and its low cytotoxic effect on pulp cells, the effect of reducing bond strength of the MTA should be considered while using HICA in regenerative treatments.

Keywords: 2-Hydroxyisocaproic acid, calcium hydroxide, double antibiotic paste, mineral trioxide aggregate

This thesis study was supported by Hacettepe University Scientific Research Foundation Project (TDH-2020-18705).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
BEYAN SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kök Gelişim Süreci	4
2.2. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Gerektiren Durumlar	4
2.3. Rejeneratif Endodontik Tedavi	6
2.3.1. Doku Mühendisliği	7
2.4. Rejeneratif Endodontik Tedaviler İçin Potansiyel Teknolojiler	16
2.4.1. Kök Kanalının Revaskülarizasyonu	16
2.4.2. Kök Hücre Tedavisi	20
2.4.3. Pulpa İmplantasyonu	21
2.4.4. Doku İskelesi İmplantasyonu	22
2.4.5. Enjekte Edilebilir Doku İskelesi	23
2.4.6. Üç Boyutlu Hücre Yazılımı	23
2.4.7. Gen Terapisi	24
2.5. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Yeni Doku Oluşum Mekanizması	25
2.6. Rejeneratif Endodontik Tedavilerin Avantajları	26
2.7. Rejeneratif Endodontik Tedavilerin Dezavantajları	27
2.8. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Kök Kanal Sisteminin Dezenfeksiyonu	27
2.9. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Kullanılan Kanal İçi İlaçlar	29
2.9.1. Kalsiyum Hidroksit	29

2.9.2. Antibiyotik Patları	30
2.9.3. 2-Hidroksiizokaproik Asit	31
2.10. Rejeneratif Endodontik Tedavide Kullanılan Kalsiyum Silikat Esaslı Simanlar	34
2.10.1. Mineral Trioksit Agregat (MTA)	34
2.11. Bağlanma (Adezyon)	39
2.12. Push-out Testi	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1. HICA'nın Kök Kanal Sisteminden Uzaklaştırılabilirliğinin Değerlendirilmesi	42
3.1.1. Dişlerin Seçimi, Hazırlanması ve Kök Kanal Sistemlerinin Şekillendirilmesi	42
3.1.2. Dişlerin Gruplara Ayrılması ve Kanal İçi Medikamentlerin Uygulanması	43
3.1.3. Kanal İçi İlaçların Uzaklaştırılması ve Kalan İlaç Miktarının İncelenmesi	46
3.2. Kanal İçi İlaçların Bariyer Materyalinin Bağlanma Dayanımına Etkisi	48
3.2.1. Kanal İçi İlaçların Uzaklaştırılması ve Bariyer Materyali Olarak Kullanılacak Olan Simanın Uygulanması	48
3.2.2. Hazırlanan Dişlerden Kesit Alınması	50
3.3. Push-out Bağlanma Dayanımı Testi	51
3.4. Kırılma Tiplerinin Analizi	53
3.5. İstatistiksel Analiz	54
4. BULGULAR	55
4.1. Kanal İçi İlaçların Uzaklaştırılmasına Ait Bulgular	55
4.2. Bağlanma Dayanımına Ait Bulgular	56
4.3. Kırılma Tiplerinin Analizine Ait Bulgular	57
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	72
7. KAYNAKLAR	73
8. ÖZGEÇMİŞ	95

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAE	: Amerikan Endodonti Derneği
AFM	: Otojen Fibrin Matrisi
BMP	: Kemik Morfojenik Proteini
C	: Santigrat
Ca(OH)₂	: Kalsiyum Hidroksit
Ca⁺²	: Kalsiyum İyonu
CaCO₃	: Kalsiyum Karbonat
CaO	: Sönmemiş Kreç
CHX	: Klorheksidin
DAP	: Double Antibiotic Paste (2'li Antibiyotik Patı)
DFSCs	: Dental Folikül Kök Hücreleri
DPSCs	: Dental Pulpa Kök Hücreleri
E. faecalis	: Enterococcus Faecalis
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
FGF-2	: Fibroblast Büyüme Faktörü 2
H₂O	: Su
HBF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
HERS	: Hertwig Epitelyal Kök Kını
HICA	: 2-hidroksiizokaproik Asit
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
iPAPCs	: İnflamatuar Periapikal Progenitör Kök Hücreleri
KICA	: 2-Ketoizokaproik Asit
MTA	: Mineral Trioksit Agregat
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
OH	: Hidroksil İyonu
PCL	: Poliepsilon Kaprolakton
PDGF	: Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü
PDLSCs	: Periodontal Ligament Kök Hücreleri

PGA	: Poliglikolik Asid
PLA	: Polilaktik Asit
PLGA	: Polilaktikkoglikolik Asit
PRF	: Trombositten Zengin Fibrin
PRP	: Trombositten Zengin Plazma
PUI	: Pasif Ultrasonik İrrigasyon
RET	: Rejeneratif Endodontik Tedavi
SCAPs	: Apikal Papilla Kök Hücreleri
SHEDs	: Süt Dişı Pulpası Kök Hücreleri
TAP	: Triple Antibiotic Paste (3'lü Antibiyotik Patı)
TGFβ	: Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Doku mühendisliğinin 3 temel unsuru.	7
2.2. Dental kök hücreler (10).	10
2.3. Büyüme faktörleri.	15
2.4. Rejeneratif endodontik tedavi protokolü.	20
2.5. Lösün degradasyon yolunun şematik gösterimi.	32
3.1. Dekorone edilmiş ve standart bir çap oluşturulmuş tek köklü dişlerin hazırlanması.	43
3.2. Kanal içerisinde kullanılan DAP (a), HICA (b) ve Ca(OH) ₂ 'nin hazırlanması.	45
3.3. Çalışma kapsamında kullanılan steromikroskop.	47
3.4. Image J programında koronal 4 mm'lik alanın belirlenerek poligonlar yardımıyla alanının ölçülmesi (Kırmızı kutu içerisindeki rakam alanı göstermektedir).	47
3.5. Image J programında koronal 4 mm'lik alan içerisinde uzaklaşmadan kalan ilacın poligonlar yardımıyla alanının ölçülmesi (Kırmızı kutu içerisindeki rakam uzaklaşmayan kanal içi ilaç alanını göstermektedir).	48
3.6. Kanal içi ilaçların kök kanal sisteminden uzaklaştırılabilirliğinin değerlendirilmesi kapsamında gerçekleştirilen deneylerin akış şeması.	48
3.7. ProRoot MTA'nın hazırlanması.	49
3.8. ProRoot MTA konulan dişlerin periapikal radyografi ile kontrolü.	50
3.9. Dişlerin akrilik kalıplara gömülmesi.	51
3.10. Kesit alma cihazı (a), örneklerin yerleştirilmesi ve kesit alanı görüntüsü (b).	51
3.11. Push-out testinde kullanılan evrensel test cihazı.	52
3.12. Örneklere 1 mm/dk olacak şekilde kuvvet uygulanması.	52
3.13. TRAPEZIUM2 veri analiz programı.	53
3.14. Kanal içi ilaçların, ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımına etkisinin incelendiği deneylerin akış şeması.	54
4.1. DAP (a), HICA (b) ve Ca(OH) ₂ (c) gruplarında kanal içerisinde kalan ilaçlar.	55
4.2. Gruplar bazında kanal içerisinde kalan ilaç miktarı (%).	56
4.3. ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımı değerleri.	57
4.4. Gruplar bazında kırılma tiplerinin yüzdeleri.	58

- 4.5.** 1,2 ve 3 nolu resimler adeziv, koheziv ve karışık tipte kırılmayı göstermektedir. A, B ve C ise sırasıyla 1X, 2X ve 3X büyütme simgelemektedir.

TABLULAR

Tablo	Sayfa
4.1. Gruplar bazında kanal içerisinde kalan ortalama ilaç miktarı (%) ve standart sapma değerleri.	56
4.2. Gruplar bazında göre ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımı.	57
4.3. Kırılma tiplerinin analizi.	58

1. GİRİŞ

İmmatür dişler; travma, çürük, dens evaginatus ve dens invaginatus gibi anatomik varyasyonlar nedeniyle pulpal nekroz gelişme açısından risk altındadır (1). Pulpa canlılığının kaybolduğu durumlarda, dentin deposiyonu durmakta ve kök gelişimi tamamlanamamaktadır. Bununla birlikte, immatür dişlerin canlılığını kaybetmesiyle birlikte endodontik tedavi ihtiyacı da ortaya çıkmaktadır. Ancak immatür dişlerde oluşan ince ve kırılabilir dentin duvarları, kısa ve geniş kök kanalları ile tam olarak kapanmanın sağlanamadığı açık kök apeksleri ideal endodontik tedavilerin yapılmasında önemli bir zorluk teşkil etmektedir (2).

İmmatür devital dişlerde apikal kapanma (apeksogenezis) gerçekleşmediğinden, kök kanal boşluğunun geleneksel yöntemlerle sızdırmaz bir şekilde doldurulması mümkün olmamaktadır. Bu durumda apeksifikasyon tekniği, devital immatür dişlerin kök apeksinde kalsifiye bir bariyer oluşturarak apikal kapanmanın sağlanması açısından sıklıkla tercih edilen bir yöntem olmuştur (3). Yakın zamana kadar kanal içinde geçici olarak kalsiyum hidroksit ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) 6-18 ay aralığında değiştirilerek kullanılması ile apikal bölgede kalsifik bir bariyer stimülasyonu sağlanmaya çalışılmıştır (4). Fakat uzun dönem $\text{Ca}(\text{OH})_2$ uygulaması, dentinin mekanik özelliklerini etkileyebilmekte ve özellikle dişlerin kırılmaya olan dirençlerini düşürebilmektedir (5). Bu nedenle geleneksel apeksifikasyon tedavilerine alternatif olarak, mineral trioksit agregat (MTA) ile tek seferde yapılan apikal kapama tekniği gündeme gelmiştir. MTA ile yapılan bariyer oluşturma tekniği; daha kısa zaman alması, hastanın yapılan işlemi daha kolay tolere edebilmesi ve dişin daha erken dönemde restore edilebilmesi gibi avantajlara sahiptir (3, 6). Tek seansta yapılan apeksifikasyon tedavilerinin avantajlarına rağmen, bu tedavi ile kök gelişiminin devamı sağlanamamaktadır. Ayrıca bu yöntemle tedavi edilen dişlerin kök dentin duvarları ince kalmakta ve kırılmaya olan dirençleri düşmektedir (7). Bu nedenle araştırmacılar immatür nekrotik dişler için biyolojik temellere dayanan ve

rejeneratif endodontik tedavi (RET) adı verilen yeni bir tedavi prosedürünü tanıtmışlardır (8).

RET; dentin, kök ve pulpa-dentin kompleksindeki hücreler gibi zarar görmüş yapıların tercihen aynı orjinli dokular ile yer değiştirmesini sağlayan biyolojik temelli prosedürler olarak tanımlanmaktadır (9). Bu tedavi yöntemi, pulpanın normal fizyolojik fonksiyonlarının ve kök gelişiminin devam etmesini, kök apeksinin kapanmasını (maturogenesis) ve dişin canlılığını geri kazandırmayı amaçlamaktadır (10). Amerikan Endodonti Derneği (AAE) tarafından önerilen klinik hususlar ve tedavi protokolüne göre tedavinin ilk seansında kök kanal boşluğu dezenfekte edilmeli, seçilen bir kanal içi ilaç kanal içerisine yerleştirilmeli ve diş geçici olarak kapatılmalıdır. İkinci seansta ise kök kanal boşluğuna yerleştirilen kanal içi ilaç irrigasyon ile uzaklaştırılmalı, endodontik bir enstrüman yardımıyla kanal dışına çıkılarak kanama odağı oluşturulmalı ve daha sonra uygun bir kalsiyum silikat esaslı siman, bariyer materyali olarak koronal 3-4 mm olacak şekilde yerleştirilmelidir (11). Genellikle bariyer materyali olarak biyouyumlu, sızdırmaz ve antibakteriyel özelliklerinden dolayı MTA kullanılmaktadır (12, 13).

RET'in uzun dönemde başarı sağlaması için kök kanal boşluğu tam olarak temizlenmeli ve kök kanal sisteminin tekrar enfekte olması önlenmelidir (14). Fakat RET'in uygulanacağı dişlerde kök kanalını mekanik olarak temizlemek ince dentin duvarları ve açık kök apeksi sebebiyle güç olmaktadır. Bununla birlikte mekanik temizlik sonrası ortaya çıkan smear tabakasının RET prosedürünü olumsuz etkileyeceği için mekanik preparasyondan kaçınılmalıdır. Bu nedenle kanal içi enfeksiyonu elimine etmek için kimyasal irrigasyon ve kanal içi ilaç uygulamasından yararlanılmaktadır (15). Sodyum hipoklorit (NaOCl) dentin duvarlarının dezenfeksiyonu için en çok kullanılan irrigant olsa da yapılan çalışmalarda NaOCl'nin revaskülarizasyon için gerekli koşulları yerine getiremediği bildirilmiştir (16). Bu nedenle kanal dezenfeksiyonunu sağlamak amacıyla yaygın olarak; metronidazol, siprofloksasin ve minosiklinden oluşan 3'lü antibiyotik patı (TAP), minosiklinin renklenmeye sebep olmasından dolayı çıkarılarak elde edilen 2'li antibiyotik patı

(DAP) ve Ca(OH)_2 kullanılmaktadır (17). Ancak rutinde kullanılan TAP, DAP ve Ca(OH)_2 'nin üstün antimikrobiyal özelliklerinin yanında renklenmeye sebep olmaları, kanaldan tam olarak uzaklaştırılmamaları, patların ve RET'de bariyer materyali olarak kullanılan kalsiyum silikat esaslı materyallerin dentine bağlanma dayanımlarını düşürmeleri gibi yan etkileri dolayısıyla alternatif ilaçlar araştırılmaktadır (8, 18-20).

Son yıllarda yapılan genotoksik ve sitotoksik çalışmalar sonucu rejeneratif tedavilerde kanal içi ilaç olarak, lüsik asit olarak da bilinen 2-hidroksiizokaproik asit (HICA) önerilmektedir (21). HICA, geniş spektrumlu antibakteriyel ve antifungal etkinliğe sahiptir (22, 23). HICA, antibakteriyel özellikleri benzer olan ve kanal içi ilaç olarak rutinde sıkça kullanılan Ca(OH)_2 ile standart konsantrasyonda karşılaştırıldığında, HICA'nın periodontal ligament kök hücreleri üzerinde çok daha az sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu nedenle ileriki çalışmalarla birlikte HICA'nın rejeneratif tedavilerde kanal içi ilaçlara alternatif olabileceği ortaya konmuştur (21).

Literatürde yapılan çalışmalar HICA'nın antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip olduğunu göstermiş fakat HICA'nın kök kanalından uzaklaştırılabilirliği ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Buna bağlı olarak HICA'nın, RET'de bariyer materyali olarak kullanılan kalsiyum silikat esaslı materyallerin bağlanma dayanımlarına etkisi de incelenmemiştir. Bu nedenle bu çalışmanın amacı, HICA'nın kök kanalından uzaklaştırılabilirliğini rutinde kullanılan kanal içi ilaçlarla (DAP ve Ca(OH)_2) karşılaştırmalı olarak değerlendirmek ve kalsiyum silikat esaslı bariyer materyalinin (ProRoot MTA) dentine bağlanma dayanımına etkisini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kök Gelişim Süreci

Mine ve dentin formasyonu mine-sement birleşimine ulaştığında diş kökü oluşmaya başlamaktadır. İç ve dış mine epiteli çoğalarak biraraya gelmekte ve bu yapının iç kısmında, pulpa kavitesine ya da kök kanalına dönüşecek olan, bir çeşit diyafram oluşmaktadır. Mine tabakası bu hücresel diyaframı oluşturduğunda, Hertwig epitelyal kök kınının (HERS) oluşum süreci başlamaktadır (24, 25).

HERS, kök ucunu şekillendirmek üzere apikale doğru proliferasyon olmaktadır. Bu aşamada kının iç kısmına komşu bağ dokusu hücrelerinin farklılaşması ile kök dentininin yapımını başlatacak olan odontoblast hücreleri oluşmaktadır. Daha sonra HERS, kök dentininden ayrılarak dağınık, devamsız ve kısmen görünmez bir hal almaktadır. Kök oluşumu, diş besleyen damar ve sinirlerin girip çıktığı apikal foramen adı verilen, diş kökünün en uç kısmının şekillenmesiyle tamamlanmaktadır. Diş kökünün gelişimi dişler oklüzyona geldikten sonra da devam etmekte ve yaklaşık olarak dişin sürmesinden 3 yıl sonra tamamlanmaktadır (26, 27).

2.2. İmmatür Dişlerde Endodontik Tedavi Gerektiren Durumlar

İmmatür daimi dişler, kök gelişimi tamamlanmamış ve kök apeksindeki kapanma gerçekleşmemiş olan dişleri ifade etmektedir. Daimi dişler ağız ortamında görünür hale geldikten sonra kök gelişimlerinin tamamlanması yaklaşık 3 yıl sürmektedir (28). Bu süreç içinde, pulpanın canlılığını kaybetmesi nedeniyle, HERS'e sağlanan kan akışının durması; hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını bozarak kök gelişiminin durmasına neden olabilmektedir (29). Kök gelişiminin durduğu dönem içerisinde travma, diş çürüğü ve dental anomaliler nedeniyle immatür daimi dişler nekrotik hale gelebilmektedir (30-32). Nekrotik immatür daimi dişlerin, açık ve geniş kök apeksi, ince dentin duvarları ve kısa kök uzunluğu nedeniyle, pulpa boşluklarının

mekanik olarak temizlenmesi ve sızdırmaz bir şekilde 3 boyutlu olarak doldurulması güç olmaktadır (33).

Travmatik diş yaralanmaları, immatür daimi dişlerde pulpa nekrozuna ve sonrasında kök kanal sisteminin enfeksiyonuna neden olabilmektedir. Travmaya uğramış dişi çevreleyen kan damarlarının zarar görmesi nedeniyle kan desteği kesilebilmektedir. Gerekli kan desteği sağlanamazsa ya da yetersiz kalırsa pulpa canlılığını yitirebilmektedir (34). Travmatik diş yaralanmalarının şiddetine bağlı olarak pulpa nekrozu görülme sıklığının %17 ile %100 aralığında değiştiği bildirilmiştir (35-37). En sık pulpa nekrozu ile sonuçlanan dental travma tipleri ise avülsiyon ve intrüzyondur.

Dental çürükler, pulpaya penetre olarak pulpa dokusunda inflamasyon ya da fibrozise neden olabilen, bakteri ve bakteriyel ürünlerin neden olduğu çok faktörlü bir hastalıktır (34). Bakteri ve ürünlerinin kök kanalından uzaklaştırılmadığı durumlarda kronik inflamasyon gelişebilmekte ve pulpa dokusu zarar görerek nekroz olabilmektedir. Uzun süre devam eden inflamasyon sonucu pulpanın kendi kendini tamir etme kabiliyeti azalmakta ve sonuç olarak nekroz tüm kök kanal boşluğuna yayılmaktadır (38).

Dens evaginatus ve dens invaginatus gibi dental anomaliler pulpanın nekrotik hale gelmesini sağlayan bir diğer faktörlerdir. Dens evaginatus, dişlerin oklüzal yüzeylerinde bukkal ve lingual tüberküllerin arasında, minenin oluşturduğu aksesuar bir tüberkülü ifade etmektedir. Vakaların %43'ünde bu tüberkül pulpa dokusu barındırmaktadır (39). Oklüzal kuvvetler nedeniyle tüberkülün zarar görmesi, pulpanın açığa çıkmasına ve pulpal patolojilerin gelişmesine neden olabilmektedir. Dens invaginatus ise dişlerin formasyon döneminde kalsifikasyon tamamlanmadan önce mine ve dentinin, dişin kesici/oklüzal yüzeyinden pulpa odasına doğru ilerlemesi (invaginasyon) sonucu oluşmaktadır. Dens invaginatus vakalarında, genellikle sadece ince bir sert doku tabakası pulpayı korumaktadır. Bu dişlerde pulpa nekrozu, dişin

sürmesinden sonra invaginasyona uğramış kısmın çürümesi nedeniyle oluşmaktadır (39).

2.3. Rejeneratif Endodontik Tedavi

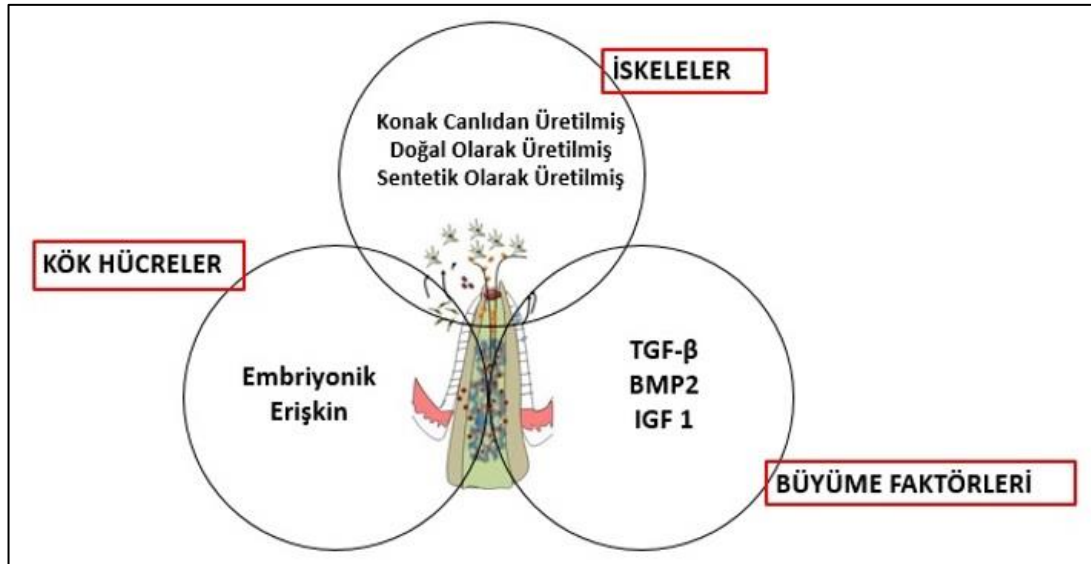
Bir organın ya da dokunun kaybı insanlar için yıkıcı ve maliyetli bir sorunu teşkil etmektedir. Bu nedenle yapısal bütünlüğün devamını sağlamak için son yıllarda doku mühendisliğinde önemli gelişmeler meydana gelmiş ve bu gelişmeler özellikle tıp ve diş hekimliği alanlarında bir takım faydalı değişiklikleri beraberinde getirmiştir. Diş hekimliğinde doku mühendisliğinin kullanımı ile RET uygulamaları gündeme gelmiştir. RET, pulpa-dentin kompleksindeki hücrelere ek olarak dentindeki ve kökteki zarar görmüş yapıların; yeni, canlı ve fonksiyonel yapılar ile yer değiştirmesini amaçlayan biyolojik temelli prosedürler olarak tanımlanmaktadır (9). Rejeneratif yaklaşım, kök gelişiminin devamını, kök apeksinin kapanmasını ve dentin duvarlarının kalınlığının artmasını teşvik etmektedir (40).

Rejeneratif endodontinin oluşmasına, Hermann, Nygaard-Ostby ve Nygarrd-Ostby & Hjortdal'ın yaptıkları çalışmalar öncülük etmiştir. Hermann'ın 1952'de, vital pulpa tedavilerinde ilk kez Ca(OH)_2 'yi kullanması rejeneratif tedavilerin başlangıcı olarak kabul görmektedir (41). İmmatür nekrotik daimi dişlerin pulpa-dentin komplekslerinin rejeneratif prosedürlerle yeniden yapılandırılmasını amaçlayan Nygaard-Ostby'in (42) 1961'de yaptığı çalışma sonucunda semptomların ve inflamasyonun çözüldüğü, apikal kapanmanın sağlandığı ve kanal boşluğunda yeni bir bağ dokusu oluştuğu belirtilmiştir. Nygaard-Ostby & Hjortdal (43) tarafından 1971'de apikal periodontitisli nekrotik dişlerde pulpanın revaskülarizasyonu için yapılan çalışmada ise başarısız sonuçlar elde edilmiştir. Başarısız sonuçlar, o dönemde kullanılan materyallerin yeterince etkin olamamasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle günümüzde, RET'de pulpa rejenerasyonunu destekleyici materyaller kullanılmakta ve rejeneratif prosedürler doku mühendisliği prensiplerini dikkate alarak uygulanmaktadır (44).

2.3.1. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği; kanser, travma ya da hastalık nedeniyle zarar görmüş yapıların fonksiyonlarının, mühendislik ilkelerine bağlı kalarak, onarılmasını amaçlayan sürekli gelişen ve ilerleyen multidisipliner bir uygulama alanıdır (45, 46). Doku mühendisliğinin temel olarak 3 ana unsuru bulunmaktadır (10) (Şekil 0.1):

1. Kök / progenitör hücrelerin uygun kaynakları
2. Kök hücre farklılaşmasını teşvik edebilen büyüme faktörleri
3. Hücre farklılaşmasının düzenlenebilmesi için uygun iskele



Şekil 0.1. Doku mühendisliğinin 3 temel unsuru.

Kök Hücre

Kök hücreler sürekli çoğalarak kendi kendine yenilenebilen ve özellikli hücre soylarına farklılaşabilen özelleşmemiş hücreler olarak tanımlanmaktadır (47). Kök hücrelerinin sınıflandırılmasında en sık kullanılan yöntemlerden biri kök hücrelerin kökenlerine dayanmaktadır (48). Kökenlerine bağlı olarak kök hücreler, embriyonik (fetal) ve erişkin (postnatal) olarak sınıflandırılmaktadır (49).

Embriyonik kök hücreler pluripotent hücrelerin en iyi örneğidir. Kültür içinde farklılaşmamış hücreler olarak saklanabilmekte ve herhangi bir hücreye farklılaşmaları için uyarılabilmektedirler (50). Bu hücreler; endoderm, mezoderm ve ektoderm embriyonik germ katmanlarına ve ayrıca her tür somatik hücreye farklılaşabilmektedir. Bu nedenle, doku rejenerasyonunda büyük bir kapasiteye sahiptirler (51). Fakat embriyonik kök hücrelerin elde edilmesiyle ilgili etik ve yasal tartışmalar ve teratom oluşma riski bu hücreleri klinik uygulamalarda uygun olmayan bir hale getirmiş ve araştırmacıları erişkin kök hücrelerine yönlendirmiştir (9).

Erişkin kök hücreler, olgun dokudan alınan kök hücrelerdir. Tamamen gelişmiş bir çocuğun veya bir yetişkinin dokularında bulunabilen bu hücreler; sadece sınırlı sayıda hücre tipine farklılaşabilmektedirler (52). Erişkin kök hücreler, doku onarımı ve rejenerasyonunda önemli bir rol oynamalarına rağmen embriyonik kök hücrelere kıyasla daha limitli bir etki göstermektedirler. Erişkin kök hücreler endodermal (solunum yolu ve sindirim sistemi), mezodermal (kemik iliği, kas, adipoz doku, sinoviyal sıvılar, kan hücreleri, dental pulpa) veya ektodermal (deri dokuları, sinir dokusu) dokulardan elde edilebilmektedir (49).

Kök hücrelerin ikinci ve daha fonksiyonel sınıflandırması, totipotent, pluripotent, multipotent, unipotent ve oligopotent şeklinde olup gelişim potansiyellerine dayanmaktadır (48):

1. Totipotent Kök Hücre: Totipotens, tüm hücre tiplerine farklılaşabilme potansiyelini ifade etmektedir. Totipotent kök hücreler; bir organizmadaki tüm hücre tiplerine bölünebilir ve farklılaşabilirler. Ayrıca bu hücrelerin farklılaşması sonucu verimli döller ortaya çıkabilmektedir. Oosit ve sperm vücudumuzdaki en iyi farklılaşmış hücrelerdir ve vücutta herhangi bir doku oluşturabilirler (53).

2. Pluripotent Kök Hücre: Embriyo içinde 5-6. günden itibaren vücudu oluşturacak sistemlerin gelişmesi başlamaktadır (ör: sinir dokusu ve beyin, iç organlar, kemik ve kıkırdak, kan yapıcı sistem, deri ve bağ dokusu, yağ dokusu vb.). Bu dönemde

kök hücreler 'pluripotent' özelliktedir. Pek çok doku ve organ gelişmesinde rol almakla beraber bir canlıyı tümüyle oluşturamazlar (54).

3. *Multipotent Kök Hücreler*: Farklılaşma yeteneklerini kısmen kaybeden ve yalnızca izole oldukları doku hücrelerine dönüşebilen hücrelerdir (55).

4. *Oligopotent Kök Hücre*: Lenfoid veya miyeloid kök hücreler gibi sadece birkaç hücre tipine farklılaşabilen hücrelerdir (56).

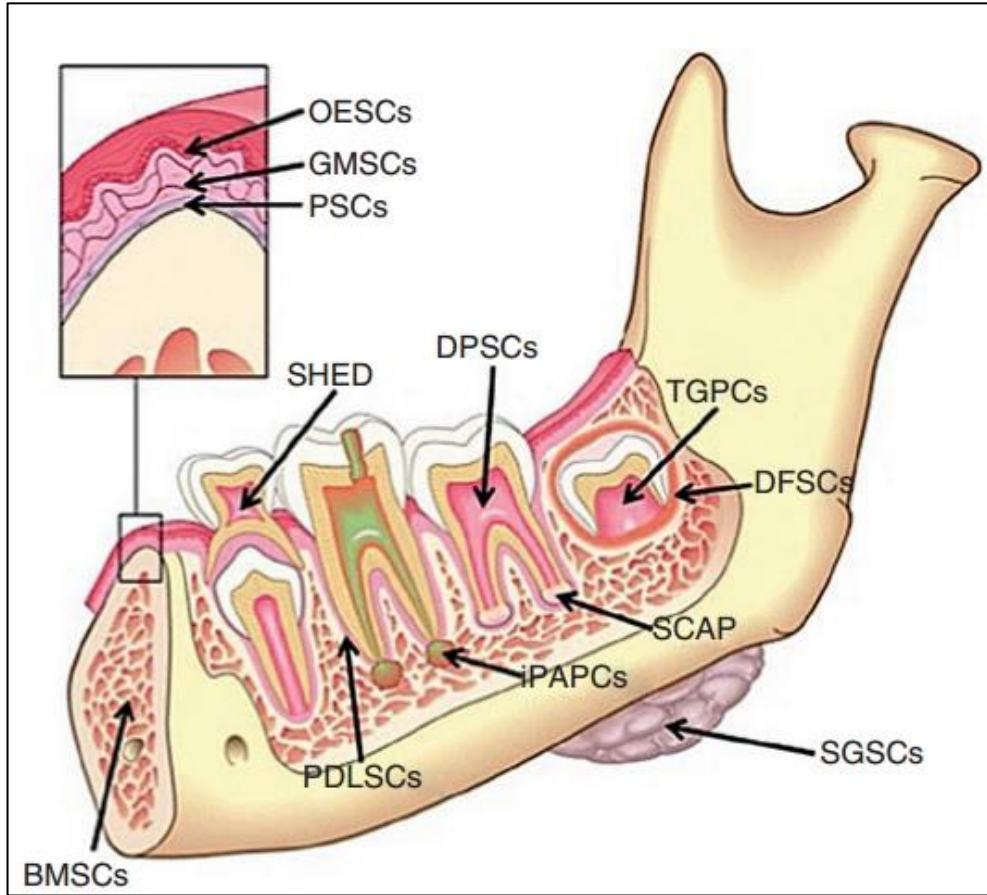
5. *Unipotent Kök Hücreler*: Sınırlı bir hücre aralığını ya da tek bir hücre türünü üretme yeteneğine sahip olan hücrelerdir (57). Bu hücreler, öncü (progenitör) hücre olarak da değerlendirilebilmektedir.

Dental Kök Hücreler

Bugüne kadar birçok çalışma erişkin kök hücrelerin; kemik iliği, nöral doku, cilt, retina ve dental epitel dâhil olmak üzere, çeşitli dokularda mevcut olduğunu göstermiştir (58, 59). Fakat bu dokulardan kök hücre elde edilmesiyle ilgili; vücut dokusuna ek bir hasar verilmesi ve yeterli sayıda kök hücre edilememesi gibi bazı dezavantajlar bulunmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar; ortodontik amaçla çekilen dişler, profilaktik olarak çekilen üçüncü molar dişler ve ortodontik cerrahi sırasında atılan kemik segmentleri gibi ek bir girişimin gerekmediği yeni kök hücre kaynaklarına yönelmişlerdir (60).

Diş, mine organını oluşturan oral epitelyal ektodermal hücreler ile dental papilla ve diş folikülünü oluşturan nöral kret kaynaklı mezenkimal hücreler arasında dikkatlice düzenlenmiş etkileşimlerin bir sonucu olarak gelişmektedir (61). Bu mezenkimal hücreler dentin, pulpa, sement ve periodontal ligament yapılarının oluşmasını sağlamaktadır. 2000 yılında Gronthos ve ark.'ın (62), erişkin insan diş pulpasından kök hücre elde etmelerinden sonra günümüze kadar birçok dental kök/progenitör hücre elde edilmiş ve sınıflandırılmıştır. Bu hücreler, dental pulpa kök hücreleri (DPSCs), süt diş pulpası kök hücreleri (SHEDs), apikal papilla kök hücreleri

(SCAPs), periodontal ligament kök hücreleri (PDLSCs) ve dental folikül kök hücreleridir (DFSCs) (63). Dental kök hücreler, kendi kendilerini yenileyebilme ve dental dokuların yanı sıra sinir ve kemik gibi dokulara da farklılaşabilme yeteneklerinden dolayı, rejeneratif tıpta önemli bir konumda bulunmaktadır (64) (Şekil 0.2).



Şekil 0.2. Dental kök hücreler (10).

Dental Pulpa Kök Hücreleri (DPSCs)

DPSCs ilk olarak 2000 yılında insan daimi üçüncü molar dişlerinden izole edilmiştir (62). Bu hücreler; plastik, yapışkan, fibroblast benzeri hücrelerdir. Kendi kendilerini yenileyebilme, nöral hücelere ve odontoblastlara farklılaşabilme özelliklerine sahiptirler (65). DPSCs'nin, dentinde meydana gelen yaralanmalar sırasında fonksiyonel odontoblastlara dönüşerek inflamasyon ve onarım/dentinogenez dengesinde önemli bir rol oynadıkları belirtilmiştir (66).

DPSCs'nin, kemik iliği kök hücrelerine kıyasla, odontojenik hücrelere farklılaşabilme kabiliyetleri fazladır (67). Bu nedenle odontoblastlara dönüşen DPSCs'nin pulpa-dentin kompleksine benzer dokular oluşturabileceği ve tersiyer veya atübüler dentin birikimiyle kök gelişiminin devamlılığını sağlayabileceği bildirilmiştir (65).

Süt Dişi Pulpası Kök Hücreleri (SHEDs)

SHEDs; osteoblastlar, nöral hücreler, adipositler ve odontoblastlar dâhil olmak üzere çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilen, dentini ve kemik oluşumunu indükleyebilen, fizyolojik olarak düşme zamanı gelmiş dişlerden izole edilen oldukça proliferatif kök hücrelerdir (68). Bu hücreler de, DPSCs gibi, odontoblastlara farklılaşarak pulpa-dentin kompleksine benzer yapılar oluşturabilmektedirler. Ancak SHEDs'nin gelişimsel düzeyleri, doku özellikleri ve fonksiyonları DPSCs'den farklıdır. Miura ve ark.'nın (68) yaptığı çalışmada, SHEDs'nin yüksek proliferasyon ve osteoindüktif kapasitesi ile hücre sayısını iki katına çıkarabildiği bildirilmesine rağmen in vivo koşullarda pulpa-dentin kompleksi yaratmada DPSCs kadar başarılı olmadığı gösterilmiştir (68).

SHEDs'nin, diş pulpasının nöral krest kökeniyle ilişkili olabilecek, nöral ve glial hücre markerlarını da eksprese edebileceği gösterilmiştir (69). Böylece bu hücrelerin spinal kord yaralanmaları nedeniyle zarar görmüş motor nöronları tamir edebileceği belirtilmiştir (70). Sonuç olarak süt dişleri, zarar görmüş diş dokularının tamir edilmesinde, kemik rejenerasyonunu sağlamada ve nöral doku yaralanmaları ve dejeneratif hastalıkların tedavisinde ideal bir kök hücre kaynağıdır (68).

Periodontal Ligament Kök Hücreleri (PDLSCs)

PDLSCs'nin yer aldığı diş ile kemiği birbirine bağlayan periodontal ligament, periodonsiyumun rejenerasyonu ve homeostazı için yüksek miktarda kök hücre içeren bir ataçmandır (71). PDLSCs de diğer kök hücreler gibi kendilerini yenileyebilir;

sement benzeri hücrelere, adipositlere ve fibroblastlara farklılaşabilirler. Ayrıca bu hücreler periodontal ligament, sement ve alveoler kemik gibi periodontal dokuları tamir etme kabiliyetine sahiptir (72).

Dental Folikül Kök Hücreleri (DFSCs)

Dental folikül, ektomezansimal progenitör hücreler tarafından oluşturulmaktadır. Bu vasküler gevşek bağ dokusu; gelişmekte olan diş germini, periodontal ligament hücreleri için progenitörleri, sementoblastları ve osteoblastları içermektedir (61). DFSCs ilk olarak insan üçüncü molar dişinin dental folikülünden elde edilmiştir (73).

DFSCs gelişmeye devam eden bir yapıdan oluştukları için, DPSCs ve SCAPs'ne kıyasla daha yüksek bir proliferasyon oranı göstermektedir. Bu hücreler in vitro olarak, kalsifiye nodüllere, sementoblastlara, kondrositlere, adipositlere ve ostojenik hücrelere dönüşebilmektedir (74). Sement ve kemik oluşumunu sağladıklarından, periodondal dokuların rejenerasyon tedavilerinde kullanılabilirler (75).

Apikal Papilla Kök Hücreleri (SCAPs)

İlk olarak çekilmiş insan üçüncü molar dişlerinden izole edilen SCAPs, gelişen immatür dişlerin apeksi ile apikal papillanın kesiştiği bölgede bulunmaktadır (76). Apikal papilla bölgesi, içerisinde kök gelişiminin ve şeklinin oluşturulmasında rol alan HERS bulunduğu; kök oluşumu için önemli bir alandır.

SCAPs, DPSCs'ne benzer şekilde odontoblast benzeri hücrelere farklılaşabilmektedir. Ancak bu hücreler; histolojik, immünohistokimyasal, hücresel ve moleküler yönlerde bir takım farklılıklar göstermektedir (76). SCAPs daha yüksek proliferasyon oranına ve minerilizasyon kapasitesine sahiptir (74). Ayrıca bu hücreler, apikale çok yakın bir bölgede bulduklarından, RET'de kanal içine ilk olarak girmesi beklenen hücrelerdir (77). SCAPs kollateral dolaşımdan beslenebilmektedir ve

SCAPs'nin enfeksiyon durumlarında hayatta kalımları diğer hücrelere göre daha yüksektir (76).

Apikal papilla bölgesinde SCAPs'nin bulunması, pulpa-dentin kompleksinin rejenerasyonunun başarılı olması için en önemli unsur olarak kabul edilmektedir. SCAPs'nin rejenerasyon sürecini teşvik eden anjiyogenik özelliklerine ek olarak, periapikal patolojinin gözlemlendiği durumlarda bile çoğalma ve farklılaşma yeteneklerini koruyabildikleri bildirilmiştir (78). Apikal bölgede indüklenen kanama ile kanal içine giren SCAPs, dezenfekte edilmiş kanal içinde oluşan kan pıhtısına yerleşir ve böylece pulpa-dentin kompleksinin rejenerasyonuna ve dişin olgunlaşma sürecine katkıda bulunur (79).

İnflamatuvar Periapikal Progenitör Kök Hücreleri (iPAPCs)

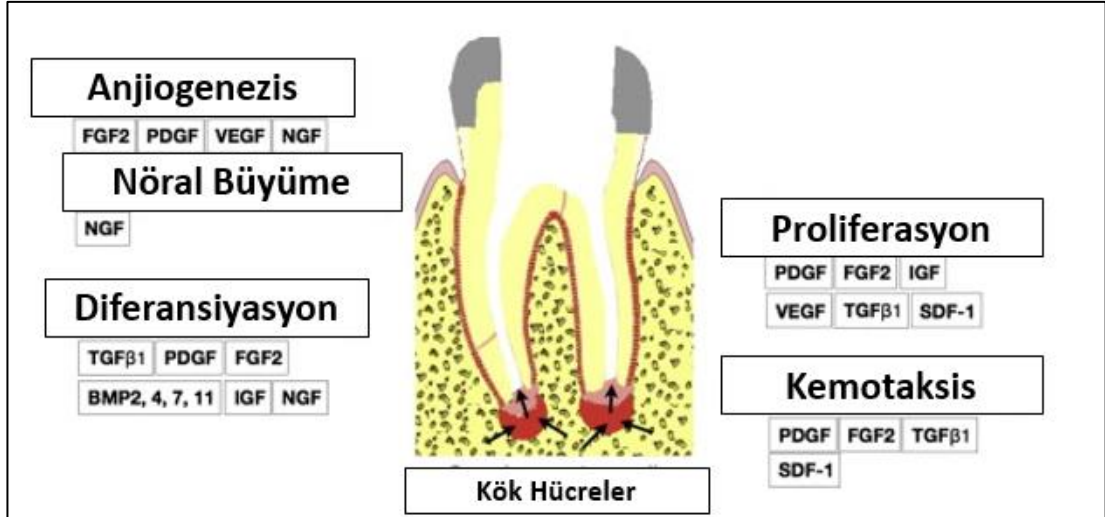
Periapikal dokularda endodontik enfeksiyonlar sonucu inflamasyon gelişmekte ve bu durum apikal periodontitis olarak adlandırılmaktadır. Bu inflame dokunun büyümesi için bölgede kemik yıkımının olması gerekmektedir (80). İnflamasyonun akut fazını kronik süreç izlemekte ve enfeksiyon kaynağının ortadan kalkmasıyla doku iyileşmeye ve kemik rejener olmaya başlamaktadır (81).

Maeda ve ark. (82) yaptıkları bir çalışmada periapikal lezyonların, olgun osteoblastik hücrelere farklılaşma potansiyeline sahip osteojenik hücreler içerdiğini bulmuşlardır. Periapikal lezyonun olduğu bölgede bulunan bu hücreler inflamatuvar periapikal progenitör kök hücreleri (iPAPCs) olarak adlandırılmaktadır. Liao ve ark. (83) yaptıkları bir çalışmada; iPAPCs'nin in vitro koşullarda güçlü osteojenik potansiyele sahip olduğunu, in vivo koşullarda ise mineralize dokulara farklılaşabileceğini göstermişlerdir. Bu nedenle iPAPCs'nin kök kanal tedavileri sonrasında kemik iyileşmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (82).

Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri, hedef hücre üzerindeki reseptörlere bağlanarak hücreyel çoğalmayı ve farklılaşmayı, kemotaksisi, anjiyogenezisi ve nöral büyümeyi indükleyen ve böylece hücre davranışını modüle eden proteinlerdir (84). Büyüme faktörleri, perivasküler dokulardan kök hücrelerin toplanmasını, toplanan bu hücrelerin özellikli hücre fenotiplerine farklılaşarak ve hasarlı bölgede çoğalarak zarar görmüş hücreler ile yer değiştirmesini sağlamaktadırlar (85). Son zamanlarda RET'de, dentin ve trombositlerden elde edilen büyüme faktörlerinin kullanımına odaklanılmıştır. Çalışmalar dentinin; büyüme faktörleri ve diğer biyoaktif moleküllerin rezervuarı olabileceğini ve bu molekülleri ortaya çıkardığında doku onarımını sağlayarak rejeneratif prosedürlerde önemli bir rol oynayabileceğini bildirmiştir (86, 87).

Transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF β)-1, TGF β -2, TGF β -3 (88), kemik morfojenik proteini (BMP)-2, BMP-4, BMP-7 (89), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)-1, IGF-2 (90), hepatosit büyüme faktörü (HGF) (91), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) (92) ve fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) (93); mineralize dentin matriksinde bulunan büyüme faktörleridir. TGF β ve BMP'nin, odontoblastların çoğalmasında, farklılaşmasında ve migrasyonunda etkili olduğu bildirilmiştir (94). Özellikle erişkin insan pulpasında TGF β -1, enflamatuvar yanıtın ve doku rejeneratif süreçlerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (95). Bununla birlikte; IGF-1 ve kemik siyaloprotein kullanılarak yapılan pulpa kaplaması çalışmaları sonrasında, iyi mineralize olmuş, homojen yapıda reperatif dentin oluştuğu kanıtlanmıştır (96, 97). Trombositlerden salınan trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF); odontoblast çoğalmasını, farklılaşmasını ve migrasyonunu sağlayan bir başka büyüme faktörüdür (98). (Şekil 0.).



Şekil 0.3. Büyüme faktörleri.

Doku İskelesi

Doku iskeleleri, birçok doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan 3 boyutlu yapılardır (84). Bu yapılar temel olarak, kök hücrelerin farklılaşmasını kontrol edebildiği, büyüme faktörü içerdiği ve zamanla biyolojik olarak parçalanabildiği için uygun bir iskele yapısı olarak görülen, hücre dışı matriksi taklit etmeye çalışmaktadırlar. Bu nedenle doku iskeleleri sadece hücre içeren basit bir yapıdan daha çok lokal büyüme faktörleri salarak kök hücrelerin doku matriksi üzerinde toplanmasında ve bu hücrelerin yeni hücre tiplerine farklılaşmasında önemli bir rol oynayan pöröz yapılardır (99). Oluşan yeni hücreler doku iskeleleri ile tamamen yer değiştirerek yeni doku oluşumunu sağlamaktadır (100).

İdeal bir doku iskelesi, biyoyumlu olmalı, sterilize edilebilmeli, toksik olmamalı, dokuda herhangi bir inflamatuvar cevap uyandırmamalı, stabil kalmalı, kök hücreleri desteklemeli, damarlanmayı sağlamalı, pöröz yapıda olmalı, kolay olarak elde edilebilir ve uygulanabilir olmalıdır. Ayrıca, görevini yerine getirdikten sonra cerrahi olarak uzaklaştırmaya gerek kalmadan biyoçözünür veya biyobozunur olmalıdır (101).

Doku iskeleleri doğal ve sentetik olarak sınıflandırılabilir. Doğal iskele olarak; kollojen, kan pıhtısı, trombositten zengin fibrin (PRF), trombositten zengin plazma (PRP), glikozaminoglikanlar, hyalüronik asit, demineralize ya da doğal dentin matriksi ve kitosan kullanılmaktadır. Sentetik iskele olarak ise; polilaktik asit (PLA), poliglaktolik asit (PGA), polilaktikoglikolik asit (PLGA), poliepsilon kaprolakton (PCL), hidroksiapatit/trikalsiyum fosfat, biyoseramik, titanyum ve alginat gibi hidrojellerin kullanıldığı bildirilmiştir (102-105). Günümüzde RET’de doku iskelesi olarak sıklıkla; kan pıhtısı, PRP ve PRF gibi otolog trombosit konsantreleri tercih edilmektedir.

2.4. Rejeneratif Endodontik Tedaviler İçin Potansiyel Teknolojiler

Rejeneratif endodontik prosedürlerinin geliştirilmesinde uygulanabilecek bazı önemli tedavi yöntemleri bulunmaktadır. Bunlar; kök kanalının revaskülarizasyonu, kök hücre tedavisi, pulpa implantı, doku iskelesi implantı, enjekte edilebilir doku iskelesi uygulamaları, üç boyutlu hücre yazılımı ve gen terapisi olarak belirtilmiştir (9).

2.4.1. Kök Kanalının Revaskülarizasyonu

Revaskülarizasyon terimi endodontik literatürde, immatür daimi dişlerde travmatik yaralanmalar sonrasında kesilen, doku ve organlar için hayati bir öneme sahip olan, kan akışının tekrardan sağlanması olarak ifade edilmektedir (106, 107). Revaskülarizasyon terimi ilk kez, Iwaya ve ark. (108) tarafından, apikal periodontitisli ve sinüs yolu bulunan bir immatür daimi dişe endodontik tedavi uygulamaları sırasında kullanılmıştır. Bu yöntemde, hastanın kendi kanı kullanılarak herhangi bir immün reaksiyona yol açmadan, kanal içi dokularla birlikte özellikle pulpanın rejenerasyonu söz konusudur. Revaskülarizasyon ile immatür daimi dişlerin kök uzunluğunun ve dentin duvarlarının kalınlığının artması teşvik edilmekte, pulpanın fonksiyonları geri kazandırılmakta, apikal periodontitis ortadan kaldırılmakta ya da oluşumu önlenmektedir (109). Ayrıca revaskülarizasyon ile kök hücre iyileşmesi için gerekli olan anjiyogenezise de yardım edilmektedir (110).

Bu yöntem ile nekrotik kök kanal boşluğunun bütünüyle dezenfekte edilmesi ve kanal dışına çıkılarak indüklenen kanamanın fibrin matriksi oluşturması amaçlanmaktadır (108). Bu yöntemde kanal içi irrigant kullanımı ve kanal içine birkaç hafta süresince uygun bir kanal içi ilaç uygulanması önem teşkil etmektedir (9). Bu yöntemin kolay uygulanabilmesi, immün cevaba ve patojen geçişine izin vermemesi gibi avantajlarına karşın revaskülarizasyon için gerekli kan konsantrasyonunun tam olarak ön görülememesi ve indüklenen kan içeriğinin kişiden kişiye farklılık göstermesi gibi dezavantajları da bulunmaktadır (111).

Revaskülarizasyon Protokolü

Revaskülarizasyon protokolünün başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için doğru endikasyon koymak ve uygun hasta seçimi yapmak gerekmektedir. AAE'nin önerdiği tedavi protokolüne göre vaka seçimi şu kıstaslar göz önüne alınarak yapılmalıdır (112):

- Pulpa nekrozu nedeniyle kök gelişimini tamamlamamış açık apeksli dişler
- Pulpa boşluğuna herhangi bir post/kor yapısı ya da final restorasyonu uygulanmasına gerek olmayan dişler
- Uyumlu hastalar/aileler
- Herhangi bir ilaca ya da ajana alerjisi olmayan hastalar (47)

Literatürde yayınlanan vaka raporlarında revaskülarizasyon prosedürleri genellikle 8-18 yaş aralığında bulunan ve immatür dişlere sahip hastalara yapılsa da (113-115); matür dişlere sahip hastalara da bu tedavinin uygulanabileceğini ve başarılı sonuçlar alınabileceğini gösteren vaka örnekleri mevcuttur (116, 117). Fakat matür nekrotik dişlerde revaskülarizasyon tedavilerinin sonuçları hakkında daha geniş bilgiye sahip olmak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Revaskularizasyon uygulama aşamasında dikkat edilmesi gereken noktalar, kök kanalında şekillendirme yapılmaması ya da minimum düzeyde yapılması, kanal boşluğunun uygun irrigantlarla etkin şekilde yıkanması ve kök kanalına belirli bir süreyle dezenfektan ajanının uygulanması olarak belirtilmiştir (14, 108, 118, 119).

AAE'nin yayınladığı ve son olarak 2018 yılında revize edilen, rejeneratif prosedürler için klinik uygulamalar kapsamında (112) (Şekil 0.);

1.SEANS:

- Hastadan aydınlatılmış onam formu alınır. Bu kapsamda hastalar, uygulanacak tedavinin bitirilmesi için iki ya da daha fazla randevu gerektiği, çeşitli antimikrobiyal ajanların kullanılacağı, kökte ya da kronta renklenme, inflamasyon, ağrı, tedaviye yanıt alınamaması gibi bir takım yan etkilerin gözlenebileceği, bu tedaviyi yaptırmak istemediği takdirde apeksifikasyon, tedavi uygulamama ya da çekim gibi alternatiflerinin olduğu konularında bilgilendirilmelidir.
- Onay alındıktan sonra tedavinin uygulanacağı dişe lokal anestezi yapılır, diş rubber dam ile izole edilir ve giriş kavitesi açılır.
- Kök kanalının bulunması ve kanal boyunun ölçülmesi için küçük boyutta bir eğe kullanılır. Kök kanalları, çeşitli irrigasyon sistemleri kullanılarak çalışma uzunluğundan 1 mm kısa olacak şekilde 20 ml NaOCl ile 5 dakika boyunca sürekli ve yavaşça irrigate edilir. Kök hücrelere olan toksik etkiyi minimize etmek amacıyla NaOCl'nin düşük konsantrasyonda (%1,5) kullanımı önerilmektedir. Daha sonra kanallar, salin ya da 20 ml %17'lik Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ile 5 dakika daha irrigate edilir.
- Kanallar kuru kâğıt konlar ile kurutulduktan sonra seçilen kanal içi ilaç kanal içerisine uygulanır. Kanal içi ilaç olarak sıklıkla TAP, DAP ve Ca(OH)₂ kullanılmaktadır. Eğer TAP kullanıldıysa, olası renklenmenin önüne geçebilmek için, mine-sement sınırının apikalinde olacak şekilde uygulandığından emin olunmalıdır.

- Giriş kavitesi geçici bir dolgu materyali ile kapatılır. Hasta, durumunu değerlendirmek amacıyla 1-4 hafta sonrasına çağırılır.

2. SEANS:

- Başlangıçta yapılan tedaviye verilen yanıt değerlendirilir. Eğer kalıcı inflamasyona dair bir bulgu varsa antimikrobiyal ajanın daha uzun süre uygulanması ya da farklı bir antimikrobiyal ajanın uygulanması düşünülür.

- Hastada herhangi bir belirti ya da patolojik bir bulgu yoksa kök kanalı açılır, bölgedeki kanlanmanın azalmaması açısından vazokonstiktör içermeyen %3 mepivakain lokal anestezi olarak uygulanır ve rubber dam takılır.

- Geçici dolgu materyali tamamen uzaklaştırıldıktan sonra birinci seansta uygulanan kanal içi ilaç, 20 ml %17'lik EDTA ile yavaşça uzaklaştırılır ve kanallar kuru kâğıt konularla kurutulur.

- Kanalın apeksinden 2 mm dışarıda olacak şekilde kullanılan bir kanal eğesi ile kanama odağı oluşturulur ve kanamanın tüm kanal boşluğunu doldurarak mine-sement sınırının 3 mm apikalinde olana kadar uzanması beklenir.

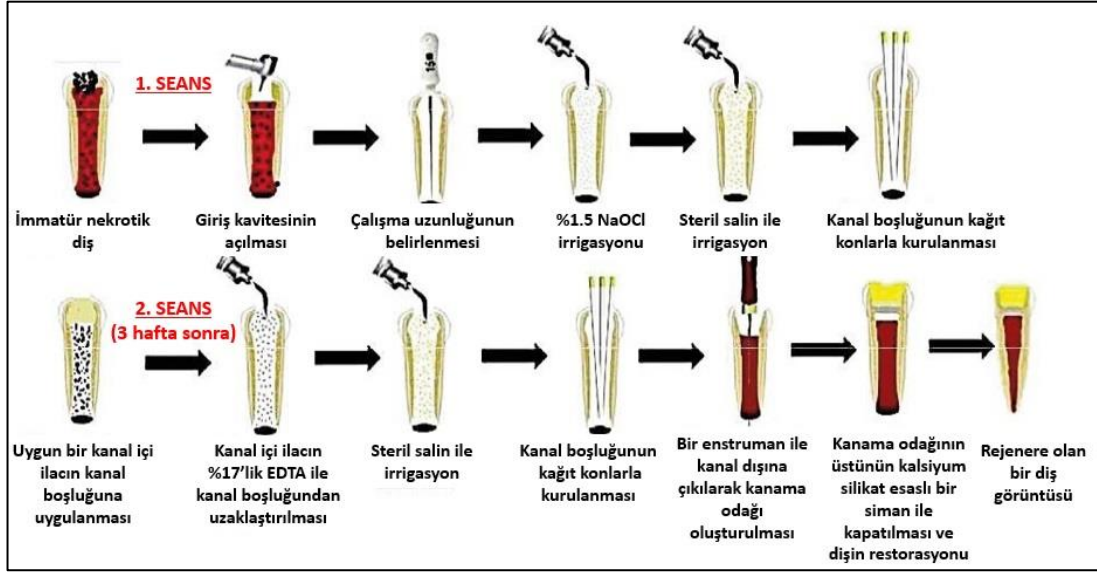
- Kan pıhtısı oluşturmak için alternatif olarak PRP, PRF ya da otojen fibrin matriks (AFM) kullanılabilir.

- Uygulanacak olan bariyer materyalinin aşırı apikal pozisyonunu kısıtlamak için emilebilir bir matriks olarak hizmet etmek üzere kök kanal sistemine küçük bir CollaPlug (Zimmer Dental, Carlsbad, CA), Collacote (Integra LifeSciences Corp, Plainsboro, NJ) ya da CollaTape (Zimmer Dental, Carlsbad, CA) parçası yerleştirilebilir.

- Kollajen matriksinin üzerine, mine-sement sınırından 3-4 mm apikalde olacak şekilde kalsiyum silikat içerikli bir materyal yerleştirilir. Bu kapsamda en sık MTA (Dentsply, Tulsa, OK) tercih edilse de, MTA'nın dişte renklenmeye sebep olabileceğinden dolayı estetik bir kaygının olduğu durumlarda, Biodentine

(Septodont, Lancasted, PA, USA) ya da EndoSequence BC (Brasseler, USA) gibi farklı bir kalsiyum silikat içerikli materyal kullanılabilir. Daha sonra dişin daimi restorasyonu tamamlanır.

- 6, 12 ve 24. aylarda hasta kontrol için çağırılarak radyografik ve klinik incelemeler yapılır.



Şekil 0.4. Rejeneratif endodontik tedavi protokolü.

2.4.2. Kök Hücre Tedavisi

Kök hücre tedavisi; hastalanmış veya fonksiyon kaybına uğramış dokulardaki hücrelerin, sağlıklı ve normal çalışan hücrelerle yer değiştirmesine ve bu dokuların yeniden yapılanmasına olanak sağlayan teknikler ve teknolojiler olarak tanımlanabilmektedir. Bu teknikte, kök apeksi açık dişlerde giriş kavitesinin açılmasını takiben uygun rejeneratif potansiyele sahip kök hücreler, kök kanal boşluğu dezenfekte edildikten sonra, kanal içine enjekte edilmektedir (9). Kök hücreler cilt, bukkal mukoza, yağ ve kemik dâhil olmak üzere birçok dokudan türetilmektedir (120).

Kök hücre tedavisinin avantajları; otojen kök hücrelerin kolay elde edilebilmesi ve uygulanabilmesi ile birlikte bu hücrelerin yeni pulpa rejenerasyonunu

başlatabilecek potansiyele sahip olması olarak belirtilmiştir. Bununla birlikte; hâlihazırda bu tedavinin kemik iliği replasmanı da dâhil olmak üzere rejeneratif tıpta kullanılıyor olması, çeşitli potansiyel endodontik uygulamalar için de kullanılabilirliğini gündeme getirmiştir (121).

Kök hücre tedavisinin dezavantajları ise hücrelerin düşük oranda hayatta kalımları ve bu hücrelerin vücutta farklı yerlere göç edebilme potansiyelleridir. Bu göç sonucunda muhtemel anormal mineralizasyon paternleri oluşabilmektedir (122). Yanlış yere göçü önlemek için bir çözüm, hücreleri bir fibrin pıhtısı veya başka bir iskele malzemesi ile birlikte uygulamak olabilir. Bu, hücre lokalizasyonunun konumlandırılmasına ve korunmasına yardımcı olacaktır. Bu nedenle, bir iskele yapısı veya sinyal molekülü olmadan, sadece kök hücreleri pulpa odasına enjekte ederek, yeni bir pulpa dokusu üretme olasılığı düşüktür (123). Pulpa rejenerasyonunda başarı potansiyelini en üst düzeye çıkarmak için her üç element de (hücreler, büyüme faktörleri ve iskele) dikkate alınmalıdır.

2.4.3. Pulpa İmplantasyonu

Pulpa implantasyonunda; çeşitli yöntemlerle elde edilmiş pulpa dokusu, temizlenmiş ve şekillendirilmiş kök kanal sistemine nakledilmektedir. Pulpa dokusunun kaynağı, hastalık veya patojen içermeyen saf kök hücreler ya da biyopsi sırasında alınarak laboratuvar ortamında büyütülmüş hücreler olabilir (9). Kültür ortamında çoğaltılan pulpa dokusu in vitro olarak, biyoçözünür polimer nanofiber tabakada veya kollajen-1 veya fibronektin gibi ekstrasellüler matriks proteini tabakası üzerinde, yetiştirilmektedir (124, 125). Şimdiye kadar, kolajen I ve III üzerinde yetiştirilen diş pulpası hücrelerinin başarılı olduğu kanıtlanamamıştır. Fakat vitronektin ve laminin dâhil olmak üzere diğer matriks proteinlerinin araştırılması gerekmektedir (126).

Bu teknikte kullanılan hücreler, enjeksiyon yoluyla uygulanan hücrelere göre daha stabildir ve laboratuvar ortamındaki filtrelerde büyümeleri nispeten daha kolaydır. Bunun yanında kültürlenmiş pulpa dokusu tabakalarının implantasyonu ile

ilişkili potansiyel problemler, hücrelerin kök kanal duvarlarına yapışabilmesi için, özel prosedürlerin uygulanmasını gerektirebilmektedir. Filtreler çok ince hücre katmanları olduğundan, son derece kırılğındırlar ve bu durum, kırılmadan kök kanal sistemine yerleştirilmelerini zorlaştılabilmektedir. Ayrıca hücre tabakaları vaskülerizasyondan yoksun olduğundan bu yapılar yalnızca, hücresel proliferasyonu destekleyebilen bir iskelenin koronal olarak verilmesi şartı ile kök kanal sisteminin apikal kısmına implante edilebilmektedirler (127).

Bu endodontik doku mühendisliği tedavisinin geliştirilmesi, hastalara düşük sağlık tehlikeleri arz ediyor gibi görünse de, bağışıklık yanıtına sebep olabilmesi ve fonksiyonel pulpa dokusu oluşturmadaki olası başarısızlıkları nedeniyle, dikkatli in vivo araştırmalar ve kontrollü klinik çalışmalar yoluyla ele alınmalıdır (9).

2.4.4. Doku İskelesi İmplantasyonu

Daha pratik bir endodontik doku mühendisliği tedavisi oluşturmak için pulpa dokusu kök hücreleri; hücre organizasyonunu ve vaskülerizasyonunu destekleyebilecek üç boyutlu bir yapıda düzenlenmelidir. Bu; pulpa dokusu kök hücrelerinin gömülmesine olanak sağlayan pöröz polimer yapıda bir doku iskelesinin kullanılmasıyla gerçekleştirilebilir (128).

Pulpa dokusunun yapılandırılmasının başarılı olabilmesi için doku iskeleleri bazı gereksinimleri karşılamalıdır. Bir doku iskelesi, kök hücre çoğalmasına ve farklılaşmasına yardımcı büyüme faktörlerini, hücrelerin beslenmesi ve hayatta kalabilmesi için gerekli besinleri ve kanal içinde herhangi bir bakterinin ürememesi için antibiyotikleri içermelidir (9, 129). Ayrıca çevre dokular tarafından, cerrahi bir işleme gerek kalmadan, yok edilebilmelidir (130). Hücre beslenmesine ve difüzyonuna olanak sağlamak için uygun pöröziteye ve por genişliğine sahip olmalıdır (131).

2.4.5. Enjekte Edilebilir Doku İskelesi

Rijit doku mühendisliği yapıları; kemikteki ya da bir başka dokudaki hücelere fiziksel destek sağlamak için kullanılmakta ve bu dokulara mükemmel bir destek sağlamaktadır (132). Fakat kök kanal sisteminde doku mühendisliği ürünü olan pulpa yapısal destek gerektirmediğinden; yumuşak, üç boyutlu doku iskelesi matriksleri geliştirilmiştir. Bu doku iskelelerinin en önemli örneklerinden biri olan polimer yapıdaki hidrojel, şırınga ile enjekte edilmektedir (133, 134). Hidrojeller invaziv özellik göstermemekte ve kök kanal sistemine kolayca uygulanabilmektedir. Teorik olarak hidrojellerin, hücre proliferasyonunu ve organize bir doku yapısına farklılaşmayı sağlayarak pulpanın rejenerasyonunu sağlayabileceği belirtilmiştir (135).

Hidrojellerin doku oluşumu ve gelişimi üzerinde sınırlı kontrole sahip olması önemli bir problem olsa da bu durum; hidrojel yapısının formülasyonundaki ilerlemeler ile hücre sağkalımını destekleme yeteneklerini önemli ölçüde geliştirerek, çözülmüştür (136). Her ne kadar hidrojeller umut verici özellikler gösterebilirler de in vivo etkinlikleri henüz kanıtlanmamıştır. Hidrojelleri daha pratik hale getirmek için araştırmalar, doku bölgesine yerleştirildikten sonra sert yapı oluşturmak için hidrojelleri fotopolimerize edilebilir hale getirmeye odaklanmaktadır (137).

2.4.6. Üç Boyutlu Hücre Yazılımı

Bu teknikte, sprey boya cihazına benzer bir cihaz yardımıyla hücre tabakaları hidrojel içine dağıtılarak, pulpa dokusunun yeniden oluşumu sağlanmaktadır (138). Üç boyutlu hücre yazılım tekniği, hücreleri hassas bir şekilde konumlandırmak için kullanılabilir (139) ve bu yöntem, doğal pulpa dokusunun yapısını taklit eden doku yapıları oluşturma potansiyeline sahiptir.

Pulpa dokusu yapısının temizlenmiş ve şekillendirilmiş kök kanal sistemine yerleştirilmesi sırasında, bu yapının apikal ve koronal asimetriye göre yönlendirilmesinin ve yerleştirilmesinin tam olarak yapılamaması; üç boyutlu hücre

yazılım tekniğinin dezavantajıdır. Bununla birlikte, bireysel özelliklere bağlı olarak pulpa kavileri farklı anatomiler gösterdiğinden, üç boyutlu modellerin her kavite için ayrı ayrı oluşturulması güçtür. Yapılan araştırmalar, üç boyutlu hücre yazılım tekniğinin in vivo şartlarda fonksiyonel bir doku oluşturabildiğini henüz gösterememiştir (140).

2.4.7. Gen Terapisi

Kırmızı kan hücreleri dışındaki tüm insan hücreleri, 3 milyar baz çifti içeren bir DNA ipliğine sahiptir. DNA, hücre aktivitesini ve fonksiyonunu kontrol eden genetik sekanslar (genler) içermektedir. Gen tedavisi ise somatik hücrelere; büyüme faktörleri, morfojenler, transkripsiyon faktörleri ve ekstrasellüler matriks molekülleri sentezlemeleri için viral ya da viral olmayan vektörleri kullanarak gen nakledilmesini tanımlayan bir tedavidir (141, 142). Başarılı bir gen terapisi için en önemli faktörlerden biri de gerekli zamanda yeterli miktarda gen indüksiyonunun sağlanabilmesidir (128).

Endodontideki potansiyel gen nakli uygulamalarından biri, dokudaki mineralizasyonunu hızlandırmak için mineralizasyonla ilişkili genlerin pulpa dokusuna implante edilmesidir. Bu konu ile ilgili çalışmayı Rutherford; inflamasyon gösteren dağ gelinciği pulpasına, fare BMP-7'si ile transfekte cDNA implante ederek gerçekleştirmiş fakat reperatif bir yanıt alamamıştır (143). Gen terapisi nispeten yeni bir alandır ve bu tedavinin nekrotik pulpa rejenerasyonunu sağlayabilme potansiyeline sahip olduğunu gösteren kanıtlar bulunmamakta ve potansiyel avantajlar ve dezavantajlar teoride kalmaktadır (9). Bu nedenle araştırmacılar, gen tedavisinin endodontik tedavinin bir parçası olarak ilerleyemeyeceğine ve gen tedavisi sırasında bazı istenmeyen sağlık problemlerinin (hastalık, malignensi) meydana gelebileceğine işaret etmişlerdir (144).

2.5. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Yeni Doku Oluşum Mekanizması

RET'in temelini hücrel reaksiyonlar oluşturmaktadır. Apikal bölgede kanamanın indüklenmesiyle birlikte, bu bölgedeki kök hücreler de oluşan kanla beraber kök kanal sistemine taşınmaktadır (79). Pulpanın rejener olabilmesi için kanal içine taşınan bu kök hücrelerin farklılaşmasına, çoğalmasına ve dentin üretmelerine ihtiyaç vardır (145). Kök apeksinde ve kök kanal sisteminde yeni dokuların oluşumu, farklı mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır (146).

İmmatür daimi dişlerin apikal papilla bölgelerinde bulunan, çeşitli patolojilere rağmen canlılığını koruyabilmiş pulpa hücreleri; enflamasyona ve yıkıma karşı daha dirençli olan HERS hücrelerinin organize olması ile odontoblastlara farklılaşabilmekte ve dentin oluşumunu sağlayabilmektedirler (147). Ayrıca apikal papilla bölgesinde bol miktarda bulunan DPSCs'nin de odontoblastlara farklılaşarak tersiyer veya atübüler dentin birikimiyle kök gelişiminin devamlılığını sağlayabileceği belirtilmiştir (65).

Periodontal ligament kaynaklı kök hücrelerin, hem apikal bölgeye hem de kanal içine proliferasyon olarak bu iki bölgede de sert doku birikimini sağlayabilecekleri bildirilmiştir (148).

Apikal bölgede oluşan kanama ile kök kanalına taşınan, kemikteki yüksek proliferasyon kapasitesine sahip mezenseyal kök hücrelerin; kök gelişiminin devamını sağlayabildiği ve pulpa rejenerasyonunu desteklediği belirtilmiştir (149).

Dentinden salınan büyüme faktörleri, periapikal bölgede ya da kalan sağlıklı pulpa dokusunda bulunan kök hücreleri kök kanal sistemi içerisine çekebilmektedirler. Bu hücreler doku iskelesine yerleşir, bağlanır, çoğalır, farklılaşır ve en sonunda yeni doku oluşumunu sağlarlar (150). Dental pulpa rejenerasyonu için gerekli büyüme faktörleri sadece dentinden değil hastanın kendi kanından da elde edilebilmektedir (146). Doğal yapıda bir doku iskelesi olarak kullanılan kan pıhtısı; içerdiği büyüme faktörlerinden dolayı hücrelerin farklılaşmasını ve büyümesini

sağlayabilmekte fibroblastların, odontoblastların ve sementoblastların maturasyonunu stimüle edebilmekte ve pulpa rejenerasyonunu destekleyebilmektedir. Yine doğal bir doku iskelesi olarak kullanılan PRP ve PRF'nin de pulpa rejenerasyonuna önemli katkıları bulunmaktadır (65).

2.6. Rejeneratif Endodontik Tedavilerin Avantajları

RET'ler; kolay uygulama tekniğine sahip, günümüzdeki mevcut el aletleri ve ilaçlarla gerçekleştirilebilen ve pahalı olmayan biyoteknolojilerdir (9). İmmün sistem tarafından ret cevabı oluşturmazlar ve dış kaynaklı patojen geçişine izin vermezler (151).

Bu tedaviler ile kök gelişimi devam etmekte, kök uzunluğu artmakta, kök apeksinin çapı daralmakta ve yeni dentin/sert doku birikimine bağlı olarak lateral dentin duvarları güçlenmektedir. Ayrıca periapikal bölgedeki patolojilerin çözünmesiyle bu bölgenin sağlığına tekrardan kavuşması sağlanmaktadır (152, 153). Bunun yanında yayınlanmış vaka raporlarının yaklaşık %50'sinde vitalite testlerine (çoğunlukla elektrikli pupa testi) pozitif yanıt alınmıştır (154). Bu da, RET'in kök kanalında fonksiyonel bir doku oluşturabildiğini göstermektedir. Fakat bu testlere yanıt alınamaması; apikal bölgenin sağlığına kavuşması ve kök gelişiminin devam etmesi nedeniyle, başarısızlık olarak kabul edilmemelidir (47).

RET ve apeksifikasyon tedavilerinin başarı oranları benzerlik gösterse de (%90-%100) (155-157) özellikle Ca(OH)_2 ile yapılan apeksifikasyon tedavilerinin uzun sürmesi, kök dentininin mekanik özelliklerinde azalma gözlenmesi, servikal kök kırıklarının oluşma riskinin artması, koronal sızıntı oluşması ve hasta takibinin yapılamaması gibi faktörler, RET'i daha alternatif bir uygulama haline getirmiştir (47).

2.7. Rejeneratif Endodontik Tedavilerin Dezavantajları

RET’de bariyer materyali olarak kullanılan MTA ve kanal içi ilaç olarak uygulanan TAP, minosiklin içeriğinden dolayı, dişte renklenmelere neden olabilmektedir. Bunun yanında antibiyotik patlarının kullanımı sonucu, dirençli bakteri suşlarının gelişimi ve alerjik reaksiyonlar gibi biyolojik komplikasyonlar gözlenebilmektedir (158). Bununla birlikte, hastanın sistemik bir rahatsızlığı varsa veya immünolojik problemleri mevcutsa tedavinin başarı şansı azalmaktadır (44).

RET sonrası pulpa-dentin kompleksinin rejenerasyonu ve kök gelişiminin devamı sağlansa da hayvan ve insanlarda yapılan histolojik çalışmalarda, kök kanalında oluşan dokunun gerçek pulpa dokusu olmadığı; sement benzeri, kemik benzeri ya da periodontal ligament benzeri bir doku olduğu gösterilmiştir (159, 160). Bununla birlikte, kan pıhtısı önemli bir doku iskelesi olmasına rağmen içeriğindeki hücrelerin yoğunluğunun ve kompozisyonunun tahmin edilemez oluşu önemli bir sorun teşkil etmektedir (151).

Litaratürde yapılan çalışmalar ve vaka raporlarının takipleri sonucunda revaskülarizasyon vakalarının %62,1’inde, revaskülarizasyona bağlı kanal içi kalsifikasyonların görüldüğü ve apikal kanatma ile yapılan revaskülarizasyonun kanal içi kalsifikasyon oluşma olasılığını arttırdığı belirtilmiştir (161, 162).

2.8. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Kök Kanal Sisteminin Dezenfeksiyonu

RET’in başarılı olabilmesi için başlangıç enfeksiyonunun kontrol altına alınması gerekmektedir. Aksi taktirde enfeksiyon sonucu kök hücreler zarar görebilir ve pulpanın rejenerasyonu ya da tamiri gerçekleşemeyebilir. Bu nedenle kök kanal sisteminin, enfeksiyona yol açan mikroorganizmalardan ve ürünlerinden dezenfeksiyonu, kritik bir aşamadır (163).

RET'in uygulandığı immatür nekrotik daimi dişlerde mekanik temizlik; ince dentin duvarları, açık ve geniş kök apeksi ve kısa kök kanal boyu nedeniyle güç olmaktadır. Bu nedenle kanal içi enfeksiyonun eliminasyonunda kimyasal temizlik ve kanal içi ilaç kullanımı önerilmektedir (15).

Kök kanallarının kimyasal temizliğinde kullanılan irrigasyon ajanları; bakteriyostatik ve bakterisidal olmalı ayrıca kök hücrelerin proliferasyonuna ve sağkalımına zarar vermemelidir (154). NaOCl, rutin kök kanal tedavilerinde ve RET'de en sık kullanılan antibakteriyel etkili irrigasyon ajanıdır. %1-6 arası konsantrasyonlarda kullanılan NaOCl'in, RET'de yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında, apikal papilla bölgesindeki kök hücrelere sitotoksik etki ederek sağkalımlarını düşürdüğü yapılan araştırmalar sonucunca bildirilmiştir (16). Bu nedenle AAE'nin yayınladığı protokole göre; NaOCl'nin %1,5'lik konsantrasyonunun, kök hücreleri minimal düzeyde etkilediği için, kullanılması önerilmiştir (16, 112). Fakat düşük konsantrasyonlarda kullanılan NaOCl'nin mikroorganizmaları öldürmedeki etkinliği tam olarak bilinemediğinden kök kanal sisteminin bütünüyle dezenfeksiyonu için, kanal içi ilaçların kullanımına gereksinim vardır (164-166).

Düşük antimikrobiyal etkili bir şelasyon ajanı olan EDTA, RET'de, dentin matriksinden büyüme faktörlerinin salınmasını sağlamaktadır. Ayrıca %17'lik EDTA kullanımı, NaOCl'nin kök hücreler üzerindeki zararlı etkilerini kısmen tersine çevirerek bu hücrelerin sağkalımlarını arttırmaktadır (16). EDTA uygulaması ile DPSCs'nin; dentine doğru ya da dentinin içine adezyonu, migrasyonu ve odontoblast benzeri hücrelere farklılaşması teşvik edilmektedir. Bu nedenle RET'de, kanama odağı oluşturulmadan önce kullanılması tavsiye edilmektedir (167).

2.9. Rejeneratif Endodontik Tedavilerde Kullanılan Kanal İçi İlaçlar

2.9.1. Kalsiyum Hidroksit

Ca(OH)_2 , ilk olarak 1838 yılında Nygren (168, 169) tarafından fistula dentalis tedavisinde kullanılsa da, diş hekimliğinde yaygın olarak kullanımı, Herman tarafından literatüre sunulmasından sonra olmuştur (170). Geniş bir kullanım alanına sahip Ca(OH)_2 ; pulpa kaplamalarında, apeksifikasyon tedavilerinde, perforasyon tamirinde, kök rezorpsiyonlarında, kök kanal dolgu patı olarak ve rejeneratif endodontik prosedürlerde kanal içi ilaç olarak kullanılmaktadır (171). Suda çözünürlülüğünün düşük olması, antibakteriyel etkisi, periapikal iyileşmeyi desteklemesi, biyouyumlu özellikler göstermesi, kolay ulaşılabilir ve uygulanabilir olması; Ca(OH)_2 'nin tercih edilmesinin nedenleri olarak belirtilmiştir (172).

Kireçtaşının (CaCO_3), 900-1200°C'ye kadar ısıtılmasıyla ortaya çıkan sönmemiş kirecin (CaO), su (H_2O) ile birleşmesi sonucunda ortaya çıkan Ca(OH)_2 'in; % 54,11'i kalsiyum (Ca^+), % 45,89'u hidroksildir (OH^-) (173). Yüksek pH'a (12,5–12,8) sahip baz yapıdaki Ca(OH)_2 ; su ortamında Ca^+ ve OH^- iyonlarına ayrılarak sert doku depozisyonunda ve antibakteriyel etkinliği sağlamada önemli bir rol oynamaktadır (171).

Ca^+ iyonu dokuların kalsiyum konsantrasyonlarını artırırken kapiller geçirgenliği azaltır. Ca^+ bağımlı pirofosfataz artarken inhibitör pirofosfat azalır. Alkalin pH doku yıkımını engeller ve sert doku mineralizasyonunu başlatır (174). OH^- iyonu ise, bakteri membranındaki lipopolisakkaritlerin lipit parçasını hidrolize ederek; bu yapıların biyolojik aktivitelerini etkisiz hale getirir (175). Ayrıca bu iyon; bakteri proteinlerini denatüre ederek yapılarını bozar ve DNA bölünmelerini durdurur (176).

Ca(OH)_2 , RET'de kanal içi ilaç olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Antibiyotik patlarına göre bazı kanal içi bakterilere daha az etkili olsa da; kök hücrelere daha az sitotoksik olması, dentinden büyüme faktörlerinin salınımını sağlaması ve dentindeki

kök hücrelerin sağkalımını ve çoğalmasını arttırması gibi faktörler nedeniyle tercih edilmektedir (47, 177, 178). Ca(OH)_2 'nin, kök ucu açık nekrotik pulpal dişlerin kök kanallarına uygulandıktan sonra yapılan takiplerde; dentin duvarlarının kalınlığının artmasını ve kök gelişiminin devamını sağladığı bulunmuştur (7, 155). Ca(OH)_2 'nin, uygulandığı yerde nekroz oluşturabilme özelliğinden dolayı, koronal bölgede kullanılması; apikal bölgede kök hücrelerin sağkalımları açısından önerilmektedir (7, 109).

Uzun dönem Ca(OH)_2 kullanımı sonucu, kök kırıklarının oluşma riskinin arttığı bildirilse de (179); son yıllarda Kahler ve ark.'ın (180) yaptıkları çalışmaya göre; kontrol ve Ca(OH)_2 uygulanmış deney grupları arasında kök fraktürü oluşması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bununla birlikte Ca(OH)_2 'nin dentin kanallarına ve anatomik ayrıntılara yayılması güçtür ve bu durum, dentin kanallarındaki en önemli bakteri olan *E.faecalis* üzerine etkisini azaltmaktadır (181). RET'nin başarılı olabilmesi için kök kanal sistemindeki tüm mikroorganizmaların elimine edilmesi gerekmektedir. Çünkü dentin tübüllerinde kalan mikroorganizmalar yeniden enfeksiyon oluşturabilmekte ve kök hücrelerin yaşayabilirliğini azaltabilmektedir. Bu nedenle araştırmacılar alternatif ilaçlar araştırmaktadırlar.

2.9.2. Antibiyotik Patları

Antibiyotikler lokal ya da sistemik olarak kullanılabilir. Fakat sistemik olarak kullanılan antibiyotiklerin bazı alerjik reaksiyonlara, mikroorganizmaların direnç kazanmasına ve toksisiteye sebep olmalarının yanı sıra etkinliklerini normal kan dolaşımı varlığında gösterebilmeleri; endodontik tedavilerde lokal antibiyotik uygulamalarına yönelime neden olmuştur (182). Yapılan çalışmalarda lokal antibiyotik uygulamalarında daha etkin konsantrasyonlar elde edilebildiği gösterilmiştir (183).

Enfekte kök kanallarını sterilize etmek için lokal antibiyotiklerin kullanılması ilk defa 1972 yılında Grosman tarafından gündeme gelmiştir (184). Daha sonra

yapılan çalışmalarda, enfeksiyonlarda çoğunlukla anaerob bakterilerin bulunduğu düşünülerek, bu bakterilere etkili bir antibiyotik olan metronidazol kullanılmıştır (185). Fakat kök kanallarında meydana gelen enfeksiyon aerobik ve anaerobik bakterilerden oluşan polimikrobiyal bir enfeksiyon olduğundan; tek bir antibiyotiğin yeterli olamayacağı ve kombinasyonların yapılması gerektiği belirtilmiş ve metronidazol, bakterisidal etkili siprofloksasin ve bakteriyostatik özellikteki minosiklin ile kombine edilerek TAP oluşturulmuştur (186).

TAP'ın, kanal içi dezenfeksiyonu ve dentindeki hücrelerin büyümesini sağlayarak; revaskülarizasyona ve kök gelişimine katkı sağladığı ve bununla birlikte periapikal bölgedeki iyileşmeye de etkili olduğu gösterilmiştir (109, 158).

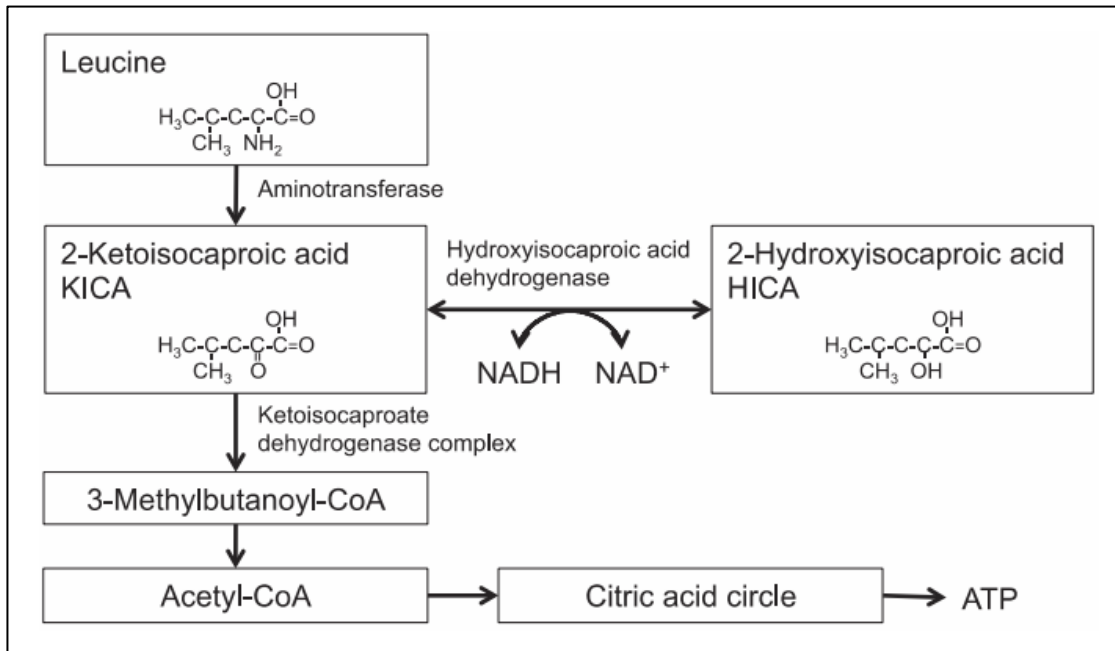
TAP'ın; bakteriyel direnç geliştirebildiği, alerjik reaksiyonlar ya da hassasiyet yaratabildiği, kök hücrelere sitotoksik etki gösterebildiği ve dişte renklenmelere sebep olabildiği belirtilmiştir (164, 187). Bu dezavantajları önleyebilmek için antibiyotik patlarınının daha düşük konsantrasyonlarda kullanılması önerilmiştir (112). Ayrıca, amoksisilin ve klavulanik asit kombinasyonu, endodontik bakterilere karşı etkinliği nedeniyle, penisilin benzeri ilaç alerjisi öyküsü olmayan hastalar için alternatif bir ilaç olarak önerilmiştir (188).

TAP içinde kullanılan minosiklin dişlerde renklenmeye sebep olmakta ve estetik problemler ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle minosiklinin TAP'dan çıkarılmasıyla elde edilen DAP kullanılması ya da minosiklin yerine sefaklor kullanılarak TAP'ın modifiye edilmesi önerilmiştir (189). DAP, TAP ile benzer özellikler göstermekte ve aynı tedavi prosedürü ile uygulanmaktadır (190).

2.9.3. 2-Hidroksiizokaproik Asit

Lösik asit, 2-hidroksi-4-metil valerik asit veya 2-hidroksi-4-metil pentanoik asit olarak da bilinen 2-hidroksiizokaproik asit (HICA), 132,16 g/mol molekül ağırlığına sahip bir lösün türevidir. İnsan plazmasının normal bir bileşeni olmasının yanı sıra,

Lactobacillus Plantarum'un da hayvansal protein fermantasyon ürünüdür (191). HICA, esas olarak kaslarda ve karaciğerde, lösinin 2-ketoizokaproik aside (KICA) transaminasyonu ve ardından yolun son ürünü olan KICA'nın hidroksiizokaproik asit dehidrogenaz enzimi ile HICA'ya indirgenmesi sonucu oluşmaktadır (192). Bu yıkım, sitrik asit döngüsünde enerji elde etmek için gerçekleştirilen normal biyolojik yolda yer almaktadır (193) (Şekil).



Şekil 2.5. Lösin degradasyon yolunun şematik gösterimi.

Amfipatik ve hidrofobik özellikteki HICA'nın antibakteriyel aktiviteye sahip olabileceği öne sürülmüştür. Bu kapsamda yapılan ilk çalışma sonucunda; HICA'nın, bağırsak florasında sıklıkla bulunan bir bakteri olan E. coli üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (194). 2012 yılında Sakko ve ark.'ın (191) yaptıkları, HICA'nın gram pozitif ve gram negatif anaerob bakteri türleri üzerinde solüsyon olarak kullanıldığı çalışmada; HICA'nın, sistemik olarak kullanılan çoklu antimikrobiyallere dirençli bakteriler de dâhil olmak üzere, geniş bir antibakteriyel etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Bu bakteriler arasında metisiline dirençli St. aureus, P. aeruginosa ve F. nucleatum da bulunmaktadır. E. faecalis için ise daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Antibakteriyel ve biyoyumlu özellikleri nedeniyle insanlarda, kök kanal sistemi de dâhil olmak üzere, birçok yerde kullanılabileceği

belirtilmiştir. Buna ek olarak HICA'nın, konakçı hücre dışı matriks degrade edici proteazların in vitro inhibisyonu yoluyla, antienflamatuar özelliklere sahip olduğuna dair kanıtlar da bulunmaktadır (195).

HICA'nın antibakteriyel etkisinin yanı sıra, antifungal etkisinin olduğu da yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir. *C. albicans* da dâhil olmak üzere *Candida*, *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerine karşı etkilidir (22).

Birçok antibakteriyel ajan organik yapılar varlığında etkinliklerini kaybetmektedir. Antibakteriyel özellikteki HICA'nın, rutinde kullanılan bir kanal içi ilaç olan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile pepton suyu içindeki dentin tozu, hidroksiapatit veya sığır serum albümini gibi potansiyel inhibitörler varlığında karşılaştırıldığında; 33 mg/mL'den büyük konsantrasyonlarında *E. faecalis* üzerinde daha uzun süre etkili olduğu ve dentindeki inhibitörlere karşı daha dirençli olduğu bulunmuştur (23). Çekilmiş insan dişlerinin kök kanallarında bulunan *E. faecalis* üzerinde yapılan bir çalışmada ise; dentinin derin tabakalarında HICA'nın %90'nın üzerinde bir bakteri eliminasyonu sağlayarak $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'den üstün olduğu bulunmuştur. Bu nedenle HICA'nın seanslar arasında kullan kanal içi ilaçlara alternatif olabileceği belirtilmiştir (196).

RET'in başarılı olabilmesi için kök kanal sistemindeki mikroorganizmaların elimine edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle antibakteriyel etkili TAP, DAP ve $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'den rutinde kanal içi ilaç olarak yararlanılmaktadır. Fakat kanal içi ilaçlar; antibakteriyel olmalarının yanında kök hücrelerin canlılığına da zarar vermemelidirler. Potansiyel bir kanal içi ilaç olarak önerilen HICA'nın, sitotoksik ve genotoksik özelliklerinin, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği bir çalışmada; HICA'nın 10 mg/ml'nin altındaki konsantrasyonlarda genotoksik ve sitotoksik olmadığı ve $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 'nin 1 mg/ml'lik standart konsantrasyonda HICA'dan daha fazla sitotoksik olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle HICA'nın, ileriki çalışmalarla birlikte, RET'de alternatif bir kanal içi ilaç olabileceği belirtilmiştir (21).

Son olarak HICA'nın, egzersiz sonrası kas kütlesini artırabildiği ve iyileşmeyi hızlandırabildiği bildirilmiştir; bu nedenle profesyonel sporcular tarafından besin takviyesi olarak kullanılmıştır (1500 mg günlük doz) (197). Bu da HICA'nın iyi bir biyoyumluluk ve güvenlik profiline sahip olduğunu desteklemektedir.

2.10. Rejeneratif Endodontik Tedavide Kullanılan Kalsiyum Silikat Esaslı Simanlar

2.10.1. Mineral Trioksit Agregat (MTA)

Endodontik cerrahi prosedürler sırasında, kök ucu kavitelerini tıkamak amacı ile Loma Linda Üniversitesi'nde geliştirilmiş bir madde olan MTA'nın dental literatüre sunulması ilk olarak Lee ve ark. (198) tarafından 1993 yılında olmuştur. 1998 yılında Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylandıktan sonra MTA; pulpa kaplamalarında, vital pulpa tedavilerinde, apeksifikasyon tedavilerinde, perforasyonlarda, rejeneratif endodontik prosedürlerde ve retrograd dolgu materyali olarak, yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (199).

MTA; biyoyumlu, stabil, vücut sıvılarında çözünmeyen, antibakteriyel ve örtücü özellikte, dentin matriksindeki büyüme faktörlerinin salınımını stimüle ederek sert doku oluşumunu ve pulpanın rejenerasyonunu sağlayan bir materyaldir (47, 200).

MTA'nın; klinik uygulamasının zorluklar göstermesi, dişte renk değişikliğine sebep olması ve toksik bileşenler içermesi gibi, bazı dezavantajlarının gözlenmesi sonucu farklı yapılarda ve isimlerde MTA'lar üretilmiştir. ProRoot MTA (Dentsply Maillefer, İsviçre) en sık kullanılanı olmakla birlikte; White ProRoot MTA (Dentsply Maillefer, İsviçre), MTA-Angelus (Solucoes. Odontologicas, Londrina, Brazil), MTA-Angelus Blanco (Solucoes Odontologicas, Londrina, Brazil), MTA Bio (Solucoes Odontologicas, Londrina, Brazil), EndoSequence BC (Brasseler, USA) ve DiaRoot Bioaggregate (Diadent Europe, Almere, Netherland) diğer ticari MTA'lardır (201).

MTA'nın Kimyasal Bileşimi ve Sertleşme Reaksiyonu

MTA nem varlığında sertleşen, hidrofilik partiküllerden oluşan gri renkli bir tozdur. İçeriğinde; trikalsiyum silikat (%52-53), dikalsiyum silikat (%23), trikalsiyum aluminat (%0-4), kalsiyum sülfat (%1,5) ve radyoopasitesini sağlayan bizmut oksit (%20) bulunmaktadır. Genel içerik ve yapı olarak Portland simana benzemekle birlikte; MTA'nın içeriğinde, Portland simanında bulunan potasyum yerine, bizmut oksit yer almaktadır (202). Ayrıca MTA'nın partikül boyutu daha küçük ve uniform bir yapı göstermektedir (203).

Gri MTA'nın dişte renk değişimine neden olabileceğinden ötürü, özellikle estetik bölgelerde kullanılabilmesi için beyaz renkli MTA üretilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda beyaz MTA içerisinde daha az miktarda alüminyum, demir ve magnezyum olduğu belirtilmiştir. Ayrıca beyaz MTA'nın partikül boyutu gri MTA'ya göre daha küçük bulunmuştur (204).

MTA tozu su ile karıştırıldığında öncelikle, kalsiyum hidroksit ve kalsiyum silikat hidrat oluşur ve daha sonra bu yapı, az miktarda kristalize olmuş pöröz solid bir jel yapısına dönüşür. MTA'ya, hidrasyon sonrası yüksek alkalin özellik kazandıracak olan Ca^{+} 'nin bizmutun etkisiyle çökmesiyle birlikte kalsiyum silikat oranı azalır (205).

MTA'nın Hazırlanması ve Uygulama Yöntemi

MTA tozu, steril su ile 3'e 1 oranında, cam veya kağıt bir zeminde, plastik veya metal bir spatül yardımıyla karıştırılabilmektedir. Karıştırma süresi 4 dakikadan daha az olmalıdır (206). MTA'nın karıştırılma sonrasında pH'ı 10,2 iken karıştırıldıktan 3 saat sonra, $Ca(OH)_2$ 'ye benzer şekilde, 12,5'e kadar yükselebilmekte ve materyal alkalin özellik kazanmaktadır. Böylece bakteri oluşumunun engellenebileceği belirtilmiştir (207).

MTA karışımının sertleşme süresinin 165 ± 5 dakika olduğu rapor edilmiştir (208). Her ne kadar uzun sertleşme süresi, materyalin daha az miktarda boyut değiştirmesine ve bu nedenle mikrosızıntıların önlenmesine yol açsa da, en önemli dezavantaj olarak kabul edilmektedir. Bu süreyi kısaltmak için kalsiyum klorür ve sodyum fosfat eklenmesi önerilmiştir (209).

Moleküler içeriği nedeniyle, karıştırılan MTA'nın operasyon alanına taşınması güç olmaktadır. Bu nedenle; retrograd amalgam taşıyıcısı, MTA taşıyıcısı, mikro-apikal olarak tasarlanmış yerleştirme sistemleri geliştirilmiştir (210). Bunun yanında MTA'nın, manuel olarak yerleştirilmesinde dolgu ve dentin arasında boşluklar kalabileceğinden, indirekt ultrasonik aktivasyon tekniği ile yerleştirilmesi önerilmiştir. Bu yöntemle yerleştirilen MTA'nın radyografik olarak daha yoğun görüldüğü bildirilmiştir (211, 212).

Tüm irrigasyon işlemleri, materyalin akarak uzaklaşmasına neden olabileceğinden, MTA yerleştirilmeden önce tamamlanmalıdır. Operasyon alanının, MTA'nın fiziksel özelliklerini etkileyebileceğinden, çok nemli ya da kuru olmamasına dikkat edilmelidir.

MTA'nın Klinik Kullanımı ve Fiziksel Özellikleri

MTA, faydalı fizyokimyasal özellikleri sayesinde pulpanın korunması, tamiri ve canlılığının devamını sağlamak için ideal bir materyal olarak görülmekte ve bu nedenle diş hekimliğinin birçok alanında yaygın olarak kullanılmaktadır.

MTA'nın klinik kullanım alanları aşağıdaki gibi belirtilmiştir (10, 207, 213);

- Pulpa kaplama materyali olarak
- Amputasyon materyali olarak
- Apeksifikasyon tedavilerinde kök ucu tıkama materyali olarak

- Kökteki rezorpsiyon alanlarında ve kök kırıklarında tamir materyali olarak
- Furkasyon ve kök perforasyonlarında tamir materyali olarak
- Retrograd dolgu materyali olarak
- RET'de, pulpa boşluğunda bakteri geçirmeyen bir yapı oluşturmak üzere, bariyer materyali olarak

MTA'nın fiziksel özellikleri;

1) *Basınç Dayanımı*: MTA'nın basınç dayanımının ilk 24 saat içinde amalgam, IRM ve Super-EBA'ninkinden önemli ölçüde daha az olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, 3 hafta sonra Super-EBA, IRM ve MTA arasında basınç dayanımı açısından önemli bir fark olmazken; MTA'nın dayanımı amalgama göre hala düşüktür (208). MTA'nın tipi, materyal ile karıştırılan sıvının pH'ı, materyal üzerindeki kondenzasyon kuvvetleri ve materyalin saklanma koşulları basınç dayanımını etkileyebileceğinden; gri MTA ve beyaz MTA'nın basınç dayanımlarının karşılaştırıldığı durumlarda çelişkili sonuçlar belirtilmiştir (214).

2) *Radyoopasite*: Bizmut oksit içeriği nedeniyle MTA'nın radyoopasitesi, dentinden daha fazladır. MTA için ortalama radyoopasite 7,17 mm kalınlıkta alüminyuma eşdeğer olarak bildirilmiştir. Kök kanal sisteminde dolgu maddesi olarak kullanılan güta-perkadan daha radyoopak olduğu bulunan MTA'nın radyograflarda kolaylıkla ayırt edilebileceği belirtilmiştir (215).

3) *pH*: MTA'nın karıştırılma sonrasında pH'ı 10,2 iken karıştırıldıktan 3 saat sonra, Ca(OH)₂'ye benzer şekilde, 12,5'e kadar yükselebilmektedir. Bu alkalen pH ile MTA, sert doku oluşmasını teşvik edebilmekte ve antibakteriyel özellik gösterebilmektedir (207).

4) *Çözünürlük*: Su/toz oranı arttıkça MTA'nın pörözitesinin ve çözünürlülüğünün arttığı belirtilmiştir. Bizmut oksit eklentisi, MTA'nın çözünürlülüğünü azaltan bir faktördür (216).

5) *Marjinal Adaptasyon ve Sızdırmazlık Kabiliyeti*: Endodontik tedavilerde başarısızlığın en önemli nedenlerinden biri; mikroorganizma ve ürünlerinin periradiküler dokulara sızmasıdır. Mikrosızıntı özellikle, retrograd dolgu ve perforasyon tamiri gibi tedavilerde başarıyı etkileyen en önemli faktördür (217). Yapılan çalışmalarda MTA ile IRM, Super-EBA ve amalgam karşılaştırıldığında MTA'nın; diğer materyaller ile diş dokuları arasında 3,8-14,9 mikron arası değişen boyutlarda aralıklar oluştuğu gözlemlendiğinden, daha az geçirgen olduğu bulunmuştur (218).

6) *Antibakteriyel ve Antifungal Özellikleri*: MTA'nın antibakteriyel ve antifungal özellikleri hakkında çelişkili sonuçlar bulunsa da; MTA'nın bazı fakültatif bakteri türlerine ve *C. albicans* üzerine etkili olduğu fakat anaeroablara karşı etkisiz olduğu bildirilmiştir (219).

7) *Biyouyumluluk*: MTA'nın yapısı, Ca^{+2} ve fosfor iyonları nedeniyle, diş dokuları ile uyumluluk göstermektedir. Non-mutajenik özellikteki MTA; Super-EBA, IRM ve amalgama göre daha az sitotoksiktir (220) ve DNA hasarına yol açmamaktadır (221). Ayrıca MTA'nın kemik hücreleri için aktif biyolojik substrat görevi gördüğü, sitokin salınımı ve interlökin üretimi gibi biyolojik olayları uyardığı gözlenmiştir (222). MTA, sement üretimine izin vermekte ve osteokondüktif özellikler göstermektedir (223).

8) *Doku Rejenerasyonu*: MTA, progenitör hücrelerin, pulpanın zarar görmüş bölgesine migrasyonunu aktive edebilmekte ve bu hücrelerin proliferasyonunu ve odontoblast benzeri hücrelere farklılaşmasını sağlayabilmektedir. Böylece pulpanın tamiri ve rejenerasyonu sağlanmış olmaktadır. MTA osteoindüktif ve osteokondüktif özellikleri nedeniyle dentin ve sement oluşumunu da sağlamaktadır (47, 224).

MTA'nın Dezavantajları

MTA'nın faydalı fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin yanı sıra bazı dezavantajları bulunmaktadır. MTA, özellikle estetiğin önem arz ettiği ön dişlerde, renklenme yapmasından ötürü problem yaratabilmektedir. İçeriğinde bazı toksik elementler barındırmakla birlikte uzun sertleşme süresine ve yüksek maliyete sahiptir. El ile hazırlandığından dolayı belli bir standardizasyon sağlanamamaktadır. Ayrıca MTA'nın kurvatürlü kanallara uygulanması zorluk teşkil etmektedir. Bununla birlikte MTA'yı çözen bir çözücünün olmaması, gerekli durumlarda bu materyalin kök kanal sisteminden uzaklaştırılmasını güç hale getirmektedir (214, 225).

2.11. Bağlanma (Adezyon)

Adezyon, farklı materyallerin ara yüzelerindeki moleküller arasında görülen çekim kuvveti olarak ifade edilebilmektedir. Adezyon oluşturmak için ilave edilen materyale 'adeziv' uygulandığı maddeye ise 'aderent' denmektedir. Adeziv ve aderent arasındaki bağlantı kimyasal ya da mekanik olabilmektedir. Kimyasal bağlantı, yüzeylerin atomik ve moleküler düzeyde bağlanmasıdır. Mekanik bağlantı ise yüzeylerin birbirine kenetlenme yoluyla tutunmasıdır (226).

Kök kanal dentinine bağlanma dayanımı, koronal dentine bağlanma dayanımından düşüktür. Aksesuar kanallar, rezorpsiyon alanları, gömülü veya serbest pulpa taşları, dentin yapısındaki varyasyonlar, kök kanal duvarının farklı seviyelerindeki dentin tübüllerinin yoğunluğu ve uygulanan dolgu tekniği bağlanma üzerinde etkilidir (227, 228).

Endodontik tedavilerin başarılı olabilmesi için kök kanal sistemine uygulanan materyaller ile dentin arasındaki bağlantı güçlü olmalıdır. Kök kanal sisteminde sıklıkla kullanılan bazı ajanların, kök kanal dolgu patlarının ya da bariyer materyallerinin bağlanma dayanımları üzerine etkileri olabileceği düşünülmüştür. NaOCl ve EDTA'nın dentin kollajenleri üzerindeki etkileriyle; Ca(OH)₂ ve antibiyotik patlarının ise

kanaldan tam olarak uzaklaştırılmamaları nedeniyle bağlanma dayanımına etkileri olabileceği bildirilmiştir (20, 229).

Endodontide kullanılan materyallerin dentine bağlanma etkinliklerinin değerlendirilmesinde bağlanma dayanımı testleri kullanılmaktadır. Bu testler arasında en çok bilinen ve sıklıkla kullanılanlar çekme(tensile), makaslama (shear) ve basma (compressive) testleridir. Tüm bu mekanik testlerin uygulanmasında, universal test cihazı kullanılmaktadır. Makaslama ve gerilim testleri, büyük yüzey alanında yapılan testlerdir. Stres uygulandığı zaman bağlanma testlerinde ayrılmalar meydana gelebilmekte ve bu genellikle dentinin veya rezinin içyapısında koheziv kırık şeklinde ortaya çıkmaktadır. Bu da materyalin bağlanma dayanımının doğru bir şekilde değerlendirilmesini engellemektedir. Bu tip bir başarısızlık materyalin, kendi içinde bir kırılma olduğunda, bağlanma dayanımı hakkında güvenilir bir bilgi vermesine engel olmaktadır (230, 231).

2.12. Push-out Testi

Diş hekimliğinde adeziv teknoloji son yıllarda hızla gelişmektedir. Bu kapsamda geliştirilen adeziv sistemlerin diş yapısına bağlanma etkinliğini araştırmak için bağlanma dayanımı testlerinden sıklıkla yararlanılmaktadır (232). Bağlanma dayanımı laboratuvar yöntemleriyle ya da klinik performansın değerlendirilmesiyle ölçülebilmektedir. Laboratuvar testleri statik ve dinamik testler olarak ikiye ayrılmaktadır (232). Statik testlerden biri olan push-out testi; postlar, kök kanal dolgu materyalleri, kök onarım materyalleri ve bariyer materyalleri gibi endodontik materyallerin bağlanma dayanımını değerlendirmek için sıklıkla kullanılmaktadır (233). Bu teknikte yaklaşık 1 mm kalınlığındaki dentin diskleri test cihazına bağlandıktan sonra, cihazın kuvvet uygulayan ucu direkt olarak kanalın içerisindeki materyale sabit hızda kuvvet uygulamakta ve bu kuvvet ile dentinden ayrılan materyalin ayrıldığı andaki kuvvet ölçülerek değerlendirilmektedir (234).

Push-out testinin diğer testlere göre önemli bir avantajı; dentin ile çevrili bir kanal içindeki materyali test edebilme ve böylece materyalin klinik kullanımını yansıtabilme yeteneğidir (235). Ayrıca bu test ile bağlanma dayanımı düşük olsa bile, kanal patlarının da değerlendirilebilmelerine olanak tanınmaktadır (236).

rnek hazırlamadaki zorluklar ve zaman alıcı yöntem nedeniyle push-out testleri evrensel bir bağlanma dayanımı testi olarak kabul edilememiştir (232). Ayrıca kullanılan uçların ve örneklerin çapı, değerlendirilen materyallerin özellikleri ve uygulanan kuvvet gibi değerşken parametreler nedeniyle sonuçlar farklılık gösterebilmektedir (237).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 03.12.2019 tarihli ve 2019/ 28-13 no'lu etik kurul raporu ile tıbbi açıdan uygun bulunmuş olup; Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (TDH-2020-18705) tarafından desteklenmiştir. Çalışmanın deney aşamaları, Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nin ARGE laboratuvarında ve Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nin laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Bu in vitro çalışmanın amacı; RET'de kanal içi ilaç olarak kullanılması önerilen HICA'nın, kök kanalından uzaklaştırılabilirliğini rutinde kullanılan kanal içi ilaçlarla (DAP ve Ca(OH)₂) karşılaştırmalı olarak değerlendirmek ve kalsiyum silikat esaslı bariyer materyalinin (ProRoot MTA) dentine bağlanma dayanımına etkisini incelemektir.

3.1. HICA'nın Kök Kanal Sisteminden Uzaklaştırılabilirliğinin Değerlendirilmesi

3.1.1. Dişlerin Seçimi, Hazırlanması ve Kök Kanal Sistemlerinin Şekillendirilmesi

Bu çalışmada 126 adet; çürüksüz, apikal gelişimini tamamlamış, tek köklü ve tek kanallı çekilmiş insan dişi kullanılmıştır. Dişler çıplak gözle, operasyon mikroskopu altında ve radyografik filmler alınarak incelenmiş olup kırık, çatlak, defektli, kalsifiye ve rezorbe dişler çalışmaya dâhil edilmemiştir. Ayrıca 10 derecenin üzerinde kök kanal eğimine sahip dişler çalışma dışı bırakılmıştır (238). Dişlerin uzunluklarının birbirine yakın olmasına dikkat edilmiştir. Bir periodontal kretuar yardımıyla dişlerin üzerindeki sert ve yumuşak dokular uzaklaştırıldıktan sonra dişler, çalışma gerçekleşene kadar serum fizyolojik içerisinde muhafaza edilmiştir.

Çalışma kapsamında kullanılan dişlerin kron kısımları servikal üçlü bölgesinden uzaklaştırıldıktan sonra, kök uzunlukları yaklaşık 14±1 mm olacak şekilde apikal

kısımları da uzaklaştırılmıştır. Elmas frez yardımıyla giriş kavitesi açılan dişlerin kanalları, nikel titanyum döner eğe sistemi olan ProTaper Universal (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA) ile sırasıyla Sx, S1, S2, F1, F2, F3, F4 ve F5'e kadar genişletilmiştir. Her eğe arasında kanallar, 2 ml %1,5'lik NaOCl ile yıkanmıştır. Standart bir iç çap elde etmek ve immatür diş modelini taklit edebilmek için, 1 numaradan 5 numaraya kadar olan Peeso reamerlar (Mani Inc, Tochigi, Japan) kanal içinde kullanılmış ve 6 numaralı reamer apekten 1 mm taşkın olacak şekilde kullanılarak standart bir kök açıklığı elde edilmiştir (Şekil). Hazırlanan dişlerin kanalları, geleneksel şırınga yöntemiyle AAE'nin önerdiği rejeneratif endodontik protokol dikkate alınarak, 20 ml %1,5'lik NaOCl ile 5 dakika ve ardından 20 ml salin ile yıkanmıştır. Kanallar, steril kağıt konlar ile kurutulmuştur.



Şekil 3.1. Dekorone edilmiş ve standart bir çap oluşturulmuş tek köklü dişlerin hazırlanması.

3.1.2. Dişlerin Gruplara Ayrılması ve Kanal İçi Medikamentlerin Uygulanması

Kanalları şekillendirilen 126 adet diş, 3 deney (n=108) ve 1 kontrol (n=18) olmak üzere, 4 gruba ayrılmıştır. Çalışma kapsamında kullanılan kanal içi ilaçlar üretici

firmaların talimatları göz önüne alınarak aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır (Şekil).

Grup 1 (Ca(OH)₂): Ca(OH)₂ tozu ile likiti temiz bir cam üzerinde karıştırılmış ve lentülo yardımıyla kanal içine uygulanmıştır.

Grup 2 (DAP): Metronidazol grubu antibiyotik olan Flagyl 500 mg tablet (Sanofi, Istanbul, Turkey) ile siproflaksasin grubu antibiyotik olan Cipro 500 mg tablet (Biofarma, Istanbul, Turkey); üzerlerindeki tabakalar bistüri yardımıyla kazındıktan sonra steril havanlarda dövülerek toz haline getirilmiştir. Temiz bir cam üzerinde her iki antibiyotik, oranları 1:1 olacak şekilde, karıştırılmıştır. Karışıma distile su, hacimce 2 (toz) :1 (distile su) olacak şekilde, eklenerek krem kıvamında bir pat elde edilmiş ve lentülo yardımıyla kanal içine uygulanmıştır.

Grup 3 (HICA): HICA (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) tozu ile deiyonize su temiz bir cam üzerinde pat formuna gelene kadar karıştırılmıştır. Karışımın pH'ı 5,2 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra steril bir plugger yardımı ile hazırlanan karışım kanal içine yerleştirilmiş ve apikal foramenden gözükünceye kadar kompanse edilmiştir.

Grup 4 (Kontrol Grubu): Kanal içi ilaç uygulanmamıştır.



Şekil 3.2. Kanal içerisinde kullanılan DAP (a), HICA (b) ve Ca(OH)_2 'nin hazırlanması.

Dişlerin kanal ağzlarına pamuk konulduktan sonra dişler, geçici bir dolgu materyali olan Cavitimi (Imicryl Dental, Türkiye) ile kapatılmıştır. Tüm dişler, rejeneratif endodontik protokolü taklit etmek amacıyla, 3 hafta 37°C 'de %100 nemli ortamda bekletilmiştir.

Kanal içi ilaç uygulanan 3 adet deney grubundan 54 adet diş (her gruptan 18 adet diş olacak şekilde); kanal içi ilaçların bariyer materyalinin bağlanma dayanımını değerlendirmek amacıyla ayrılmıştır. Bu dişlere uygulanan işlemler '*3.2 Kanal İçi İlaçların Bariyer Materyalinin Bağlanma Dayanımına Etkisi*' bölümünde ayrıntılı bir şekilde anlatılmıştır.

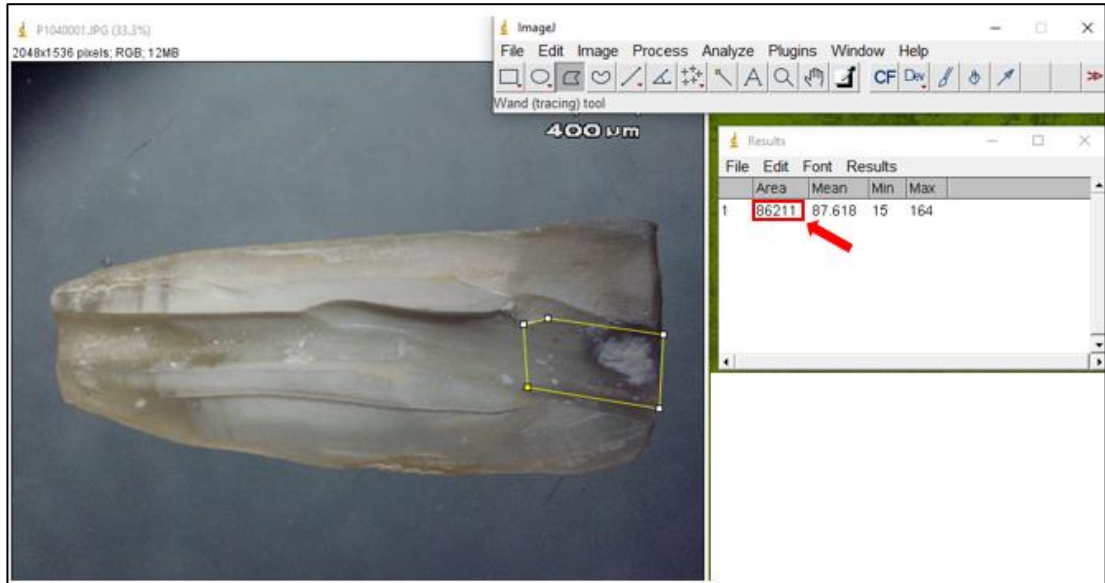
3.1.3. Kanal İçi İlaçların Uzaklaştırılması ve Kalan İlaç Miktarının İncelenmesi

3 hafta sonra, HICA'nın kök kanal sisteminden uzaklaştırılabilirliğinin değerlendirilmesi kapsamında kullanılacak olan, 54 adet dişe uygulanan geçici dolgu materyali uzaklaştırılmıştır. Kök kanalları geleneksel şırınga yöntemi kullanılarak, rejeneratif endodontik protokolü taklit etmek amacıyla, 20 ml %17'lik EDTA ile yıkanmış ve kanal içi ilacın uzaklaştırılması sağlanmıştır. Kanallar kuru kâğıt konlarla kurutulmuştur.

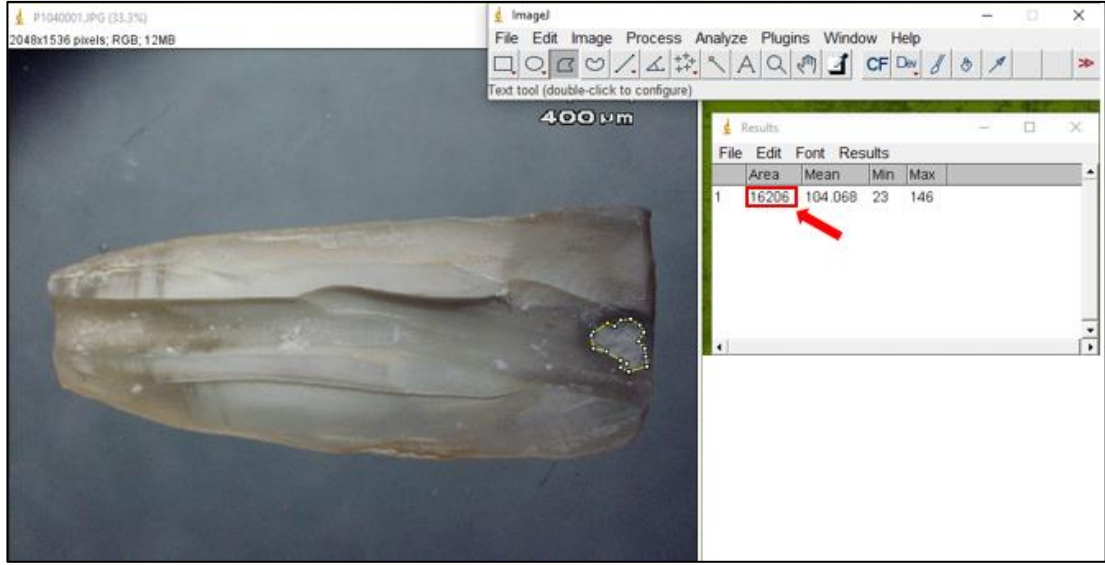
Elmas diskler kullanılarak kök kanalına girmeden diş köklerinin bukkal ve lingual taraflarında uzunlamasına oyuklar açılmış, çekiç ve keski yardımıyla dişler ikiye ayrılmıştır. Kök kanalları stereo mikroskop ile (Olympus SZ61, Olympus, Tokyo, Japonya) incelenmiş ve mikroskoba bağlı bir dijital kamera (Olympus DP12, Olympus, Tokyo, Japonya) ile görüntüler alınmıştır (Şekil 0.1). Bu alınan görüntüler bilgisayara aktarılmış ve Image J (Image J 1.47V, National Institute of Health, USA) görüntü analiz programında değerlendirilmiştir. Görüntülerdeki ikiye ayrılmış dişlerin kök kanal yüzeylerinde, koronal 4 mm'lik alan belirlenmiştir. Daha sonra belirlenen bu alanın dış yüzeyleri poligonlar ile çizilmiş ve alanı ölçülmüştür (Şekil). Çizilen alan içinde uzaklaşmadan kalan ilaç hem poligonlar hem de uygun geometrik çizimler yardımıyla belirlenmiş ve yine toplam alan hesaplanmıştır (Şekil). Daha sonra bu alanlar daha önceden belirlenen toplam alana oranlanarak yüzde cinsinden sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 0.1. Çalışma kapsamında kullanılan stereo mikroskop.

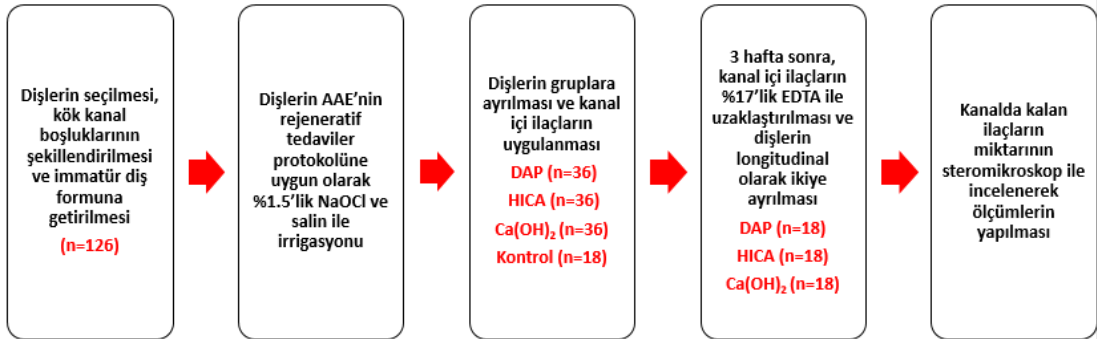


Şekil 3.4. Image J programında koronal 4 mm'lik alanın belirlenerek poligonlar yardımıyla alanının ölçülmesi (Kırmızı kutu içerisindeki rakam alanı göstermektedir).



Şekil 3.5. Image J programında koronal 4 mm'lik alan içerisinde uzaklaşmadan kalan ilacın poligonlar yardımıyla alanının ölçülmesi (Kırmızı kutu içerisindeki rakam uzaklaşmayan kanal içi ilaç alanını göstermektedir).

HICA'nın kök kanal sisteminden uzaklaştırılabilirliğinin değerlendirilmesi kapsamında gerçekleştirilen deneylerin akış şeması Şekil 'da verilmiştir.



Şekil 3.6. Kanal içi ilaçların kök kanal sisteminden uzaklaştırılabilirliğinin değerlendirilmesi kapsamında gerçekleştirilen deneylerin akış şeması.

3.2. Kanal İçi İlaçların Bariyer Materyalinin Bağlanma Dayanımına Etkisi

3.2.1. Kanal İçi İlaçların Uzaklaştırılması ve Bariyer Materyali Olarak Kullanılacak Olan Simanın Uygulanması

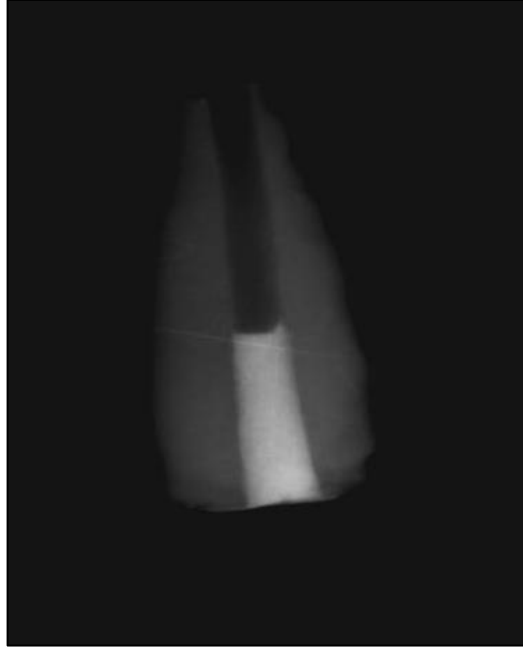
3 hafta sonra, kanal içi ilaçların bariyer materyalinin bağlanma dayanımına etkisinin değerlendirilmesi kapsamında ayrılan 54 adet dişe, uygulanmış olan geçici

dolgu materyali kaldırılmıştır. Kanal içi ilaç uygulanmayan grup (n=18), bariyer materyalinin bağlanma dayanımına etkisini değerlendirmek amacıyla kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Kök kanalları geleneksel şırınga yöntemi kullanılarak, rejeneratif endodontik protokolü taklit etmek amacıyla, 20 ml %17 EDTA ile yıkanmış ve kanal içi ilacın uzaklaştırılması sağlanmıştır. Kanallar kâğıt konilerle kurutulmuştur.

Hazırlanan dişlere bariyer materyali olarak uygulanacak olan ProRoot MTA (Dentsply, Dental Tulsa, İsviçre) üreticinin talimatları doğrultusunda hazırlanmıştır (Şekil). 1:1 toz/su oranında olacak şekilde temiz bir cam üzerinde üzerinde karıştırılan siman, steril bir plugger yardımı ile koronal 4 mm'de olacak şekilde kondanze edilmiştir. Daha sonra, dişlerden periapikal radyografi alınarak yerleştirilen simanların uygunluğu kontrol edilmiştir (Şekil). Kavitenin üzeri geçici restorasyon materyali ile kapatıldıktan sonra örnekler, petri kapları içerisinde, ıslak gazlı bezle sarılı şekilde 1 hafta 37°C ve %100 nemli ortamda bekletilmiştir (239).



Şekil 3.7. ProRoot MTA'nın hazırlanması.



Şekil 3.8. ProRoot MTA konulan dişlerin periapikal radyografi ile kontrolü.

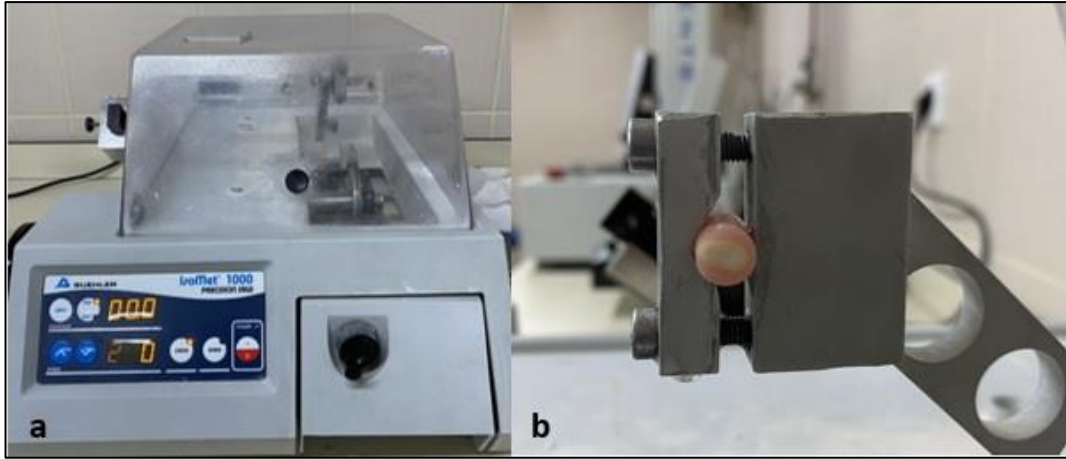
3.2.2. Hazırlanan Dişlerden Kesit Alınması

Dişler, su soğutmalı kesim bıçağı ile kesit alabilmek için, akrilik kalıplara gömülmüştür (Şekil). Daha sonra kesit alma cihazı olan ISOMET (IsoMet 1000, Buehler, IL, ABD) kullanılarak her bir dişten 2 adet olacak şekilde, düşük hızda dönen 0,3 mm kalınlığında elmas diskler (Buehler, IL, ABD) ile su soğutması altında, korondan apikale doğru giderek 1 mm kalınlığında kesitler elde edilmiştir (Şekil). Elde edilen her bir kesitin kalınlıkları 0.001 mm' lik bir hassasiyetle dijital kumpas (Teknikel, İstanbul, Türkiye) kullanılarak ölçülmüştür.

Elde edilen kesitlerde, kanal içi ilaçların ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımına etkisini değerlendirmek için, push-out testi uygulanmıştır.



Şekil 3.9. Dişlerin akrilik kalıplara gömülmesi.



Şekil 3.10. Kesit alma cihazı (a), örneklerin yerleştirilmesi ve kesit alanı görüntüsü (b).

3.3. Push-out Bağlanma Dayanımı Testi

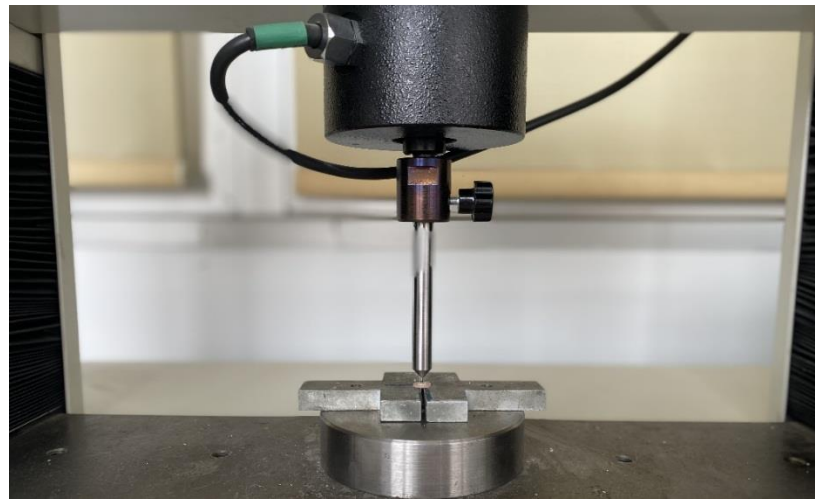
Hazırlanan örneklerin bağlanma dayanımını ölçmek için evrensel bir test cihazı (Autograph AG-10kNIS, Schimadzu Co., Kyoto, Japan) kullanılmıştır (Şekil). Örnekler, 1 mm çapındaki paslanmaz çelik silindirik uç sadece ProRoot MTA'ya temas edecek şekilde ayarlanmıştır. Kök dentini ile uygulanan siman arasında kopma meydana gelene kadar, korondan apikale doğru 1 mm/dk olacak şekilde, itme kuvveti uygulanmıştır (Şekil). TRAPEZIUM2 veri analiz programı (Schimadzu Co., Kyoto, Japan) kullanılarak kopma kuvvetleri Newton (N) cinsinden kaydedilmiş ve aşağıda verilen formüle göre bu kuvvetler Megapaskala (MPa) çevrilerek bağlanma dayanımı hesaplanmıştır (Şekil) (240).

Bağlanma Dayanımı (MPa)= Kuvvet (N) / Bağlanma Alanı (mm²)

Bağlanma Alanı= $2\pi rh$ (r= iç kanal boşluğunun yarıçapı, h= kesitlerin mm cinsinden yüksekliği)



Şekil 3.11. Push-out testinde kullanılan evrensel test cihazı.



Şekil 3.12. Örneklere 1 mm/dk olacak şekilde kuvvet uygulanması.



Şekil 3.14. Kanal içi ilaçların, ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımına etkisinin incelendiği deneylerin akış şeması.

3.5. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler SPSS 26.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kanal içi ilaçların kök kanalından uzaklaştırılabilirliğinin karşılaştırılmasında, verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi (örnek sayısı 35'ten büyük olduğu için) (242) ve çarpıklık (skewness) ve basıklık (kurtosis) parametreleri kullanılarak analiz edilmiştir (243). Veriler normal dağılım göstermediğinden grupları karşılaştırmak için parametrik olmayan testler kullanılmıştır. HICA'nın kök kanal sisteminden uzaklaştırılabilirliğinin değerlendirilmesi kapsamında yapılan deneyler sonucu elde edilen veriler; Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir.

Kanal içi ilaçların bariyer materyalinin bağlanma dayanımına etkisinin değerlendirilmesi kapsamında, verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi (örnek sayısı 35'ten büyük olduğu için) (242) ve çarpıklık (skewness) ve basıklık (kurtosis) parametreleri kullanılarak analiz edilmiştir (243). Veriler normal dağılım gösterdiğinden grupları karşılaştırmak için parametrik testler kullanılmıştır. ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımının incelenmesi kapsamında tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve Tukey's post hoc testi kullanılmıştır. Verilerin anlamlılık düzeyi $p=0.05$ olarak belirlenerek karşılaştırmalar yapılmıştır.

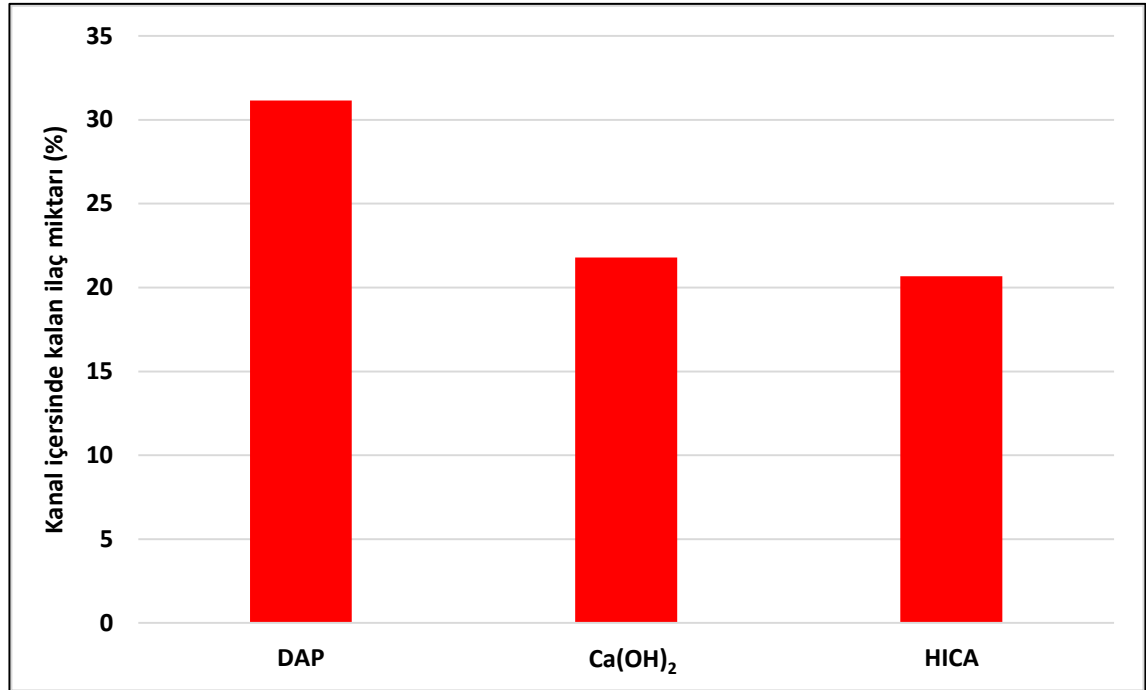
4. BULGULAR

4.1. Kanal İçi İlaçların Uzaklaştırılmasına Ait Bulgular

Kanal içi ilaçların uzaklaştırılması kapsamında yapılan deneyler sonucunda; DAP, HICA ve Ca(OH)_2 gruplarında koronal 4 mm'de kalan ilaç miktarı sırasıyla %31,15, %20,67 ve %21,79 olarak bulunmuştur (Şekil). Bu 3 grup arasında Kruskal-Wallis testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Gruplardaki kanal içerisinde kalan ilaç miktarlarının istatistiksel değerleri Şekil ve Tablo 'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. DAP (a), HICA (b) ve Ca(OH)_2 (c) gruplarında kanal içerisinde kalan ilaçlar.



Şekil 4.2. Gruplar bazında kanal içersinde kalan ilaç miktarı (%).

Tablo 4.1. Gruplar bazında kanal içersinde kalan ortalama ilaç miktarı (%) ve standart sapma değerleri.

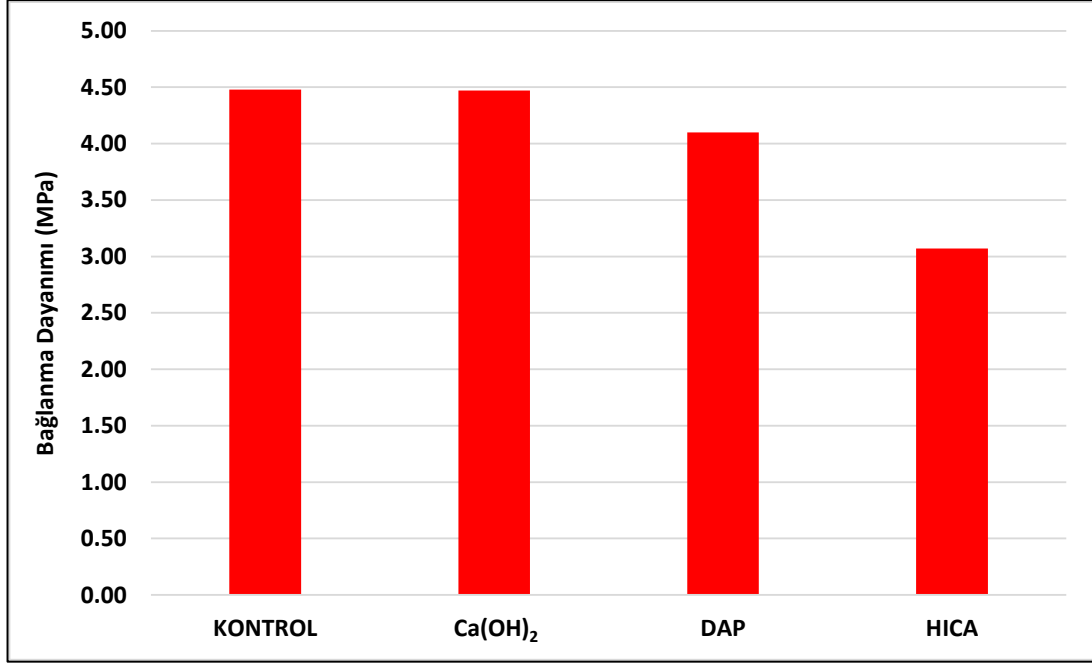
Kanal İçi İlaçlar	Örnek Sayısı	Kanal İçersinde Kalan İlaç Miktarı (%) (Ortalama ± Standart Sapma)
DAP	36	31,15 ± 33,85 ^a
HICA	36	20,67 ± 23,31 ^a
Ca(OH) ₂	36	21,79 ± 28,44 ^a

Aynı olarak yazılan harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığını göstermektedir ($p>0.05$).

4.2. Bağlanma Dayanımına Ait Bulgular

ProRoot MTA'nın DAP, HICA, Ca(OH)₂ ve kontrol grubu için bağlanma dayanımı değerleri sırasıyla; 4,01 MPa, 3,07 MPa, 4,47 MPa ve 4,48 MPa olarak bulunmuştur. Bu dört grup arasında one-way ANOVA testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). HICA grubunda ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımı diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde daha azdır

($p < 0.05$). Diğer gruplar arasında bağlanma dayanımı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 4.3. ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımı değerleri.

Tablo 4.2. Gruplar bazında göre ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımı.

Kanal İçi İlaçlar	Örnek Sayısı	Bağlanma Dayanımı (MPa= N/mm ²) (Ortalama ± Standart Sapma)	Minimum	Maksimum
DAP	36	4,1 ± 1,27 ^a	1,87	6,58
HICA	36	3,07 ± 1,33 ^b	1,02	6,61
Ca(OH) ₂	36	4,47 ± 1,19 ^a	2,63	6,79
KONTROL	36	4,48 ± 1,42 ^a	2,25	7,49

Aynı olarak yazılan harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığını göstermektedir ($p > 0.05$).

Farklı olarak yazılan harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

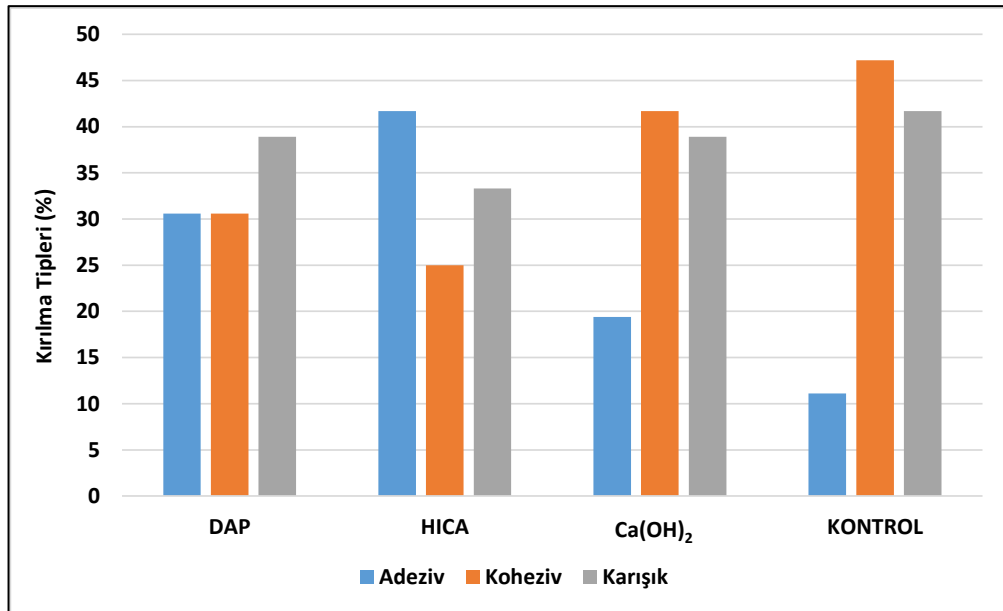
4.3. Kırılma Tiplerinin Analizine Ait Bulgular

Push-out testi için alınan kesitler ($n=144$) bir stereo mikroskop kullanılarak kırılma tiplerinin analizi kapsamında 1X, 2X ve 3X büyütme altında incelenmiştir (Şekil

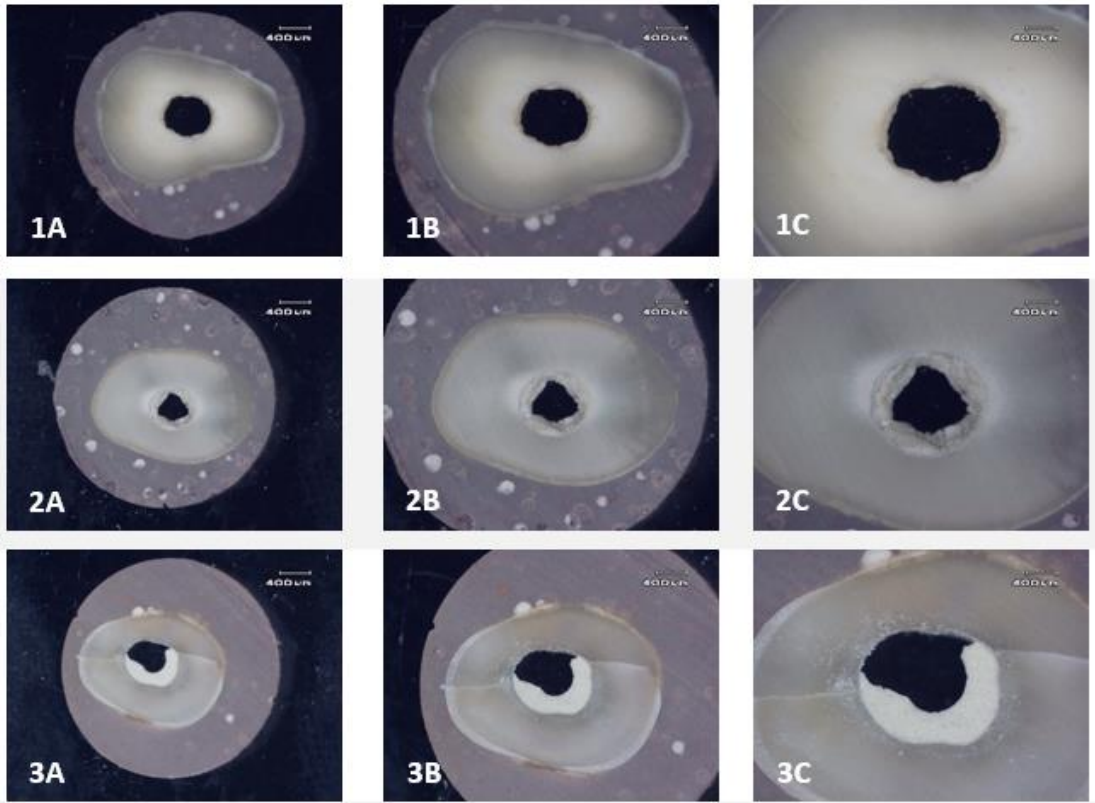
). $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ve kontrol gruplarında en sık gözlenen kırılma tipinin koheziv tip olduğu bulunmuştur. HICA grubunda adeziv tip kırıklar daha sıklıkla gözlenirken, DAP grubunda daha çok karışık tipte kırıklar saptanmıştır (Tablo) (Şekil).

Tablo 4.3. Kırılma tiplerinin analizi.

Kanal İçi İlaçlar	Örnek Sayısı	Kırılma Tipi (n, %)		
		Adeziv	Koheziv	Karışık
DAP	36	11 (30,6)	11 (30,6)	14 (38,9)
HICA	36	15 (41,7)	9 (25)	12 (33,3)
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	36	7 (19,4)	15 (41,7)	14 (38,9)
KONTROL	36	4 (11,1)	17 (47,2)	15 (41,7)



Şekil 4.4. Gruplar bazında kırılma tiplerinin yüzdeleri.



Şekil 4.5. 1,2 ve 3 nolu resimler adeziv, koheziv ve karışık tipte kırılmayı göstermektedir. A, B ve C ise sırasıyla 1X, 2X ve 3X büyütmeyi simgelemektedir.

5. TARTIŞMA

Okul yaşındaki çocukların %25'nin bir travmaya maruz kaldığı (244), %65'nin ise tedavi edilmemiş çürük bir dişe sahip olduğu (245) yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir. İmmatür dişlerde meydana gelen travma ve çürük gibi faktörler pulpa nekrozuna neden olabilmektedirler. Nekrotik hale gelen immatür dişlerde ise rutinde uygulanan kanal tedavisi prosedürlerinin uygulanmasında; ince dentin duvarları, kısa kök kanal boyu ve açık kök apeksi nedeniyle zorluklar ortaya çıkmaktadır (2). Bu nedenle günümüzde immatür dişlerin kök gelişiminin devamını ya da restore edilmesini amaçlayan RET prosedürleri tercih edilmektedir (246). RET; pulpa-dentin kompleksindeki hücreler ile dentin ve kök yapısındaki hasarlı ya da eksik yapıların yerini tercihen aynı orjinli canlı dokular ile yer değiştirmesini sağlayan biyolojik temelli prosedürler olarak tanımlanmaktadır (9).

Rejeneratif prosedürlerin etkinliğinin araştırılması kapsamında günümüze kadar birçok çalışma yapılmıştır. İmmatür dişlerle yapılan bu in vitro çalışmalarda insan dişlerinin yanı sıra sığır ve koyun dişleri de kullanılmıştır (247-249). Ancak, insan ve hayvan diş yapılarındaki anatomik ve morfolojik farklılıklar birbiriyle paralellik göstermeyen sonuçlar doğurmaktadır (250). Bu nedenle bu çalışmada çekilmiş insan dişleri kullanılmıştır. Ayrıca, literatürde çekilmiş insan dişlerinin tek köklü, tek kanallı ve kök uçlarının kapalı olması, immatür diş yapısının daha iyi yansıtılabilmesi için tercih edilmiştir. Bununla birlikte seçilen dişlerde herhangi bir çürük, kırık, çatlak, kalsifikasyon ya da rezorpsiyon olmamasına dikkat edilmelidir (247). Bu çalışmada kullanılan dişler yukarıda belirtilen kriterlere uygun olarak seçilmiş ve steril salin içerisinde bekletilmiştir.

Yapılan çalışmalarda immatür dişlerin kök kanal boşluğunu ve kök apeksi açıklığını yansıtabilmek için Peeso reamerlar kullanılmıştır. Stuart ve ark. (247), K3 eğe (Sybron Endo, Orange, USA) ve #5 numaralı Peeso reamer kullanarak immatür diş modeli elde etmişlerdir. Ulusoy ve ark. (251), ProTaper eğe sistemi ile kök kanallarını F4'e kadar genişlettikten sonra #5 numaralı Peeso reamer kullanmışlardır. Nagaş ve

ark. (20); ProTaper eğe sistemi ile F5'e kadar kök kanallarını genişleterek immatür diş modeli oluşturmuşlardır. Topçuoğlu ve ark. (239) ve Aydın ve ark. (252) ise #1-5 numaralı peeso reamerları kullandıktan sonra #6 numaralı frez kök apeksinden 1 mm taşkın olacak şekilde uygulamışlardır. Bu çalışmada ise kök kanalları ProTaper Universal eğe sistemi kullanılarak F5'e kadar genişletilmiş daha sonra sırasıyla Peeso reamerlar, #6 numaralı frez kök apeksinden 1 mm taşkın olacak şekilde kullanılmıştır. Tüm dişlerin boyutu 14 ± 1 mm olacak şekilde sabitlenmiştir.

RET'in başarısını etkileyen en önemli faktörlerden biri kök kanal boşluğunun dezenfeksiyonunun sağlanmasıdır. Mekanik temizlik, ince dentin duvarlarını daha da kırılğan hale getirebileceği için önerilmemektedir. Bu nedenle kanal içi dezenfeksiyonun sağlanmasında endodontik irrigantlar ve kanal içi ilaçlar kullanılmaktadır (246).

NaOCl, rejeneratif prosedürlerde kök kanal boşluğunun dezenfeksiyonu için en sık tercih edilen endodontik irrigasyon solüsyonudur. Literatürde yapılan çalışmalarda NaOCl'nin %0,5-6 aralığında çeşitlilik gösteren konsantrasyonları kullanılmıştır (16, 253). Ancak NaOCl, organik doku çözücü ve bakterisidal olması gibi üstün özelliklere sahip olsa da; özellikle yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında apikal bölgede bulunan kök hücrelere zarar verebilmektedir (253).

RET'den sonra çok sayıda farklılaşmamış mezenkimal kök hücre, kök kanal boşluğuna girmektedir (254). Bu hücrelerden SCAPs, immatür dişlerin apeksi ile apikal papillanın kesiştiği bölgede bulduklarından rejeneratif prosedürler sırasında kök kanal içerisine ilk başta girmesi beklenen hücrelerdir. Yüksek proliferasyon ve farklılaşma özellikleri ve enfeksiyona karşı dirençli olmaları nedeniyle SCAPs'ların apikal bölgede bulunmaları, pulpa-dentin kompleksinin rejenerasyonun başarılı olması için en önemli unsur olarak kabul edilmektedir (76, 77).

NaOCl'nin değişik konsantrasyonlarının SCAPs üzerindeki etkisinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Trevino ve ark.'nın (255) yaptıkları bir çalışmada

%6'lık NaOCl'nin SCAPs'ın sağ kalımını azalttığı gösterilmiştir. Martin ve ark.'nın (16); NaOCl'nin %1,5, %3 ve %6'lık konsantrasyonlarını karşılaştırdıkları bir başka çalışmada ise %6'lık konsantrasyondaki NaOCl'nin SCAPs'ın sağ kalımını azaltırken; %1,5'lik NaOCl'nin SCAPs sağ kalımı üzerinde minimal etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte düşük konsantrasyonlarda kullanılan NaOCl'nin yüksek hacimde ve daha uzun süre kullanılması ile yüksek konsantrasyonda gözlenen antibakteriyel etkiye benzer etkiler gösterebileceği bildirilmiştir (256, 257). Literatürdeki sonuçlar göz önüne alınarak, AEE'nin de önerileri doğrultusunda bu çalışmada %1,5'lik NaOCl kullanılmıştır.

Kök hücre sağ kalımını arttıran bir başka faktör de EDTA kullanımıdır. %1,5'lik NaOCl kullanımı sonrası %17'lik EDTA kullanımının SCAPs sağ kalımını ve farklılaşmasını arttırdığı bildirilmiştir (16). EDTA'nın inorganik doku çözebilme özelliği ile dentinde demineralizasyon sağlanmakta ve NaOCl ile birlikte kullanıldığında smear tabakası efektif bir şekilde ortadan kaldırılmaktadır (258). EDTA'nın dentinden büyüme faktörü salınımını sağladığı da göz önüne alındığında rejeneratif prosedürler için faydalı bir irriganttır. Bu nedenle bu çalışmada, 20 ml %17'lik EDTA, kanal içi ilaçların uzaklaştırılması kapsamında AEE'nin önerileri dikkate alınarak uygulanmıştır.

RET'de kök kanallarının dezenfeksiyonunu sağlamak için, NaOCl'nin yanı sıra, kanal içi ilaçlar kullanılmaktadır. Literatürde en sık kullanılan kanal içi ilaçlar Ca(OH)_2 ve metronidazol, siprofloksasin ve minosiklinden oluşan TAP'dır (117). Ca(OH)_2 ve TAP; dentinden büyüme faktörlerinin salınımını sağlamaları, dentindeki kök hücrelerin sağkalımını ve çoğalmasını arttırmaları, periapikal bölgedeki iyileşmeyi sağlamaları gibi faktörler nedeniyle tercih edilmektedir (109, 158, 178). Ancak, TAP içinde kullanılan minosiklin dişlerde renklenmeye sebep olmakta ve estetik problemler ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle literatürde minosiklinin TAP'dan çıkarılmasıyla elde edilen DAP'ın kullanılması önerilmiştir (190). Bu çalışmada da Ca(OH)_2 ile birlikte kanal içi ilaç olarak DAP kullanılmıştır.

RET’de kullanılan kanal içi ilaçlar antibakteriyel özellik gösterirken aynı zamanda apikal bölgedeki kök hücelere de zarar vermemelidir. Bu hücrelerin apikal periodontitis durumunda bile canlı kalarak rejeneratif prosedürlerde kanal içine girebildiği ve burada çeşitli hücelere farklılaşabildiği gösterilmiştir (76). Bu nedenle kök hücrelerin canlılıklarını sürdürebilmeleri rejeneratif prosedürler için önemli bir noktadır.

Ruparel ve ark. (189); Ca(OH)₂’nin hiçbir konsantrasyonda apikal papilladaki kök hücelere zarar vermediğini, hatta 1 mg/ml konsantrasyonda hücre proliferasyon ve canlılığını önemli ölçüde arttırdığını rapor etmişlerdir. Althumairy ve ark. (259); Ca(OH)₂’nin apikal papilladaki kök hücrelerin proliferasyon ve canlılığını önemli ölçüde arttırdığını bildirmişlerdir.

Literatürde; TAP’ın 1, 0,1 ve 0,01 mg/mL konsantrasyonlarının 10, 100 ve 1000 mg/mL konsantrasyonlarına göre kök hücelere daha az sitotoksik etkisi olduğu gösterilmiştir (260). Althumairy ve ark.’nın TAP ve DAP kullanarak yaptıkları bir çalışmada ise 1000 mg/ml’lik konsantrasyonda 7 gün sonra apikal papilla bölgesinde canlı kök hücrenin bulunmadığı fakat 1 mg/ml’lik konsantrasyonda herhangi bir yan etkinin gözlenmediği gösterilmiştir (259). Bu nedenle bu çalışma kapsamında AEE’nin önerileri dikkate alınarak DAP, iki antibiyotik oranları 1:1 olacak şekilde, hazırlanmıştır. Karışıma distile su, hacimce 2 (toz) :1 (distile su) olacak şekilde, eklenerek lentülo yardımıyla kanal içine uygulanmıştır (112).

Rejeneratif tedavilerde kullanılan DAP ve Ca(OH)₂’nin üstün özelliklerinin yanında renklenmeye sebep olmaları, kanaldan tam olarak uzaklaştırılmamaları, dentin yapısında değişikliklere sebep olmaları, alerjik reaksiyonlar geliştirebildikleri, patların ve RET’de bariyer materyali olarak kullanılan kalsiyum silikat esaslı materyallerin dentine bağlanma dayanımlarını düşürmeleri gibi yan etkileri de bulunmaktadır (8, 18, 19). Bu nedenle araştırmacılar alternatif ilaçlar araştırmaya yönelmişlerdir.

RET’de alternatif bir kanal içi ilaç olarak önerilen HICA; yüksek oranda antibakteriyel ve antifungal bir materyaldir (22, 23, 261). Ayrıca yapılan bir çalışmada, Ca(OH)_2 ile aynı konsantrasyonlarda kullanıldığında kök hücrelere daha az sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (21). Bununla birlikte biyouyumlu ve güvenilir bir materyal olarak bildirilen HICA’nın, iyileşmeyi hızlandırıcı etkisi de bulunmaktadır (197). Bu özellikler göz önüne alınarak bu çalışmada HICA, rutinde kullanılan kanal içi ilaçlara alternatif olarak kullanılmıştır.

RET’in başarısını etkileyen bir başka önemli faktör ise koronal sızdırmazlığın tam olarak sağlanmasıdır. Bu kapsamda kanal içi ilaçların tam olarak uzaklaştırılmasından sonra uygun bir kalsiyum silikat esaslı siman bariyer materyali olarak uygulanmalıdır. Revaskülarizasyon tedavilerinde bariyer materyali olarak kullanılan kalsiyum silikat esaslı simanlar ile kök kanal dentini arasındaki bağın güçlü olması halinde; oklüzyonun mekanik yükleri, fonksiyonel güçler ve restoratif materyallerin yerleştirilmesi sırasında uygulanan kuvvetler de dâhil olmak üzere yer değiştirme kuvvetlerine karşı dirençli bir yapı oluşmaktadır (262, 263).

Kanal içerisinden uzaklaştırılmayan kanal içi ilaç kalıntılarının, endodontik simanların kök kanal dentin duvarlarına nüfuz etmesini engelleyen fiziksel bir bariyer görevi gördükleri literatürde gösterilmiştir (264, 265). Bu nedenle, kalsiyum silikat esaslı materyaller ile dentin arasındaki bağın güçlü olması için kanal içerisinde antibakteriyel etkinlik sağlaması için uygulanan ilaçların tam olarak uzaklaştırılması gerekmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda, matür dişlerde hâlihazırda kullanılan irrigasyon yöntemleri ile kanal içi ilaçları kök kanal duvarlarından tam olarak uzaklaştırmanın mümkün olmadığı gösterilmiştir (19, 266). Bununla birlikte RET’de mekanik temizliğin, ince dentin duvarları ve apekteki kök hücrelerin canlılığının devamı için, önerilmemesi nedeniyle kanal içi ilaçların uzaklaştırılması daha da zorlaşmaktadır (20).

Literatürde, kanal içi ilaçları uzaklaştırmak için çeşitli yöntemler bulunsa da bu ilaçları kök kanalından tam olarak uzaklaştırmak mümkün değildir (19). Berkof ve

ark.'nın (183) TAP'ın kök kanalından uzaklaştırılabilirliğini araştırdıkları bir çalışmada; %88 oranında TAP'ın uzaklaşmadan kaldığını ve dentine 350 µm kadar penetre olabildiğini bildirilmişlerdir.

Literatürde yapılan başka bir çalışmada, modifiye TAP'ın kök kanallarından çıkarılmasında pasif ultrasonik irrigasyonun (PUI), geleneksel şırınga yönteminden daha etkili olduğu bulunmuştur (267). İmmatür dişlerde TAP'ın uzaklaştırılmasının değerlendirildiği bir çalışmada ise, PUI ve şırınga irrigasyonu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (268).

Ca(OH)₂'nin kanaldan uzaklaşma miktarının %20-45 aralığında olduğu bildirilmiştir (269). Salgado ve ark.'nın (270); Ca(OH)₂'nin sadece farklı solüsyonlar kullanılarak kök kanalından uzaklaştırılmasını inceledikleri bir çalışmada, tek başına NaOCl kullanılan grubun uzaklaştırılabilirlik açısından en başarısız, EDTA + %0,2 sodyum lauril sülfatın birleştirilerek kullanıldığı grubun ise en başarılı olduğu rapor edilmiştir. Margelos ve ark. (271) ise EDTA + NaOCl kombinasyonunun kullanılmasının, bu irrigantların tek başına kullanılmasına kıyasla daha fazla Ca(OH)₂ uzaklaştırdığını göstermişlerdir.

Ca(OH)₂'nin sonik aktivasyon ve PUI kullanılarak kök kanalından uzaklaştırıldığı bir çalışmada PUI'nin, sonik aktivasyondan daha başarılı olduğu bildirilmiştir (272). Kenee ve ark.'nın ve van der Sluis ve ark.'nın (273, 274) yaptıkları çalışmalarda ise ultrasonik aktivasyonun geleneksel şırınga yöntemine göre daha fazla Ca(OH)₂ uzaklaştırdığı gösterilmiştir.

Yücel ve ark. (275) Ca(OH)₂'yi farklı irrigasyon teknikleri ile 5 ml %5.25'lik NaOCl ve %17'lik EDTA kullanarak, kök kanalından uzaklaştırdıkları bir çalışmada EndoVac ve PUI'nin şırınga irrigasyonundan daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir.

Ok ve ark.'nın (276) yaptıkları bir çalışmada ise immatür dişlerde Ca(OH)₂'yi uzaklaştırmak için NaOCl, EDTA ve klorheksidin (CHX) irrigantları geleneksel iğne

yöntemi ve PUI ile kullanılmıştır. Çalışma sonucunda farklı irrigasyon solüsyonları ve teknikleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

RET’de bir diğer önemli nokta da seçilen aktivasyon sisteminin NaOCl ekstrüzyonuna olan etkisidir. İmmatür daimi dişlerdeki açık kök apeksi nedeniyle fazla miktarda NaOCl ekstrüzyonu gözlenebilmekte ve apikal bölgedeki kök hücreler zarar görebilmektedir (16). Bu kapsamda dos Reis ve ark. (277) farklı aktivasyon sistemlerinin immatür dişlerdeki NaOCl ekstrüzyonuna etkisini araştırmış ve pozitif basınçlı şırınga irrigasyonunun ultrasonik ve sonik sistemlere göre daha az miktarda ekstrüzyona sebep olduğunu göstermişlerdir. Velmurugan ve ark. (278) ise iğne irrigasyonu ve EndoVac kullanarak immatür dişlerde NaOCl ekstrüzyonunu değerlendirmişler ve EndoVac’ın daha az ekstrüzyona neden olduğunu bulmuşlardır.

Yapılan bu tez çalışmasındaki esas amaç HICA’nın kanaldan uzaklaştırılabilirliğini diğer kanal içi ilaçlarla karşılaştırmaktır. Bu nedenle rutin tedavilerde kullanılabilirlik ve klinik koşulları yansıtabilirlik açısından, AAE’nin rejeneratif tedaviler için önerileri doğrultusunda kök kanal dezenfeksiyonunu sağlamak ve takiben kanal içi ilaçları uzaklaştırmak için geleneksel şırınga yöntemi kullanılmıştır. Şırınga yöntemi ve diğer aktivasyon sistemleri arasındaki farkı değerlendirmek için ileriki çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada immatür dişlerde, kök kanalı içerisine uygulanan DAP, HICA ve Ca(OH)₂’nin kök kanalından uzaklaştırılabilirliği değerlendirilmiştir. Bu kapsamda immatür formdaki dişlerin tüm kök yüzeyleri yerine sadece koronal 4 mm’lik alan incelenmiştir. Bunun nedeni, kalsiyum silikat esaslı simanın AAE’nin önerileri doğrultusunda koronal 3-4 mm’lik alana yerleştirilmesi ve dolayısıyla bu alandaki siman-dentin bağlantısının daha fazla önem arz etmesi olarak gösterilmektedir (112).

Bu çalışmanın sonucunda DAP kök kanalı içerisinde; HICA ve Ca(OH)₂ gruplarına oranla daha fazla uzaklaşmadan kalmıştır. Ancak bu üç grup arasında kök kanalından uzaklaştırılabilirlik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark

bulunmamıştır ($p>0.05$). Literatürde daha önce bu 3 kanal içi ilacın karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak antibiyotik patları ve Ca(OH)_2 'nin karşılaştırıldığı çalışmalar göz önüne alınarak sonuçların benzer ve farklı olduğu çalışmalar literatürde yer almaktadır. Gawdat ve ark.'nın (279) yaptıkları bir çalışmada TAP ve Ca(OH)_2 'nin çeşitli aktivasyon sistemleri kullanılarak kök kanalından uzaklaştırılmaları değerlendirilmiş ve aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Berkhoff ve ark.'nın (183) yaptıkları bir çalışmada ise Ca(OH)_2 'nin TAP'a göre kök kanalından daha iyi uzaklaştırılabildiği bildirilmiştir. Bu sonucun TAP'ın dentin tübüllerine yüksek difüzyon yeteneği ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte Eymirli ve ark. (280) TAP ve Ca(OH)_2 'yi uzaklaştırmak için lazer aktivasyonu kullanmış ve TAP'ın anlamlı ölçüde daha iyi uzaklaştığını göstermişlerdir. Bu sonucu; Ca(OH)_2 'nin küçük partikül boyutu nedeniyle dentin tübüllerine daha iyi penetre olabileceği şeklinde yorumlamışlardır. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında sonuçlardaki farklılıkların; kullanılan irrigasyon aktivasyon sistemlerine, irrigasyon protokollerine ve değerlendirme yöntemlerine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Kanal içi ilaçların kök kanalından uzaklaştırılabilirliği çeşitli yöntemler kullanılarak değerlendirilmektedir. Bu kapsamda literatürde sıklıkla skorlama sisteminden yararlanılmaktadır (266, 274, 281, 282). Ancak, görüntülerin bir görüntü analiz programı yardımıyla incelenerek kanal içerisinde kalan ilaç miktarının yüzde olarak hesaplandığı çalışmalar da bulunmaktadır (279, 283). Skorlama sisteminde küçük farklılıkların tam olarak yansıtılamayacağı düşünüldüğünden bu çalışmada, kanal içerisinde kalan ilaç miktarı incelenen alana oranlanarak yüzde şeklinde sonuçlar verilmiştir.

Bu çalışmanın ikinci kısmında DAP, HICA ve Ca(OH)_2 'nin rejeneratif endodontik tedavilerde bariyer materyali olarak kullanılan MTA'nın bağlanma dayanımına etkisi incelenmiştir. Bu kapsamda push-out testinden yararlanılmıştır. Push-out testinin diğer bağlanma testlerine göre temel avantajı, materyali dentinin çevrelediği bir kanal içinde test edebilme kabiliyetidir. Böylece materyalin klinik kullanımını yansıtmaktadır (233). Ancak bu testlerde çalışmadan çalışmaya farklılık gösteren

birçok değişken olduğu için çalışmaları karşılaştırmak gc olmaktadır (284). Bu değişkenler; kök kanal preperasyon metodu, zamanlama, kesitlerin kalınlığı ve çapı, push-out testinde kullanılan metal ucun çapı ve hızı olarak gösterilmiştir (233).

Yapılan bu çalışmada kök kanalları NiTi enstrümanları takiben Peeso reamer (#1-6) kullanılarak prepare edilmiştir. Literatürde Gates-Glidden frezlerin kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (233). Topçuoğlu ve ark. ve Türk ve ark. (239, 285) dişlerden alınan kesitleri, simanın yerleştirilmesini takiben elde etmişlerdir. Ancak Nagas ve ark. (20) simanı dişlerden kesit aldıktan sonra yerleştirmişlerdir. Bunun nedeni olarak da simanın sertleşme sonrası oluşabilecek sızıntılar ve kırıklar olarak gösterilebilir. Bu alışmada MTA, kesit almadan önce uygulanmıştır. Bunun nedeni klinik koşulları daha iyi yansıtabilmektir. Ayrıca alınan kesitlerde herhangi bir çatlak ya da kırık saptanmamıştır.

Yapılan çalışmalarda push-out testi için alınan kesitlerin kalınlığı değişkenlik göstermektedir. Literatürde genellikle 1 ile 2 mm aralığında değişen kalınlıkta kesitler push-out testi için kullanılmıştır (20, 286, 287). Chen ve ark. (237) yaptıkları bir çalışmada, yüzeyler arası stres dağılımının; kesit kalınlığının kanalın çapına oranının 0,6'dan büyük olduğu durumlarda çoğunlukla etkilenmeyeceğini bildirmişlerdir. Yapılan bu tez çalışmasında 1 mm kalınlığında kesitler kullanılmış ve Peeso reamerlar ile standart bir kanal içi çap elde edilmiştir. Bu kapsamda oranın yaklaşık 0,6 olması uygun bir kesit kalınlığı olarak yorumlanmaktadır.

Bağlanma dayanımı formülünde, testte kullanılan metal ucun çapı yer almamaktadır. Ancak bu çapın değeri stres dağılımını etkileyen ve dikkat edilmesi gereken önemli bir parametredir. Nagas ve ark. (288) yaptıkları bir çalışmada; metal ucun çapının büyümesini daha yüksek bağlanma dayanımı değerleriyle ilişkilendirmişlerdir. Chen ve ark.'nın (237) yaptıkları bir çalışmada ise; metal ucun çapının yerleştirilen dolgu materyalinin çapına yakın olduğu durumlarda gerilmenin dolgu ile dentin arayüzü yakınlarında yoğunlaştığı bu nedenle de metal ucun çapının dolgu materyalinin çapından daha kc ayarlanması gerektiği bildirilmiştir. Bu

nedenle Chen ve ark. metal uç ile dolgu materyalinin çap oranının 0,85'ten küçük olması gerektiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada da 1 mm çapında metal uç kullanılmış ve oran yaklaşık 0,6 olarak saptanmıştır.

Literatürde kanal içi ilaçların kalsiyum silikat esaslı materyallerin bağlanma dayanımına etkilerinin incelendiği birçok çalışma yer almaktadır. Ca(OH)₂, TAP, Ledermix ve Augmentin'nin kanal içi ilaç olarak uygulandığı grupların, ProRoot MTA ve Biodentine'nin bağlanma dayanımına etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, bağlanma dayanımın en fazla Ca(OH)₂'nin uygulandığı grupta olduğu görülmüştür (20). Ca(OH)₂, DAP, TAP'ın uygulandığı grupların, BioAggregat (BA; Innovative BioCeramix) ve MTA'nın (MTA, Angelus) bağlanma dayanımına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise hem BioAggregat hem de MTA için Ca(OH)₂'nin uygulandığı grubun diğer gruplara oranla çok daha fazla bağlanma dayanımına sahip olduğu bulunmuştur (289).

DAP, TAP, klindamisin ile birlikte TAP, Augmentin, Ca(OH)₂ ve kontrol grubunun ProRoot MTA, Biodentine, and Endosequence'in bağlanma dayanımına etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; bağlanma dayanımının Augmentin, Ca(OH)₂ ve kontrol grubunda daha fazla olduğu bulunmuştur (290).

DAP, Ca(OH)₂, TAP ile birlikte minosiklin, TAP ile birlikte sefaklor ve kontrol grubunun ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımına etkilerinin incelendiği bir çalışmada; DAP grubunda bağlanma dayanımının diğer gruplara göre anlamlı ölçüde az olduğu gösterilmiştir (239).

TAP, Ca(OH)₂ ve kontrol grubunun ProRoot MTA ve Biodentine'nin bağlanma dayanımına etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise; TAP'ın en düşük bağlanma değerlerini gösterdiği fakat anlamlı farkın yalnızca kontrol grubuyla karşılaştırıldığında olduğu bildirilmiştir (291).

DAP, Ca(OH)₂, TAP ve kontrol grubunun ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımına etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada 4 hafta sonunda bağlanma dayanımının Ca(OH)₂ ve kontrol grubunda DAP grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur (285).

Bu çalışmada ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımı HICA grubunda diğer gruplara göre anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur (p<0.05). Ca(OH)₂ grubunda bağlanma dayanımı DAP grubuna göre fazla olsa da aralarında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Kontrol grubunda ise en yüksek bağlanma dayanımı değerleri saptanmıştır. Bunun nedeni antibiyotik patlarının yüksek dentin tübül penetrasyon kabiliyeti ile açıklanabilir. Dentin tübüllerine fazla miktarda difüze olan DAP'ın kanaldan uzaklaştırılması zorlaşmaktadır (292). Çalışmanın kanal içi medikamentlerin uzaklaştırılabilirliğinin incelendiği kısımda da DAP'ın uzaklaştırılabilirliği Ca(OH)₂'ye oranla daha düşük bulunmuştur.

Kanal içi ilaçların kök kanalından uzaklaştırılabilirliği kapsamında yapılan deneyler sonucunda DAP, HICA ve Ca(OH)₂ arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Yine bu çalışmada HICA'nın, ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımını anlamlı ölçüde düşürdüğü de saptanmıştır (p<0.05). Namazikhah ve ark.'nın (293) yaptıkları bir çalışmada; düşük pH'lı ortamda MTA'nın porözitesinin arttığını ve yüzey sertliğinin azaldığını göstermişlerdir. Kayahan ve ark.'nın (294) yaptıkları bir başka çalışmada ise düşük pH değerlerinin MTA'nın mikrosertliğini olumsuz yönde etkileyebileceği bildirilmiştir. Bu bilgiler ışığında, HICA'nın asidik yapısı nedeniyle MTA'nın bağlanma dayanımını DAP ve Ca(OH)₂'ye oranla daha fazla düşürdüğü düşünülmektedir.

Yapılan bu çalışmanın kırık tiplerinin analizi kısmı stereo mikroskop yardımı ile yapılmıştır. Sonuç olarak; Ca(OH)₂ ve kontrol gruplarında en sık gözlenen kırılma tipinin koheziv tip olduğu bulunmuştur. HICA grubunda adeziv tip kırıklar daha sıklıkla gözlenirken, DAP grubunda daha çok karışık tipte kırıklar saptanmıştır. Literatürde yapılan çalışmalarda kırık tiplerinin analizinde farklıklar yer almaktadır. Türk ve ark. (291); kontrol ve Ca(OH)₂ gruplarında çoğunlukla karışık tipte kırıklar, TAP grubunda

ise adeziv tipte kırıklar bildirmişlerdir. Topçuoğlu ve ark. (239) kontrol grubunda karışık, Ca(OH)_2 grubunda koheziv, DAP grubunda ise adeziv tipte kırıklar gözlemişlerdir. Aydın ve ark. (290) ise kontrol ve Ca(OH)_2 gruplarında karışık, DAP grubunda ise adeziv tipte kırıklar saptamışlardır. Sonuçlardaki farklılıkların kullanılan materyal ve yöntemlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Rejeneratif endodontik tedavilerde kök kanal sisteminin dezenfeksiyonu ve tekrardan enfekte olmasının önlenmesi başarıyı etkileyen önemli parametrelerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda HICA'nın geniş antibakteriyel özelliği, biyouyumlu olması ve kök hücrelere daha az sitotoksik etki göstermesi; HICA'yı rejeneratif tedavilerde potansiyel bir kanal içi ilaç haline getirmiştir. Ancak rejeneratif endodontik tedavilerde bariyer materyali olarak kullanılan simanın dentine tam adezyon göstermesi de başarıyı etkileyen bir başka faktördür. HICA'nın yüksek antibakteriyel özelliklerine ve pulpa hücreleri üzerindeki düşük sitotoksik etkisine rağmen, rejeneratif tedavilerde kullanılacaksa bağlanma dayanımını azaltıcı etkisi göz önünde bulundurulmalıdır. Yine HICA'nın dentin tübüllerinde yarattığı etkiyi ve kalsiyum silikat içerikli simanlarla etkileşimini daha iyi değerlendirebilmek için ileriki çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın sonucunda;

1. Rejeneratif endodontik tedavilerde kanal içi ilaç olarak kullanılan DAP, Ca(OH)₂ ve HICA arasında; kök kanalından uzaklaştırılabilirlik açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

2. HICA grubunda ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımı; DAP, Ca(OH)₂ ve kontrol grubuna oranla anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur (p<0.05). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05)

3. Rejeneratif endodontik tedavilerde rutinde kullanılan kanal içi ilaçlara göre HICA'nın yüksek antibakteriyel özellikleri ve pulpa hücrelerine düşük sitotoksik etkisi önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak HICA'nın rejeneratif tedavilerde kullanılacaksa, ProRoot MTA'nın bağlanma dayanımını azaltıcı yönde etkisi göz önüne alınmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Estefan BS, El Batouty KM, Nagy MM, Diogenes A. Influence of Age and Apical Diameter on the Success of Endodontic Regeneration Procedures. *J Endod.* 2016;42(11):1620-5.
2. Bortoluzzi EA, Souza EM, Reis JM, Esberard RM, Tanomaru-Filho M. Fracture strength of bovine incisors after intra-radicular treatment with MTA in an experimental immature tooth model. *Int Endod J.* 2007;40(9):684-91.
3. Pradhan DP, Chawla HS, Gauba K, Goyal A. Comparative evaluation of endodontic management of teeth with unformed apices with mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. *J Dent Child (Chic).* 2006;73(2):79-85.
4. Steiner JC, Dow PR, Cathey GM. Inducing root end closure of nonvital permanent teeth. *J Dent Child.* 1968;35(1):47-54.
5. Yassen GH, Platt JA. The effect of nonsetting calcium hydroxide on root fracture and mechanical properties of radicular dentine: a systematic review. *Int Endod J.* 2013;46(2):112-8.
6. Damle SG, Bhattal H, Loomba A. Apexification of anterior teeth: a comparative evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide paste. *J Clin Pediatr Dent.* 2012;36(3):263-8.
7. Bose R, Nummikoski P, Hargreaves K. A retrospective evaluation of radiographic outcomes in immature teeth with necrotic root canal systems treated with regenerative endodontic procedures. *J Endod.* 2009;35(10):1343-9.
8. Chen MY, Chen KL, Chen CA, Tayebaty F, Rosenberg PA, Lin LM. Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. *Int Endod J.* 2012;45(3):294-305.
9. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *J Endod.* 2007;33(4):377-90.
10. Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. *Pediatr Dent.* 2013;35(2):129-40.
11. Geisler TM. Clinical considerations for regenerative endodontic procedures. *Dent Clin North Am.* 2012;56(3):603-26.
12. Moghaddame-Jafari S, Mantellini MG, Botero TM, McDonald NJ, Nor JE. Effect of ProRoot MTA on pulp cell apoptosis and proliferation in vitro. *J Endod.* 2005;31(5):387-91.
13. Natale LC, Rodrigues MC, Xavier TA, Simoes A, de Souza DN, Braga RR. Ion release and mechanical properties of calcium silicate and calcium hydroxide materials used for pulp capping. *Int Endod J.* 2015;48(1):89-94.

14. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J.* 1996;29(2):118-24.
15. Diogenes A, Ruparel NB. Regenerative Endodontic Procedures: Clinical Outcomes. *Dent Clin North Am.* 2017;61(1):111-25.
16. Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *J Endod.* 2014;40(1):51-5.
17. Ozturk TY, Guneser MB, Taschieri S, Maddalone M, Dincer AN, Venino PM, et al. Do the intracanal medicaments affect the marginal adaptation of calcium silicate-based materials to dentin? *J Dent Sci.* 2019;14(2):157-62.
18. Akcay M, Arslan H, Yasa B, Kavrik F, Yasa E. Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by various antibiotic pastes used in revascularization. *J Endod.* 2014;40(6):845-8.
19. Pabel AK, Hulsmann M. Comparison of different techniques for removal of calcium hydroxide from straight root canals: an in vitro study. *Odontology.* 2017;105(4):453-9.
20. Nagas E, Cehreli ZC, Uyanik MO, Vallittu PK, Lassila LV. Effect of several intracanal medicaments on the push-out bond strength of ProRoot MTA and Biodentine. *Int Endod J.* 2016;49(2):184-8.
21. Selis D, Pande Y, Smoczer C, Wheeler M, Alhabeil J, Paurazas S, et al. Cytotoxicity and Genotoxicity of a New Intracanal Medicament, 2-hydroxyisocaproic Acid-An In Vitro Study. *J Endod.* 2019;45(5):578-83.
22. Sakko M, Moore C, Novak-Frazer L, Rautemaa V, Sorsa T, Hietala P, et al. 2-hydroxyisocaproic acid is fungicidal for *Candida* and *Aspergillus* species. *Mycoses.* 2014;57(4):214-21.
23. Sakko M, Tjaderhane L, Sorsa T, Hietala P, Rautemaa R. Antimicrobial 2-hydroxyisocaproic acid and chlorhexidine resist inactivation by dentine. *Int Endod J.* 2016;49(4):352-60.
24. Castellucci A, West JD. *Endodontics. Vol. 1*. Firenze: Il Tridente; 2004.
25. Kumar GS. *Orban's oral histology and embryology*. India: Elsevier; 2009.
26. Nolla CM. *The development of permanent teeth*: University of Michigan; 1952.
27. Simon S, Rilliard F, Berdal A, Machtou P. The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. *Int Endod J.* 2007;40(3):186-97.
28. Fouad AF. *Endodontic Microbiology and Pathobiology: Current State of Knowledge*. *Dent Clin North Am.* 2017;61(1):1-15.
29. Torneck CD. Effects and clinical significance of trauma to the developing permanent dentition. *Dent Clin North Am.* 1982;26(3):481-504.

30. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 2. Factors related to pulpal healing. *Endod Dent Traumatol.* 1995;11(2):59-68.
31. Andreasen JO, Ravn JJ. Epidemiology of traumatic dental injuries to primary and permanent teeth in a Danish population sample. *Int J Oral Surg.* 1972;1(5):235-9.
32. McCulloch KJ, Mills CM, Greenfeld RS, Coil JM. Dens evaginatus: review of the literature and report of several clinical cases. *J Can Dent Assoc.* 1998;64(2):104-6, 10-3.
33. Cehreli ZC, Sara S, Uysal S, Turgut MD. MTA apical plugs in the treatment of traumatized immature teeth with large periapical lesions. *Dent Traumatol.* 2011;27(1):59-62.
34. Flanagan TA. What can cause the pulps of immature, permanent teeth with open apices to become necrotic and what treatment options are available for these teeth. *Aust Endod J.* 2014;40(3):95-100.
35. Jacobsen I, Kerekes K. Long-term prognosis of traumatized permanent anterior teeth showing calcifying processes in the pulp cavity. *Scand J Dent Res.* 1977;85(7):588-98.
36. Lee R, Barrett EJ, Kenny DJ. Clinical outcomes for permanent incisor luxations in a pediatric population. II. Extrusions. *Dent Traumatol.* 2003;19(5):274-9.
37. Robertson A, Andreasen FM, Bergenholtz G, Andreasen JO, Noren JG. Incidence of pulp necrosis subsequent to pulp canal obliteration from trauma of permanent incisors. *J Endod.* 1996;22(10):557-60.
38. Abbott PV, Yu C. A clinical classification of the status of the pulp and the root canal system. *Aust Dent J.* 2007;52(1 Suppl):S17-31.
39. Cameron AC, Widmer RP. *Handbook of Pediatric Dentistry E-Book* 2013.
40. Feigin K, Shope B. Regenerative Endodontics. *J Vet Dent.* 2017;34(3):161-78.
41. Hermann BW. [On the reaction of the dental pulp to vital amputation and calxyl capping]. *Dtsch Zahnarztl Z.* 1952;7(24):1446-7.
42. Ostby BN. The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta Odontol Scand.* 1961;19:324-53.
43. Nygaard-Ostby B, Hjortdal O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. *Scand J Dent Res.* 1971;79(5):333-49.
44. Akyildiz M, Sonmez I. Rejeneratif Endodontik Tedavi: Bir Literatür Derlemesi. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Dent-Special Topics.* 2016;2:1-12.
45. Nakashima M, Reddi AH. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. *Nat Biotechnol.* 2003;21(9):1025-32.
46. Reddi AH. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. *Nat Biotechnol.* 1998;16(3):247-52.

47. Hargreaves KM, Berman LH. Cohen's pathways of the pulp; 2016.
48. Can A. A Concise Review on the Classification and Nomenclature of Stem Cells. *Turk J Hematol.* 2008;25(2):57-9.
49. Fortier LA. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg.* 2005;34(5):415-23.
50. Klimanskaya I, Chung Y, Becker S, Lu SJ, Lanza R. Human embryonic stem cell lines derived from single blastomeres. *Nature.* 2006;444(7118):481-5.
51. Zhang X, Huang J. Integrative genome-wide approaches in embryonic stem cell research. *Integr Biol (Camb).* 2010;2(10):510-6.
52. El Barky A, Ali E, Mohamed T. Stem Cells, Classifications and their Clinical Applications. *Am J Pharmacol Ther.* 2017;1:001-7.
53. Cauffman G, De Rycke M, Sermon K, Liebaers I, Van de Velde H. Markers that define stemness in ESC are unable to identify the totipotent cells in human preimplantation embryos. *Hum Reprod.* 2009;24(1):63-70.
54. Ralston A, Rossant J. The genetics of induced pluripotency. *Reproduction.* 2010;139(1):35-44.
55. Preston SL, Alison MR, Forbes SJ, Direkze NC, Poulson R, Wright NA. The new stem cell biology: something for everyone. *Mol Pathol.* 2003;56(2):86-96.
56. Knoepffler N, Schipanski D, Sorgner SL. Humanbiotechnology as social challenge : an interdisciplinary introduction to bioethics; 2016.
57. Sage EK, Loebinger MR, Polak J, Janes SM. The role of bone marrow-derived stem cells in lung regeneration and repair. *StemBook.* Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute Copyright: (c) 2008 Elizabeth K. Sage, Michael R. Loebinger, Julia Polak and Sam M. Janes.; 2008.
58. El Moshy S, Radwan IA, Rady D, Abbass MMS, El-Rashidy AA, Sadek KM, et al. Dental Stem Cell-Derived Secretome/Conditioned Medium: The Future for Regenerative Therapeutic Applications. *Stem Cells Int.* 2020;2020:7593402.
59. Jang KJ, Seonwoo H, Yang M, Park S, Lim KT, Kim J, et al. Development and characterization of waste equine bone-derived calcium phosphate cements with human alveolar bone-derived mesenchymal stem cells. *Connect Tissue Res.* 2020:1-12.
60. Jo YY, Lee HJ, Kook SY, Choung HW, Park JY, Chung JH, et al. Isolation and characterization of postnatal stem cells from human dental tissues. *Tissue Eng.* 2007;13(4):767-73.
61. Sedgley CM, Botero TM. Dental stem cells and their sources. *Dent Clin North Am.* 2012;56(3):549-61.
62. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(25):13625-30.

63. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources. *J Prosthodont Res.* 2012;56(3):151-65.
64. Morsczeck C, Reichert TE. Dental stem cells in tooth regeneration and repair in the future. *Expert Opin Biol Ther.* 2018;18(2):187-96.
65. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res.* 2002;81(8):531-5.
66. Mathieu S, El-Battari A, Dejoui J, About I. Role of injured endothelial cells in the recruitment of human pulp cells. *Arch Oral Biol.* 2005;50(2):109-13.
67. Yu J, Wang Y, Deng Z, Tang L, Li Y, Shi J, et al. Odontogenic capability: bone marrow stromal stem cells versus dental pulp stem cells. *Biol Cell.* 2007;99(8):465-74.
68. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(10):5807-12.
69. Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res.* 2003;18(4):696-704.
70. Nosrat IV, Widenfalk J, Olson L, Nosrat CA. Dental pulp cells produce neurotrophic factors, interact with trigeminal neurons in vitro, and rescue motoneurons after spinal cord injury. *Dev Biol.* 2001;238(1):120-32.
71. McCulloch CA, Bordin S. Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. *J Periodontal Res.* 1991;26(3 Pt 1):144-54.
72. Estrela C, Alencar AH, Kitten GT, Vencio EF, Gava E. Mesenchymal stem cells in the dental tissues: perspectives for tissue regeneration. *Braz Dent J.* 2011;22(2):91-8.
73. Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U, Mohl C, et al. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol.* 2005;24(2):155-65.
74. Har A, Park JC. Dental Stem Cells and Their Applications. *Chin J Dent Res.* 2015;18(4):207-12.
75. Shoi K, Aoki K, Ohya K, Takagi Y, Shimokawa H. Characterization of pulp and follicle stem cells from impacted supernumerary maxillary incisors. *Pediatr Dent.* 2014;36(3):79-84.
76. Huang GT, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *J Endod.* 2008;34(6):645-51.
77. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One.* 2006;1:e79.

78. Nada OA, El Backly RM. Stem Cells From the Apical Papilla (SCAP) as a Tool for Endogenous Tissue Regeneration. *Front Bioeng Biotechnol.* 2018;6:103.
79. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod.* 2011;37(2):133-8.
80. Zhou L-I, Liu W, Wu Y-m, Sun W-I, Dörfer C, Fawzy El-Sayed K. Oral mesenchymal stem/progenitor cells: the immunomodulatory masters. *Stem Cells Int.* 2020;2020.
81. Metzger Z, Abramovitz I. Periapical lesions of endodontic origin. *Ingle's Endodontics 6th ed* Hamilton, Canada: BC Decker. 2008:494-519.
82. Maeda H, Wada N, Nakamuta H, Akamine A. Human periapical granulation tissue contains osteogenic cells. *Cell and tissue research.* 2004;315(2):203-8.
83. Liao J, Al Shahrani M, Al-Habib M, Tanaka T, Huang GT-J. Cells isolated from inflamed periapical tissue express mesenchymal stem cell markers and are highly osteogenic. *J Endod.* 2011;37(9):1217-24.
84. Hameed MH, Gul M, Ghafoor R, Badar SB. Management of immature necrotic permanent teeth with regenerative endodontic procedures - a review of literature. *J Pak Med Assoc.* 2019;69(10):1514-20.
85. Smith AJ, Cooper PR. Regenerative Endodontics: Burning Questions. *J Endod.* 2017;43(9s):S1-s6.
86. Begue-Kirn C, Smith AJ, Ruch JV, Wozney JM, Purchio A, Hartmann D, et al. Effects of dentin proteins, transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) and bone morphogenetic protein 2 (BMP2) on the differentiation of odontoblast in vitro. *Int J Dev Biol.* 1992;36(4):491-503.
87. Smith AJ, Lesot H. Induction and regulation of crown dentinogenesis: embryonic events as a template for dental tissue repair? *Crit Rev Oral Biol Med.* 2001;12(5):425-37.
88. Cassidy N, Fahey M, Prime SS, Smith AJ. Comparative analysis of transforming growth factor-beta isoforms 1-3 in human and rabbit dentine matrices. *Arch Oral Biol.* 1997;42(3):219-23.
89. Thomadakis G, Ramoshebi LN, Crooks J, Rueger DC, Ripamonti U. Immunolocalization of Bone Morphogenetic Protein-2 and -3 and Osteogenic Protein-1 during murine tooth root morphogenesis and in other craniofacial structures. *Eur J Oral Sci.* 1999;107(5):368-77.
90. Finkelman RD, Mohan S, Jennings JC, Taylor AK, Jepsen S, Baylink DJ. Quantitation of growth factors IGF-I, SGF/IGF-II, and TGF-beta in human dentin. *J Bone Miner Res.* 1990;5(7):717-23.
91. Tomson PL, Lumley PJ, Alexander MY, Smith AJ, Cooper PR. Hepatocyte growth factor is sequestered in dentine matrix and promotes regeneration-associated events in dental pulp cells. *Cytokine.* 2013;61(2):622-9.

92. Roberts-Clark DJ, Smith AJ. Angiogenic growth factors in human dentine matrix. *Arch Oral Biol.* 2000;45(11):1013-6.
93. Tsuboi T, Mizutani S, Nakano M, Hirukawa K, Togari A. Fgf-2 regulates enamel and dentine formation in mouse tooth germ. *Calcif Tissue Int.* 2003;73(5):496-501.
94. Begue-Kirn C, Smith AJ, Lorient M, Kupferle C, Ruch JV, Lesot H. Comparative analysis of TGF beta s, BMPs, IGF1, msxs, fibronectin, osteonectin and bone sialoprotein gene expression during normal and in vitro-induced odontoblast differentiation. *Int J Dev Biol.* 1994;38(3):405-20.
95. Li Z, Jiang CM, An S, Cheng Q, Huang YF, Wang YT, et al. Immunomodulatory properties of dental tissue-derived mesenchymal stem cells. *Oral Dis.* 2014;20(1):25-34.
96. Decup F, Six N, Palmier B, Buch D, Lasfargues JJ, Salih E, et al. Bone sialoprotein-induced reparative dentinogenesis in the pulp of rat's molar. *Clin Oral Investig.* 2000;4(2):110-9.
97. Lovschall H, Fejerskov O, Flyvbjerg A. Pulp-capping with recombinant human insulin-like growth factor I (rhIGF-I) in rat molars. *Adv Dent Res.* 2001;15:108-12.
98. Kim SG, Zhou J, Solomon C, Zheng Y, Suzuki T, Chen M, et al. Effects of growth factors on dental stem/progenitor cells. *Dent Clin North Am.* 2012;56(3):563-75.
99. Prescott RS, Alsanea R, Fayad MI, Johnson BR, Wenckus CS, Hao J, et al. In vivo generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. *J Endod.* 2008;34(4):421-6.
100. Galler KM, D'Souza RN, Federlin M, Cavender AC, Hartgerink JD, Hecker S, et al. Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. *J Endod.* 2011;37(11):1536-41.
101. Yuan Z, Nie H, Wang S, Lee CH, Li A, Fu SY, et al. Biomaterial selection for tooth regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2011;17(5):373-88.
102. Raddall G, Mello I, Leung BM. Biomaterials and Scaffold Design Strategies for Regenerative Endodontic Therapy. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019;7:317.
103. Chang B, Ahuja N, Ma C, Liu X. Injectable scaffolds: Preparation and application in dental and craniofacial regeneration. *Mater Sci Eng R Rep.* 2017;111:1-26.
104. Gathani KM, Raghavendra SS. Scaffolds in regenerative endodontics: A review. *Dent Res J (Isfahan).* 2016;13(5):379-86.
105. Sureshchandra B, Roma M. Regeneration of dental pulp: A myth or hype. *Endodontology.* 2013;13(139):54.
106. Andreasen JO, Andreasen FM. Textbook and color atlas of traumatic injuries of the teeth. Copenhagen: Munksgaard; 1994.

107. Huang GT, Lin LM. Letter to the editor: comments on the use of the term "revascularization" to describe root regeneration. *J Endod.* 2008;34(5):511; author reply -2.
108. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol.* 2001;17(4):185-7.
109. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod.* 2004;30(4):196-200.
110. Hargreaves KM, Geisler T, Henry M, Wang Y. Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? *Pediatr Dent.* 2008;30(3):253-60.
111. Ulusoy AT, Turedi I, Cimen M, Cehreli ZC. Evaluation of Blood Clot, Platelet-rich Plasma, Platelet-rich Fibrin, and Platelet Pellet as Scaffolds in Regenerative Endodontic Treatment: A Prospective Randomized Trial. *J Endod.* 2019;45(5):560-6.
112. AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure. (Revised 4/1/2018): American Association of Endodontics; 2014 [Available from: https://www.aae.org/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2018/06/ConsiderationsForRegEndo_AsOfApril2018.pdf].
113. Bassetti R, Kuttenger J, Bassetti M. Regenerative endodontics after front tooth trauma. A case report. *Swiss Dent J.* 2018;128(5):393-9.
114. Timmerman A, Parashos P. Bleaching of a Discolored Tooth with Retrieval of Remnants after Successful Regenerative Endodontics. *J Endod.* 2018;44(1):93-7.
115. Subash D, Shoba K, Aman S, Bharkavi SK. Revitalization of an Immature Permanent Mandibular Molar with a Necrotic Pulp Using Platelet-Rich Fibrin: A Case Report. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(11):Zd21-zd3.
116. Paryani K, Kim SG. Regenerative endodontic treatment of permanent teeth after completion of root development: a report of 2 cases. *J Endod.* 2013;39(7):929-34.
117. Saoud TM, Martin G, Chen YH, Chen KL, Chen CA, Songtrakul K, et al. Treatment of Mature Permanent Teeth with Necrotic Pulps and Apical Periodontitis Using Regenerative Endodontic Procedures: A Case Series. *J Endod.* 2016;42(1):57-65.
118. Sato T, Hoshino E, Uematsu H, Noda T. In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs on bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. *Oral Microbiol Immunol.* 1993;8(3):172-6.
119. Ritter AL, Ritter AV, Murrah V, Sigurdsson A, Trope M. Pulp revascularization of replanted immature dog teeth after treatment with minocycline and

- doxycycline assessed by laser Doppler flowmetry, radiography, and histology. *Dent Traumatol.* 2004;20(2):75-84.
120. Kindler V, Suva D, Soulas C, Chapuis B. Haematopoietic stem cells and mesenchymal stem cells as tools for present and future cellular therapies. *Swiss Med Wkly.* 2006;136(21-22):333-7.
 121. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J Endod.* 2005;31(10):711-8.
 122. Brazelton TR, Blau HM. Optimizing techniques for tracking transplanted stem cells in vivo. *Stem Cells.* 2005;23(9):1251-65.
 123. Nakashima M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005;16(3):369-76.
 124. Venugopal J, Ramakrishna S. Applications of polymer nanofibers in biomedicine and biotechnology. *Appl Biochem Biotechnol.* 2005;125(3):147-58.
 125. Fukuda J, Khademhosseini A, Yeh J, Eng G, Cheng J, Farokhzad OC, et al. Micropatterned cell co-cultures using layer-by-layer deposition of extracellular matrix components. *Biomaterials.* 2006;27(8):1479-86.
 126. Huang GT, Sonoyama W, Chen J, Park SH. In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell Tissue Res.* 2006;324(2):225-36.
 127. Peter SJ, Miller MJ, Yasko AW, Yaszemski MJ, Mikos AG. Polymer concepts in tissue engineering. *J Biomed Mater Res.* 1998;43(4):422-7.
 128. Nakashima M. Tissue engineering in endodontics. *Aust Endod J.* 2005;31(3):111-3.
 129. Karande TS, Ong JL, Agrawal CM. Diffusion in musculoskeletal tissue engineering scaffolds: design issues related to porosity, permeability, architecture, and nutrient mixing. *Ann Biomed Eng.* 2004;32(12):1728-43.
 130. Schopper C, Ziya-Ghazvini F, Goriwoda W, Moser D, Wanschitz F, Spassova E, et al. HA/TCP compounding of a porous CaP biomaterial improves bone formation and scaffold degradation--a long-term histological study. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;74(1):458-67.
 131. Sachlos E, Czernuszka JT. Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur Cell Mater.* 2003;5:29-39; discussion -40.
 132. Guo T, Zhao J, Chang J, Ding Z, Hong H, Chen J, et al. Porous chitosan-gelatin scaffold containing plasmid DNA encoding transforming growth factor-beta1 for chondrocytes proliferation. *Biomaterials.* 2006;27(7):1095-103.
 133. Trojani C, Weiss P, Michiels JF, Vinatier C, Guicheux J, Daculsi G, et al. Three-dimensional culture and differentiation of human osteogenic cells in an

- injectable hydroxypropylmethylcellulose hydrogel. *Biomaterials*. 2005;26(27):5509-17.
134. Dhariwala B, Hunt E, Boland T. Rapid prototyping of tissue-engineering constructs, using photopolymerizable hydrogels and stereolithography. *Tissue Eng*. 2004;10(9-10):1316-22.
 135. Alhadlaq A, Mao JJ. Tissue-engineered osteochondral constructs in the shape of an articular condyle. *J Bone Joint Surg Am*. 2005;87(5):936-44.
 136. Desgrandchamps F. Biomaterials in functional reconstruction. *Curr Opin Urol*. 2000;10(3):201-6.
 137. Luo Y, Shoichet MS. A photolabile hydrogel for guided three-dimensional cell growth and migration. *Nat Mater*. 2004;3(4):249-53.
 138. Sanjana NE, Fuller SB. A fast flexible ink-jet printing method for patterning dissociated neurons in culture. *J Neurosci Methods*. 2004;136(2):151-63.
 139. Barron JA, Krizman DB, Ringeisen BR. Laser printing of single cells: statistical analysis, cell viability, and stress. *Ann Biomed Eng*. 2005;33(2):121-30.
 140. Barron JA, Wu P, Ladouceur HD, Ringeisen BR. Biological laser printing: a novel technique for creating heterogeneous 3-dimensional cell patterns. *Biomed Microdevices*. 2004;6(2):139-47.
 141. Li J, Zheng C, Zhang X, Liu X, Zhang C, Goldsmith CM, et al. Developing a convenient large animal model for gene transfer to salivary glands in vivo. *J Gene Med*. 2004;6(1):55-63.
 142. Bonadio J, Smiley E, Patil P, Goldstein S. Localized, direct plasmid gene delivery in vivo: prolonged therapy results in reproducible tissue regeneration. *Nat Med*. 1999;5(7):753-9.
 143. Rutherford RB. BMP-7 gene transfer to inflamed ferret dental pulps. *Eur J Oral Sci*. 2001;109(6):422-4.
 144. Jullig M, Zhang WV, Stott NS. Gene therapy in orthopaedic surgery: the current status. *ANZ J Surg*. 2004;74(1-2):46-54.
 145. Galler KM, Buchalla W, Hiller KA, Federlin M, Eidt A, Schiefersteiner M, et al. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *J Endod*. 2015;41(3):363-8.
 146. Shah N, Logani A, Bhaskar U, Aggarwal V. Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study. *J Endod*. 2008;34(8):919-25; Discussion 1157.
 147. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod*. 2008;34(2):166-71.

148. Nevins A, Wrobel W, Valachovic R, Finkelstein F. Hard tissue induction into pulpless open-apex teeth using collagen-calcium phosphate gel. *J Endod.* 1977;3(11):431-3.
149. Krebsbach PH, Kuznetsov SA, Satomura K, Emmons RV, Rowe DW, Robey PG. Bone formation in vivo: comparison of osteogenesis by transplanted mouse and human marrow stromal fibroblasts. *Transplantation.* 1997;63(8):1059-69.
150. KABAĞCI HF, ERDEMİR A. Rejeneratif Endodontide Büyüme Faktörleri. *J Facult Dent Atatürk Univ.*28(1):113-24.
151. Kundabala M, Parolia A, Shetty N. Regenerative endodontics: a review. *Malays Dent J.* 2010;31(2):94-100.
152. Jeeruphan T, Jantararat J, Yanpiset K, Suwannapan L, Khewsawai P, Hargreaves KM. Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study. *J Endod.* 2012;38(10):1330-6.
153. Chrepa V. Regenerative Endodontic Therapy: A treatment with Substantial Benefits. *AAE Communiqué.* 2016.
154. Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Endod Topics.* 2013;28(1):2-23.
155. Cehreli ZC, Isbitiren B, Sara S, Erbas G. Regenerative endodontic treatment (revascularization) of immature necrotic molars medicated with calcium hydroxide: a case series. *J Endod.* 2011;37(9):1327-30.
156. Kahler B, Mistry S, Moule A, Ringsmuth AK, Case P, Thomson A, et al. Revascularization outcomes: a prospective analysis of 16 consecutive cases. *J Endod.* 2014;40(3):333-8.
157. Witherspoon DE, Small JC, Regan JD, Nunn M. Retrospective analysis of open apex teeth obturated with mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2008;34(10):1171-6.
158. Thibodeau B, Trope M. Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. *Pediatr Dent.* 2007;29(1):47-50.
159. Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GT. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2010;36(1):56-63.
160. Martin G, Ricucci D, Gibbs JL, Lin LM. Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *J Endod.* 2013;39(1):138-44.
161. Song M, Cao Y, Shin SJ, Shon WJ, Chugal N, Kim RH, et al. Revascularization-associated Intracanal Calcification: Assessment of Prevalence and Contributing Factors. *J Endod.* 2017;43(12):2025-33.

162. Kahler B, Kahler SL, Lin LM. Revascularization-associated Intracanal Calcification: A Case Report with an 8-year Review. *J Endod.* 2018;44(12):1792-5.
163. Lin LM, Shimizu E, Gibbs JL, Loghin S, Ricucci D. Histologic and histobacteriologic observations of failed revascularization/revitalization therapy: a case report. *J Endod.* 2014;40(2):291-5.
164. Kim SG, Malek M, Sigurdsson A, Lin LM, Kahler B. Regenerative endodontics: a comprehensive review. *Int Endod J.* 2018;51(12):1367-88.
165. Betancourt P, Merlos A, Sierra JM, Camps-Font O, Arnabat-Dominguez J, Viñas M. Effectiveness of low concentration of sodium hypochlorite activated by Er,Cr:YSGG laser against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Lasers Med Sci.* 2019;34(2):247-54.
166. Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Habahbeh N, Qualtrough A, Worthington H, et al. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2004;37(7):438-46.
167. Galler KM, Widbiller M, Buchalla W, Eidt A, Hiller KA, Hoffer PC, et al. EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells. *Int Endod J.* 2016;49(6):581-90.
168. Nygren J. Rådgivare angående bästa sättet att vårda och bevara tändernas friskhet. Stockholm; 1838.
169. Nygren J. Radgivare Angående Basta Sattet Att Varda Ah Bevara Tandernas Fuskhet, Osv. Stockholm; 1938.
170. Hermann B. Calcium hydroxyl als mitten zum behandeln und füllen von Wurzelkanällen (dissertation). Wursburg:(printed in: Malo PRT, Kessler Nieto F. Vadillo MVM (1.987) Hidróxido de calcio y apicoformación. *Revista Española de Endodoncia* 5, 41-61). *Int Endod J.* 1920;32:257-82.
171. Lacevic A, Vranic E, Zulic I. Clinical application of calcium hydroxide in dental pathology and endodontics. *Bosn J Basic Med Sci.* 2003;3(4):26-9.
172. EYMİRLİ A, SERPER A. Endodontide kalsiyum hidroksit kullanımı. *Turkiye Klinikleri J Dental Sci.* 2010;1(3):16-23.
173. Estrela C, Pesce HF. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions from calcium hydroxide pastes in connective tissue in the dog--Part I. *Braz Dent J.* 1996;7(1):41-6.
174. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Junior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J.* 1995;6(2):85-90.
175. Safavi KE, Nichols FC. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod.* 1994;20(3):127-9.

176. Siqueira JF, Jr., Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999;32(5):361-9.
177. Labban N, Yassen GH, Windsor LJ, Platt JA. The direct cytotoxic effects of medicaments used in endodontic regeneration on human dental pulp cells. *Dent Traumatol.* 2014;30(6):429-34.
178. Heithersay GS. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. *J Br Endod Soc.* 1975;8(2):74-93.
179. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dent Traumatol.* 2002;18(3):134-7.
180. Kahler SL, Shetty S, Andreasen FM, Kahler B. The Effect of Long-term Dressing with Calcium Hydroxide on the Fracture Susceptibility of Teeth. *J Endod.* 2018;44(3):464-9.
181. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res.* 1987;66(8):1375-9.
182. Gilad JZ, Teles R, Goodson M, White RR, Stashenko P. Development of a clindamycin-impregnated fiber as an intracanal medication in endodontic therapy. *J Endod.* 1999;25(11):722-7.
183. Berkhoff JA, Chen PB, Teixeira FB, Diogenes A. Evaluation of triple antibiotic paste removal by different irrigation procedures. *J Endod.* 2014;40(8):1172-7.
184. Grossman LI. Sterilization of infected root canals. *J Am Dent Assoc.* 1972;85(4):900-5.
185. Hoshino E, Iwaku M, Sato M, Ando N, Kota K. Bactericidal efficacy of metronidazole against bacteria of human carious dentin in vivo. *Caries Res.* 1989;23(2):78-80.
186. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J.* 1996;29(2):125-30.
187. Wigler R, Kaufman AY, Lin S, Steinbock N, Hazan-Molina H, Torneck CD. Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. *J Endod.* 2013;39(3):319-26.
188. Nosrat A, Li KL, Vir K, Hicks ML, Fouad AF. Is pulp regeneration necessary for root maturation? *J Endod.* 2013;39(10):1291-5.
189. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod.* 2012;38(10):1372-5.
190. Law AS. Considerations for regeneration procedures. *J Endod.* 2013;39(3 Suppl):S44-56.

191. Sakko M, Tjaderhane L, Sorsa T, Hietala P, Jarvinen A, Bowyer P, et al. 2-Hydroxyisocaproic acid (HICA): a new potential topical antibacterial agent. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39(6):539-40.
192. Kanehisa M, Goto S, Furumichi M, Tanabe M, Hirakawa M. KEGG for representation and analysis of molecular networks involving diseases and drugs. *Nucleic Acids Res*. 2010;38(Database issue):D355-60.
193. Kanehisa M, Goto S, Sato Y, Kawashima M, Furumichi M, Tanabe M. Data, information, knowledge and principle: back to metabolism in KEGG. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(Database issue):D199-205.
194. Hietala PK, Westermarck HW, Jaarma M. Identification of antimicrobial alpha-hydroxyacids in *Lactobacillus plantarum*-fermented animal protein. *Nutr Metab*. 1979;23(3):227-34.
195. Westermarck H, Hietala P, Jaarma M, Sorsa T, Vaara M. Use of alpha-hydroxy acids in the manufacture of a medicament for the treatment of inflammation. *Extracta Oy Patent Number WO 97*. 1997;676.
196. Sakko M, Tjaderhane L, Sorsa T, Hietala P, Rautemaa R. 2-Hydroxyisocaproic acid is bactericidal in human dental root canals ex vivo. *Int Endod J*. 2017;50(5):455-63.
197. Mero AA, Ojala T, Hulmi JJ, Puurtinen R, Karila TA, Seppälä T. Effects of alpha-hydroxy-isocaproic acid on body composition, DOMS and performance in athletes. *J Int Soc Sports Nutr*. 2010;7(1):1.
198. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod*. 1993;19(11):541-4.
199. Rao A, Rao A, Shenoy R. Mineral trioxide aggregate--a review. *J Clin Pediatr Dent*. 2009;34(1):1-7.
200. Okiji T, Yoshiba K. Reparative dentinogenesis induced by mineral trioxide aggregate: a review from the biological and physicochemical points of view. *Int J Dent*. 2009;2009:464280.
201. Zafar K, Jamal S, Ghafoor R. Bio-active cements-Mineral Trioxide Aggregate based calcium silicate materials: a narrative review. *J Pak Med Assoc*. 2020;70(3):497-504.
202. Song JS, Mante FK, Romanow WJ, Kim S. Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA-Angelus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;102(6):809-15.
203. Islam I, Chng HK, Yap AU. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement. *J Endod*. 2006;32(3):193-7.
204. Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghodduzi J, Kheirieh S, Brink F. Comparison of mineral trioxide aggregate's composition with Portland cements and a new endodontic cement. *J Endod*. 2009;35(2):243-50.

205. Camilleri J. Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2008;41(5):408-17.
206. Sluyk SR, Moon PC, Hartwell GR. Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate when used as a furcation perforation repair material. *J Endod.* 1998;24(11):768-71.
207. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 1999;25(3):197-205.
208. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod.* 1995;21(7):349-53.
209. Kogan P, He J, Glickman GN, Watanabe I. The effects of various additives on setting properties of MTA. *J Endod.* 2006;32(6):569-72.
210. Mohammadi Z, Shalavi S, Soltani MK. Mineral trioxide aggregate (MTA)-like materials: an update review. *Compend Contin Educ Dent.* 2014;35(8):557-61: quiz 62.
211. Friedl CC, Williamson AE, Dawson DV, Gomez MR, Liu W. Comparison of Mechanical and Indirect Ultrasonic Placement Technique on Mineral Trioxide Aggregate Retrofill Density in Simulated Root-end Surgery. *J Endod.* 2016;42(4):650-3.
212. Aminoshariae A, Hartwell GR, Moon PC. Placement of mineral trioxide aggregate using two different techniques. *J Endod.* 2003;29(10):679-82.
213. Parirokh M, Torabinejad M, Dummer PMH. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview - part I: vital pulp therapy. *Int Endod J.* 2018;51(2):177-205.
214. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod.* 2010;36(1):16-27.
215. Shah PM, Chong BS, Sidhu SK, Ford TR. Radiopacity of potential root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996;81(4):476-9.
216. Fridland M, Rosado R. Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. *J Endod.* 2003;29(12):814-7.
217. Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod.* 2010;36(2):190-202.
218. Torabinejad M, Smith PW, Kettering JD, Pitt Ford TR. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod.* 1995;21(6):295-9.
219. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. *J Endod.* 1995;21(8):403-6.

220. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Cytotoxicity of four root end filling materials. *J Endod.* 1995;21(10):489-92.
221. Braz MG, Camargo EA, Salvadori DM, Marques ME, Ribeiro DA. Evaluation of genetic damage in human peripheral lymphocytes exposed to mineral trioxide aggregate and Portland cements. *J Oral Rehabil.* 2006;33(3):234-9.
222. Koh ET, McDonald F, Pitt Ford TR, Torabinejad M. Cellular response to Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod.* 1998;24(8):543-7.
223. Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKendry DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasam SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. *J Endod.* 1997;23(4):225-8.
224. Paranjpe A, Smoot T, Zhang H, Johnson JD. Direct contact with mineral trioxide aggregate activates and differentiates human dental pulp cells. *J Endod.* 2011;37(12):1691-5.
225. Monisha R, Manish R. MTA as a revolution in endodontics—a review. *J Dent Med Sci.* 2013;9:18-21.
226. Dayangaç B. Kompozit rezin restorasyonlar. Ankara: Günes Kitabevi; 2000.
227. Stevens RW, Strother JM, McClanahan SB. Leakage and sealer penetration in smear-free dentin after a final rinse with 95% ethanol. *J Endod.* 2006;32(8):785-8.
228. de Deus GA, Martins F, Lima AC, Gurgel-Filho ED, Maniglia CF, Coutinho-Filho T. Analysis of the film thickness of a root canal sealer following three obturation techniques. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(2):119-25.
229. Mjor IA, Smith MR, Ferrari M, Mannocci F. The structure of dentine in the apical region of human teeth. *Int Endod J.* 2001;34(5):346-53.
230. Meira JB, Souza RM, Driemeier L, Ballester RY. Stress concentration in microtensile tests using uniform material. *J Adhes Dent.* 2004;6(4):267-73.
231. Della Bona A, van Noort R. Shear vs. tensile bond strength of resin composite bonded to ceramic. *J Dent Res.* 1995;74(9):1591-6.
232. El Mourad AM. Assessment of Bonding Effectiveness of Adhesive Materials to Tooth Structure using Bond Strength Test Methods: A Review of Literature. *Open Dent J.* 2018;12:664-78.
233. Brichko J, Burrow MF, Parashos P. Design Variability of the Push-out Bond Test in Endodontic Research: A Systematic Review. *J Endod.* 2018;44(8):1237-45.
234. Frankenberger R, Kramer N, Petschelt A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Oper Dent.* 2000;25(4):324-30.
235. Huffman BP, Mai S, Pinna L, Weller RN, Primus CM, Gutmann JL, et al. Dislocation resistance of ProRoot Endo Sealer, a calcium silicate-based root canal sealer, from radicular dentine. *Int Endod J.* 2009;42(1):34-46.

236. Ungor M, Onay EO, Orucoglu H. Push-out bond strengths: the Epiphany-Resilon endodontic obturation system compared with different pairings of Epiphany, Resilon, AH Plus and gutta-percha. *Int Endod J.* 2006;39(8):643-7.
237. Chen WP, Chen YY, Huang SH, Lin CP. Limitations of push-out test in bond strength measurement. *J Endod.* 2013;39(2):283-7.
238. Schneider SW. A comparison of canal preparations in straight and curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1971;32(2):271-5.
239. Topçuoğlu HS, Arslan H, Akçay M, Saygili G, Çakici F, Topçuoğlu G. The effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on the dislocation resistance of mineral trioxide aggregate to root canal dentin. *J Endod.* 2014;40(12):2041-4.
240. Patierno JM, Rueggeberg FA, Anderson RW, Weller RN, Pashley DH. Push-out strength and SEM evaluation of resin composite bonded to internal cervical dentin. *Endod Dent Traumatol.* 1996;12(5):227-36.
241. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Irvani A, Kharrazifard MJ, Dummer PM. Effect of acidic environment on the push-out bond strength of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2010;36(5):871-4.
242. Demir E, Saatçioğlu Ö, İmrol F. Uluslararası dergilerde yayımlanan eğitim araştırmalarının normallik varsayımları açısından incelenmesi. *Current Research in Education.* 2016;2(3):130-48.
243. Kim HY. Statistical notes for clinical researchers: assessing normal distribution (2) using skewness and kurtosis. *Restor Dent Endod.* 2013;38(1):52-4.
244. Krasner P, Rankow HJ. New philosophy for the treatment of avulsed teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79(5):616-23.
245. Brickhouse TH, Unkel JH, Porter AS, Lazar EL. Insurance status and untreated dental caries in Virginia schoolchildren. *Pediatr Dent.* 2007;29(6):493-9.
246. Garcia-Godoy F, Murray PE. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dent Traumatol.* 2012;28(1):33-41.
247. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ. Reinforcement of immature roots with a new resin filling material. *J Endod.* 2006;32(4):350-3.
248. Bortoluzzi E, Souza E, Reis JMdsN, Esberard R, Tanomaru-Filho M. Fracture strength of bovine incisors after intra-radicular treatment with MTA in an experimental immature tooth model. *Int Endod J.* 2007;40(9):684-91.
249. Hatibovic-Kofman S, Raimundo L, Chong L, Moreno J, Zheng L, editors. Mineral trioxide aggregate in endodontic treatment for immature teeth. 2006 International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society; 2006: IEEE.

250. Cauwels RG, Pieters IY, Martens LC, Verbeeck RM. Fracture resistance and reinforcement of immature roots with gutta percha, mineral trioxide aggregate and calcium phosphate bone cement: a standardized in vitro model. *Dent Traumatol.* 2010;26(2):137-42.
251. Ulusoy Ö, Nayır Y, Darendeliler-Yaman S. Effect of different root canal sealers on fracture strength of simulated immature roots. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(4):544-7.
252. Aydin MN, Buldur B, Joas, Technology. The effect of intracanal placement of various medicaments on the bond strength of three calcium silicate-based cements to root canal dentin. *J Adhes Sci Technol.* 2018;32(5):542-52.
253. Diogenes AR, Ruparel NB, Teixeira FB, Hargreaves KM. Translational science in disinfection for regenerative endodontics. *J Endod.* 2014;40(4 Suppl):S52-7.
254. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the Delivery of Mesenchymal Stem Cells into the Root Canal Space of Necrotic Immature Teeth after Clinical Regenerative Endodontic Procedure. *J Endod.* 2011;37(2):133-8.
255. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, et al. Effect of Irrigants on the Survival of Human Stem Cells of the Apical Papilla in a Platelet-rich Plasma Scaffold in Human Root Tips. *J Endod.* 2011;37(8):1109-15.
256. Moorer W, Wesselink P. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J.* 1982;15(4):187-96.
257. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod.* 2000;26(6):331-4.
258. Goldman M, Kronman JH, Goldman LB, Clausen H, Grady J. New method of irrigation during endodontic treatment. *J Endod.* 1976;2(9):257-60.
259. Althumairy RI, Teixeira FB, Diogenes A. Effect of dentin conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. *J Endod.* 2014;40(4):521-5.
260. Reyhani MF, Rahimi S, Fathi Z, Shakouie S, Milani AS, Barhaghi MHS, et al. Evaluation of antimicrobial effects of different concentrations of triple antibiotic paste on mature biofilm of *Enterococcus faecalis*. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2015;9(3):138.
261. Leelapornpisid W, Qualtrough A, Silikas N, Richardson R. University of Manchester. Investigation of antimicrobial properties of root canal medicaments on multi-species bacterial-fungal biofilms; 2019.
262. Gurgel-Filho ED, Leite FM, Lima JBd, Montenegro JPC, Saavedra F, Silva EJNL. Comparative evaluation of push-out bond strength of a MTA-based root canal sealer. *Braz J Oral Sci.* 2014;13(2):114-7.

263. Hashem AAR, Amin SAW. The effect of acidity on dislodgment resistance of mineral trioxide aggregate and bioaggregate in furcation perforations: an in vitro comparative study. *J Endod.* 2012;38(2):245-9.
264. Guiotti FA, Kuga MC, Duarte MAH, Sant'Anna Júnior A, Faria G. Effect of calcium hydroxide dressing on push-out bond strength of endodontic sealers to root canal dentin. *Braz Oral Res.* 2014;28(1):1-6.
265. Gokturk H, Ozkocak I, Buyukgebiz F, Demir O. An in vitro evaluation of various irrigation techniques for the removal of double antibiotic paste from root canal surfaces. *J Appl Oral Sci.* 2016;24(6):568-74.
266. Aksel H, Kucukkaya Eren S, Serper A. Comparison of triple antibiotic paste removal by different irrigation techniques. *Dent Mater J.* 2017;36(3):303-8.
267. Akman M, Akbulut MB, Aydinbelge HA, Belli S. Comparison of Different Irrigation Activation Regimens and Conventional Irrigation Techniques for the Removal of Modified Triple Antibiotic Paste from Root Canals. *J Endod.* 2015;41(5):720-4.
268. Turkeydin D, Demir E, Basturk FB, Sazak Övecoglu H. Efficacy of XP-Endo Finisher in the Removal of Triple Antibiotic Paste from Immature Root Canals. *J Endod.* 2017;43(9):1528-31.
269. Lambrianidis T, Margelos J, Beltes P. Removal efficiency of calcium hydroxide dressing from the root canal. *J Endod.* 1999;25(2):85-8.
270. Salgado RJC, Moura-Netto C, Yamazaki AK, Cardoso LN, de Moura AAM, Prokopowitsch I. Comparison of different irrigants on calcium hydroxide medication removal: microscopic cleanliness evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(4):580-4.
271. Margelos J, Eliades G, Verdellis C, Palaghias G. Interaction of calcium hydroxide with zinc oxide-eugenol type sealers: a potential clinical problem. *J Endod.* 1997;23(1):43-8.
272. Wiseman A, Cox TC, Paranjpe A, Flake NM, Cohenca N, Johnson JD. Efficacy of sonic and ultrasonic activation for removal of calcium hydroxide from mesial canals of mandibular molars: a microtomographic study. *J Endod.* 2011;37(2):235-8.
273. Kenee DM, Allemang JD, Johnson JD, Hellstein J, Nichol BK. A quantitative assessment of efficacy of various calcium hydroxide removal techniques. *J Endod.* 2006;32(6):563-5.
274. Van der Sluis L, Wu M, Wesselink P. The evaluation of removal of calcium hydroxide paste from an artificial standardized groove in the apical root canal using different irrigation methodologies. *Int Endod J.* 2007;40(1):52-7.
275. Yücel AÇ, Gürel M, Güler E, Karabucak B. Comparison of final irrigation techniques in removal of calcium hydroxide. *Aust Endod J.* 2013;39(3):116-21.

276. Ok E, Altunsoy M, Tanriver M, Çapar İ D. Effectiveness of different irrigation protocols on calcium hydroxide removal from simulated immature teeth after apexification. *Acta Biomater Odontol Scand*. 2015;1(1):1-5.
277. dos Reis S, Cruz VM, Duarte MAH, da Silveira Bueno CE, Vivan RR, Pelegrine RA, et al. Volumetric analysis of irrigant extrusion in immature teeth after different final agitation techniques. *J Endod*. 2020;46(5):682-7.
278. Velmurugan N, Sooriaprakas C, Jain P. Apical extrusion of irrigants in immature permanent teeth by using EndoVac and needle irrigation: An in vitro study. *J Dent*. 2014;11(4):433.
279. Gawdat S, Sh E. Efficacy of XP-Endo finisher file compared to passive ultrasonic irrigation and conventional syringe irrigation on removal of triple antibiotic paste and calcium hydroxide. *ENDO (Lond Engl)*. 2017;11(3):221-8.
280. Eymirli A, Nagas E, Uyanik MO, Cehreli ZC. Effect of Laser-Activated Irrigation with Ethylene Diaminetetraacetic Acid and Phytic Acid on the Removal of Calcium Hydroxide and Triple Antibiotic Paste from Root Dentin. *Photomed Laser Surg*. 2017;35(1):43-8.
281. Yücel A, Gürel M, Güler E, Karabucak B. Comparison of final irrigation techniques in removal of calcium hydroxide. *Aust Endod J*. 2013;39(3):116-21.
282. Donnermeyer D, Wyrsh H, Burklein S, Schafer E. Removal of Calcium Hydroxide from Artificial Grooves in Straight Root Canals: Sonic Activation Using EDDY Versus Passive Ultrasonic Irrigation and XPendo Finisher. *J Endod*. 2019;45(3):322-6.
283. Chou K, George R, Walsh LJ. Effectiveness of different intracanal irrigation techniques in removing intracanal paste medicaments. *Aust Endod J*. 2014;40(1):21-5.
284. De-Deus G, Di Giorgi K, Fidel S, Fidel RA, Paciornik S. Push-out bond strength of Resilon/Epiphany and Resilon/Epiphany self-etch to root dentin. *J Endod*. 2009;35(7):1048-50.
285. Turk T, Ozisik B, Aydin B. Time-dependent effectiveness of the intracanal medicaments used for pulp revascularization on the dislocation resistance of MTA. *BMC Oral Health*. 2015;15(1):1-6.
286. Sly MM, Moore BK, Platt JA, Brown CE. Push-out bond strength of a new endodontic obturation system (Resilon/Epiphany). *J Endod*. 2007;33(2):160-2.
287. Carvalho C, Martinelli J, Bauer J, Haapasalo M, Shen Y, Bradaschia-Correa V, et al. Micropush-out dentine bond strength of a new gutta-percha and niobium phosphate glass composite. *Int Endod J*. 2015;48(5):451-9.
288. Nagas E, Uyanik O, Durmaz V, Cehreli ZC. Effect of plunger diameter on the push-out bond values of different root filling materials. *Int Endod J*. 2011;44(10):950-5.

289. Amin SAW, Gawdat SI. Retention of BioAggregate and MTA as coronal plugs after intracanal medication for regenerative endodontic procedures: an ex vivo study. *Restor Dent Endod*. 2018;43(3):e18.
290. Aydin MN, Buldur B. The effect of intracanal placement of various medicaments on the bond strength of three calcium silicate-based cements to root canal dentin. *J Adhes Sci Technol*. 2018;32(5):542-52.
291. Turk T, Fidler A. Effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on push-out bond strength of MTA and Biodentine. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 2016;30(1):140-4.
292. Sungur DD, Aksel H, Purali N. Effect of a low surface tension vehicle on the dentinal tubule penetration of calcium hydroxide and triple antibiotic paste. *J Endod*. 2017;43(3):452-5.
293. Namazikhah MS, Nekoofar MH, Sheykhrezae MS, Salariyeh S, Hayes SJ, Bryant ST, et al. The effect of pH on surface hardness and microstructure of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2008;41(2):108-16.
294. Kayahan MB, Nekoofar MH, Kazandağ M, Canpolat C, Malkondu O, Kaptan F, et al. Effect of acid-etching procedure on selected physical properties of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2009;42(11):1004-14.

8. ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Sıla Nur USTA

Doğum yeri ve tarihi: Çarşamba, 01.01.1994

Uyruğu: Türk

İletişim adresi ve telefonu: Hacettepe Üniversitesi Endodonti Anabilim Dalı,
Sıhhiye/ANKARA, +90 507 279 55 58

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden-eskiye doğru)

2018 - 2021

Diş Hekimliğinde Uzmanlık

Hacettepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Diş Hekimliği Klinik Bilimler Bölümü,
Türkiye

2021 - 2021

Diş Hekimliğinde Uzmanlık

Universidad de Granada, Facultad de Odontologia, Microbiologia, İspanya

2012 - 2017

Lisans

Gazi Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Türkiye

III- Mesleki Deneyimi

2018 - 2021

Araştırma Görevlisi

Hacettepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı

IV- Bilimsel Faaliyetleri Yayınları: (ulusal/uluslararası makale, bildiri, poster, kitap ya da kitap bölümü vb.)

Diğer Dergilerde Yayınlanan Makaleler

I. Assessment of relationship between the mandibular canal and root apices

Usta S.N. ,Eymirli A.

Clinical Dentistry and Research, cilt.45, sa.1, ss.61-68,2021

II. Effect of treatment rate of second mesiobuccal canal in maxillary first molar teeth on the success of root canal treatment

Usta S.N. ,Eymirli A.

Clinical Dentistry and Research, cilt.44, sa.3, ss.105-111,2020

III. Assessment of prevalence of second mesiobuccal canal in maxillary second molar teeth among Turkish subpopulation using cone-beam computed tomography

Usta S.N. ,Eymirli A.

Clinical Dentistry and Research, cilt.43, sa.3, ss.110-116,2019

Hakemli Kongre / Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

I. Bleaching of discolored devital teeth with walking bleaching technique: Two case reports (Sözlü Sunum)

Usta S.N. ,Eymirli A.

1. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 1.Genç Akademisyenler Kongresi, Ankara, Türkiye, 20 -21 Şubat 2020, ss.29.

II. Treatment rate of secondmesiobuccal canals inmaxillary firstmolars among Turkish population (Sözlü Sunum)

Usta S.N. ,EymirliA.

26. İzmir Diş Hekimleri Odası Uluslararası Kongre ve Sergisi, İzmir, Türkiye, 8 -10 Kasım 2019, ss.78-79.

III. Mandibular premolar teeth with Vertucci type IV-V canal morphology: A case report (Poster)

Usta S.N. ,Eymirli A.

26. İzmir Diş Hekimleri Odası Uluslararası Kongre ve Sergisi, İzmir, Türkiye, 8 -10 Kasım 2019, ss.261-262.

IV. Different treatment protocols in immature teeth: Two case reports (Poster)

Usta S.N. ,Eymirli A.

19th Biennial ESE Congress, Vienna, Avusturya, 11 -14 Eylül 2019, ss.172.

Projeleri

I. EYMİRLİ A., USTA S.N.

Yükseköğretim Kurumları Destekli Proje

Rejeneratif Endodontide Kullanılan 2-Hidroksiizokaproik Asitin Kök Kanalından Uzaklaştırılabilirliğinin ve Bariyer Materyalarının Bağlanma Dayanımına Etkisinin İncelenmesi, 2020 - 2021.

II. EYMİRLİ A., USTA S.N.

Yükseköğretim Kurumları Destekli Proje

Kök Kanal İrrigasyonu Sırasında Oluşan Apikal Ekstrüzyon Miktarının Farklı İrrigasyon Sistemleri Kullanılarak Değerlendirilmesi, 2019 -2021.

Katıldığı kongreler, sempozyum vb.

I. 1. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 1.Genç Akademisyenler Kongresi,
Ankara, Türkiye, 20 -21 Şubat 2020

II. 26. İzmir Diş Hekimleri Odası Uluslararası Kongre ve Sergisi, İzmir, Türkiye, 8 -10
Kasım 2019

III. 19th Biennial ESE Congress, Vienna, Avusturya, 11 -14 Eylül 2019