



**DENEYSEL OLARAK GELİŞTİRİLMİŞ GÜNCEL DİŞ
PULPASI KUFAJ MATERYALLERİNİN FİZİKSEL,
BİYOLOJİK VE MEKANİKSEL ÖZELLİKLERİNİN İN
VİTRO ŞARTLARDA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Elif Nihan KÜÇÜKYILDIZ

Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Burak DAYI

Uzmanlık Tezi 2019

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI**

**DENEYSEL OLARAK GELİŞTİRİLMİŞ GÜNCEL DİŞ PULPASI KUAFAJ
MATERYALLERİNİN FİZİKSEL, BİYOLOJİK VE MEKANİKSEL
ÖZELLİKLERİNİN İN VİTRO ŞARTLARDA DEĞERLENDİRİLMESİ**

Elif Nihan KÜÇÜKYILDIZ

**Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı
Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Burak DAYI**

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TCD-20178-1271 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2019**

UZMANLIK TEZİ TUTANAĞI


Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı uzmanlık öğrencisi Araştırma Görevlisi Dt. Elif Nihan KÜÇÜKYILDIZ' ın "Deneysel Olarak Geliştirilmiş Güncel Diş Pulpası Kuafaj Materyallerinin Fiziksel, Biyolojik ve Mekaniksel Özelliklerinin İn Vitro Şartlarda Değerlendirilmesi" isimli tezi 18.06.2019 tarihinde aşağıda isimleri yer alan jürimiz tarafından incelenerek başarılı bulunmuş ve kendisinin sınava alınmasına karar verilmiştir.

Jüri Başkanı



Doç. Dr. Emrullah BAHŞI
Dicle Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi

Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Jüri Üyesi (Danışman)


Dr. Öğr. Üyesi Burak DAYI
İnönü Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Jüri üyesi


Dr. Öğr. Üyesi Hacer TURGUT
İnönü Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Onay

Bu çalışma yukardaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Alaadin POLAT

İnönü Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi Dekan

Uzmanlık Tezi

MALATYA 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Pulpa-Dentin Kompleksi.....	5
2.2. Pulpanın Tabakaları	5
2.2.1. Odontoblast Tabakası:	5
2.2.2. Hücreden Fakir Tabaka.....	7
2.2.3. Hücreden Zengin Tabaka.....	7
2.2.4. Santral Pulpa	8
2.3. Pulpanın Hücreleri	8
2.3.1. Odontoblastlar.....	8
2.3.2. Fibroblastlar	10
2.3.3. Makrofajlar	11
2.3.4. Dendritik Hücreler	12
2.3.5. Lenfositler	12
2.3.6. Mast Hücreleri	14
2.4. Dentin.....	14
2.4.1. Dentinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	15
2.4.2. Primer Dentin.....	15
2.4.3. Sekonder Dentin	16
2.4.4. Tersiyer Dentin	16
2.5. Vital Pulpa Tedavisi.....	18
2.5.1. Vital Pulpa Tedavilerinin Başarısını Etkileyen Faktörler.....	18
2.6. Direkt Pulpa Kuafaj Materyalleri:	19
2.6.1. Çinko Oksit Öjenol	19
2.6.2. Cam İyonomer	19
2.6.3. Bonding Ajanlar.....	20

2.6.4. Kalsiyum Hidroksit (Ca(OH) ₂).....	21
2.6.4.1. Ca(OH) ₂ 'in Dentin Köprüsü Oluşum Mekanizması.....	23
2.6.4.2. Ca(OH) ₂ 'in Antimikrobiyal Etkisi.....	24
2.6.5. Kalsiyum Slikat Esaslı Materyaller	25
2.6.5.1. Mineral Trioksit Agregat (MTA).....	25
2.6.5.2. Biodentine	29
2.6.5.3. Bioaggregate	30
2.6.5.4. Theracal	30
2.6.5.5. Endosequence Kök Tamir Materyali (ERRM)	30
2.6.5.6. Kalsiyumdan Zenginleştirilmiş Siman.....	31
2.7. Grafen	31
2.7.1. Grafen bazlı materyaller	31
2.7.1.1. Grafen Oksit.....	32
2.7.1.2. İndirgenmiş Grafen Oksit (rGO).....	32
2.7.1.3. Grafen Nanoplateletler (GNP).....	32
2.7.2. Grafen Sentezi.....	32
2.8. Total Antioksidan Kapasite (TAS), Total Oksidan Kapasite (TOS) ve Oksidatif Stres	34
2.9. Mikrosertlik	35
2.10. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX)	36
2.11. X Işını Kırınım Yöntemi (XRD).....	36
2.12. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	36
3. MATERYAL VE METOT	38
3.1. İn vitro deneylerde kullanılacak materyal örneklerinin hazırlanması.....	41
3.2. MTT, Total Antioksidan Kapasite (TAS)-Total Oksidan Kapasite (TOS) Analizi	44
3.2.1. Gingival Fibroblast Kök Hücrelerin Hazırlanması.....	45
3.2.2. Well Platelere Hazırlanması	46
3.2.3. MTT Analizi	46
3.2.4. Total Antioksidan Kapasite (TAS) ve Total Oksidan Kapasite (TOS)'un Tespiti.....	47
3.3. Mikrosertlik analizi.....	50
3.4. Taramalı Elektron Mikroskopu-Enerji Dağılımı X-Ray Analizi (SEM-EDX)	50

3.5. Tanecik büyüklüğü	52
3.6. X Işını Kırınım Yöntemi (XRD).....	53
3.7. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometresi (FTIR)	55
3.8. İstatistiksel Analiz.....	56
4. BULGULAR.....	57
4.1. MTT, Total Antioksidan Kapasite (TAS), Total Oksidan Kapasite (TOS)	
Analizi Bulguları.....	57
4.1.1. MTT Bulguları.....	57
4.1.1.1. MTT Testi 24. Saat Sonucu	57
4.1.1.2. MTT Testi 72. Saat Sonucu:	58
4.1.2. Total Oksidan Kapasite (TOS) Analizi Sonuçları	60
4.1.2.1. Total Oksidan Kapasite (TOS) 24. Saat Sonuçları	60
4.1.2.2. Total Oksidan Kapasite (TOS) 72. Saat Sonuçları:	62
4.1.3. Total Antioksidan Kapasite (TAS) Analizi Sonuçları	63
4.1.3.1. Total Antioksidan Kapasite 24. Saat Sonuçları	63
4.1.3.2. Total Antioksidan Kapasite 72. Saat Sonuçları	64
4.2. Mikrosertlik	66
4.3. Taramalı Elektron Mikroskopu Analizi (SEM).....	68
4.4. Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX) Analizi Sonuçları	69
4.4.1. Angelus MTA	69
4.4.2. Angelus MTA+%0.1 GNP.....	70
4.4.3 Angelus MTA +%0.3 GNP.....	72
4.4.4. Dycal.....	73
4.5. Tanecik Boyutu.....	75
4.5.1. Angelus MTA Tanecik Boyutu.....	75
4.5.2. Angelus MTA %0.1 GNP Tanecik Boyutu:	76
4.5.3. Angelus MTA%0.3 GNP Tanecik Boyutu	77
4.6. X Işını Kırınım Yöntemi (XRD) Analizi Sonuçları.....	77
4.7. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometresi (FTIR) Analizi Sonuçları	79
5. TARTIŞMA	81
5.1. MTT Bulgularının Tartışılması.....	84
5.2. Total Oksidan Kapasite (TOS) ve Total Antioksidan Kapasite (TAS)	
Bulgularının Tartışılması	89
5.3. Mikrosertlik Bulgularının Tartışılması	91

5.4. Taramalı Elektron Mikroskopisi–Enerji Dağılımlı X Işını Spektrometrisi (SEM-EDX), ve Tanecik Büyüklüğü Bulgularının Tartışılması.....	93
5.5. X Işını Kırınım Yöntemi (XRD) Bulgularının Tartışılması	94
5.6. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektrofotometresi (FTIR) Bulgularının Tartışılması.....	96
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	98
KAYNAKLAR	100
EKLER.....	133
EK 1. Özgeçmiş Formu	133



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışması sürecinde büyük bir sabır ve titizlikle bana yardımcı olan, benden fikir ve desteğini esirgemeyen, çok değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Burak DAYI'ya,

Asistanlığım sırasında, bilgisi ve desteği ile yanımda olan Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hacer TURGUT'a,

Tezimin planlanması ve laboratuvar aşamasının gerçekleştirilebilmesine katkı sağlayan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hakan KAMALAK'a,

Tezimin hücre kültürü aşamasını gerçekleştiren Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ali TAGHİZADEHGHJOUGHİ'ya, mekaniksel ve fiziksel testlerimin yapılmasını sağlayan Sayın Doç. Dr. Serdar ALTIN ve Arş Gör. Dr. Oktay ÇETİN'e ve tez çalışmamın istatistiksel analizlerini gerçekleştiren Sayın Prof. Dr. Cemil ÇOLAK'a,

Tez dönemi boyunca sorularıyla başlarımı ağırttığım ve her zaman büyük bir sabır ve anlayışla bana yardımcı olan Sayın Eray TATLICI'ya ve Sayın Sebahat ALTUNDAĞ'a,

Asistanlık süresince birlikte huzur içinde çalışmaktan mutluluk duyduğum, iş arkadaşlığından öte güzel dostluklar kurduğum, yardım ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen Öğr. Gör. Dt. Enis Şimşek'e ve asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Dt. Seda Nur KARAKAŞ, Arş. Gör. Dt. Kübra ARSLAN, Arş. Gör. Dt. Tuba SARICI, Arş. Gör. Dt. Gizem AYAN, Arş. Gör. Dt. Abdullah ARSLAN, Arş. Gör. Dt. Fikri ÖCAL'a,

Malatya'da asistanlık dönemimde tanıdığım ve bu zorlu süreci birlikte paylaşarak geçirdiğim, hayatıma güzel anılar katan sevgili dostlarım Arş. Gör. Dt. Burçin ACAR, Arş. Gör. Dt. Nagehen BAKİ ve Arş. Gör. Dt. Zehra Beyza EREL'e,

Bu projeye maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi Başkanlığı'na,

Hayatımın her anında yanımda olan, bana inanan, maddi manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, haklarını asla ödeyemeyeceğim annem Reyhan KÜÇÜKYILDIZ, babam Selçuk KÜÇÜKYILDIZ ve ağabeyim Melik Çağrı KÜÇÜKYILDIZ'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Deneysel Olarak Geliştirilmiş Güncel Diş Pulpası Kuafaj Materyallerinin Fiziksel, Biyolojik ve Mekaniksel Özelliklerinin İn Vitro Şartlarda Değerlendirilmesi

Amaç: Pulpanın açığa çıktığı durumlarda pulpa yüzeyinin biyouyumlu, fiziksel ve mekaniksel olarak yeterli özelliklere sahip bir materyalle örtülmesi önemlidir. Bu çalışmada günümüzde sıklıkla kullanılan ve deneysel olarak geliştirilmiş kuafaj materyallerinin biyolojik, fiziksel ve mekaniksel özelliklerinin in vitro şartlarda değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Angelus MTA'ya + %0.1 GNP (grafen nanoplatelet) ve + %0.3 GNP (grafen nanoplatelet) katılarak homojen karışım elde edilmiş ve bu gruplar çalışmanın deney grubunu oluşturmuştur. Angelus MTA ve Dycal kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Materyaller üretici firma talimatları doğrultusunda karıştırılmış ve teflon kalıplarda disk şeklinde örnekler oluşturulmuştur. Materyallerin mikrosertlik, SEM-EDX, XRD ve FTIR analizleri ve gingival fibroblast hücreleri üzerindeki 24 ve 72 saatlik MTT, TAS ve TOS testleri in vitro olarak yapılmıştır. Bulgular SPSS programı kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

Bulgular: Angelus MTA+ %0.3 GNP'nin 24 ve 72 saatlik MTT analizinde ($p<0.05$) ve Dycal'ın 24 saatlik ($p=0.001$) ve 72 saatlik ($p=0.002$) MTT analizinde kontrol grubuyla arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. TOS 72., TAS 24. ve 72. saatlerde Dycal ve Angelus MTA+ %0.3 GNP gruplarıyla ve TOS 24. saatte Dycal ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). GNP ilavesi FTIR analizinde belirgin fark yaratmamıştır. XRD analizinde GNP pik vermemiştir. GNP katkılama miktarı arttıkça mikrosertlik artmış ve tanecik boyutu küçülmüştür. Tanecik boyutunun küçüldüğü ve boşluklu yapının azaldığı SEM görüntüsünde de tespit edilmiştir. EDX analizinde GNP etkisi karbon miktarındaki artışla gözlemlenmiştir.

Sonuç: MTA'ya GNP ilavesi miktar artışına bağlı olarak fiziksel ve mekaniksel özelliklerine olumlu katkı sağlarken, materyalin biyouyumluluğunu azaltmıştır.

Anahtar Kelimeler: Angelus MTA, Dycal, grafen nanoplatelet, pulpa kuafajı, sitotoksosite.

ABSTRACT

Evaluation of Physical, Biological and Mechanical Properties of Experimentally Developed Contemporary Dental Pulp Capping Materials in In Vitro Conditions

Aim: In cases where the pulp is exposed, it is important to cover the pulp surface with a biocompatible, physically and mechanically sufficient material. In this study, it is aimed to evaluate the biological, physical and mechanical properties of frequently used and experimentally developed pulp capping materials in vitro.

Material and Method: A homogeneous mixture was obtained by adding + 0.1% GNP (graphene nanoplatelet) and + 0.3% GNP (graphene nanoplatelet) to Angelus MTA and these groups formed the experimental group of the study. Angelus MTA and Dycal were used as control groups. The materials were mixed according to the manufacturer's instructions and disc-shaped specimens were formed in teflon molds. The microhardness, SEM-EDX, XRD and FTIR analyzes of the materials and 24-hour and 72-hour MTT, TAS and TOS tests on gingival fibroblast cells were performed in vitro. Results were evaluated statistically by using SPSS software.

Results: A significant difference was found between the control group and Angelus MTA + 0.3% GNP in 24 and 72 hours MTT analysis ($p < 0.05$) and 24-hour Dycal ($p = 0.001$) and 72-hour MTT analysis ($p = 0.002$). A significant difference was also found between Dycal and Angelus MTA + 0.3% GNP groups at TOS 72., TAS 24th and 72th hours and Dycal and control group at TOS 24 hours ($p < 0.05$). The addition of GNP did not make a significant difference in FTIR analysis. GNP did not yield a peak in XRD analysis. As the amount of GNP doping increased, microhardness increased and particle size decreased. It is evidenced by a SEM image, where the particle size decreases and the hollow structure diminishes. In the EDX analysis, the effect of GNP was observed with an increase in carbon content.

Conclusion: While the addition of GNP to MTA contributed positively to physical, mechanical properties due to increase in quantity, it reduced the biocompatibility of the material.

Keywords: Angelus MTA, Dycal, graphene nanoplatelet, pulp capping, cytotoxicity.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
Δ	: Delta
EDX	: Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi
Ca (OH)₂	: Kalsiyum Hidroksit
FTIR	: Fouirer Dönüşümü Kızılötesi Spektrofotometre
GER	: Granüllü endoplazmik retikulum
GNP	: Grafen Nanoplatelet
GO	: Grafen Oksit
Mm	: Mikrometre
μg	: Mikrogram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MTT	: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium brom
MTA	: Mineral Trioksit Aggregate
nm	: Nanometre
pH	: Ortamdaki hidrojen iyonlarının konsantrasyonu
PC	: Portland çimentosu
rGO	: İndirgenmiş Grafen Oksit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TAS	: Total Antioksidan Kapasite
TOS	: Total Oksidan Kapasite
XRD	: X Işını Kırınım Yöntemi

TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan materyaller ve kimyasal içerikleri.....	39
Tablo 3.2. Grafen nanoplatelet fiziksel özellikleri.....	40
Tablo 4.1. 24. Saat MTT testinden elde edilen değerler	58
Tablo 4.2. 24. Saat MTT analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar	58
Tablo 4.3. 72. Saat MTT analizinden elde edilen değerler	59
Tablo 4.4. 72. Saat MTT analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar	60
Tablo 4.5. TOS testi 24. Saat sonuçları.....	61
Tablo 4.6. 24. Saat TOS analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar	61
Tablo 4.7. TOS testi 72. Saat sonuçları.....	62
Tablo 4.8. 72. Saat TOS analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar	63
Tablo 4.9. TAS testi 24. saat sonuçları	64
Tablo 4.10. 24. Saat TAS analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar	64
Tablo 4.11. TAS testi 72. saat sonuçları	65
Tablo 4.12. 72. Saat TAS analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar	65
Tablo 4.13. Mikrosertlik testinde elde edilen değerler	67
Tablo 4.14. Mikrosertlik değerleri gruplar arası ikili karşılaştırmalar.....	67
Tablo 4.15. Angelus MTA EDX analizi sonuçları.....	70
Tablo 4.16. Angelus MTA+%0.1 GNP'ye ait EDX analizi sonuçları	71
Tablo 4.17. Angelus MTA+%0.3 GNP'ye ait EDX analizi sonuçları	73
Tablo 4.18. Dycal'a ait EDX analizi sonuçları	74
Tablo 4.19. Örneklerden elde edilen tanecik boyutu değerleri	75
Tablo 4.20. Tane boyutları istatistiksel analizi	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Olgun pulpanın morfolojik bölgesi	6
Şekil 2.2. Pulpanın tabakaları	6
Şekil 2.3. Hücreden zengin tabakanın görülmediği radiküler pulpadaki düşük sütunsal odontoblastlar	7
Şekil 2.4. Tamamen değişmiş bir odontoblast ve granüllü endoplazmik retikulum (GER)	9
Şekil 2.5. A: Fare odonblast hücrelerinin elektron mikroskobu ile görüntülenmesi;.....	10
Şekil 2.6. Genç pulpada fibroblastlar, kollajen lifler ve kan hücreleri	11
Şekil 2.7. İmmünoelektron mikroskobu ile görüntülenen insan pulpa hücresinde olgunlaşmış makrofaj (M), fagazom (P), lenfosit (Ly)	12
Şekil 2.8. İnsan pulpasındaki dendritik benzeri hücrenin (DC) immünoelektron mikrofrafisi	13
Şekil 2.9. İnsan pulpasında, pulpa-dentin sinir bölgesindeki class II antijen eksprese edici dendritik hücrelerin immünositokimyasal görüntülenmesi. Dentin (D), Odontoblastik tabaka (OB)	13
Şekil 2.10. MHC sınıf II molekülü salgılayan hücrelerin fonksiyonu.....	13
Şekil 2.11. Dendritik hücre ve lenfosit benzeyen hücrenin immünoelektron mikrofrafisi	14
Şekil 2.12. Manto dentinin ve interglobuler dentinin histolojik kesiti	16
Şekil 2.13. Primer dentin (solda) sekonder dentin (sağda).....	16
Şekil 2.14. Reparatif dentin(Onarıcı dentin) histolojik görüntüsü	17
Şekil 2.15. Normal ve onarıcı dentin	17
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan materyaller a: Dycal, b: Angelus MTA c: GNP.....	40
Şekil 3.2. Toz halindeki GNP'nin hassas terazi ile ölçülmesi a: %0.1 GNP b %0.3 GNP	41
Şekil 3.3. GNP ve MTA'nın havanda ezilerek karıştırılması.....	42
Şekil 3.4. Materyallerin firmanın talimatları doğrultusunda siman camında karışıma hazırlanması.....	42

Şekil 3.5. 4mm çap ve 2mm kalınlığa sahip kalıplar kullanılarak karıştırılmış materyal örnekleri.....	43
Şekil 3.6. Örneklerin 48 saat 37 °C 90 ± 5% nemde tutulduğu etüv	43
Şekil 3.7. Sertleşmesi tamamlanan materyal örnekler.....	44
Şekil 3.8. Materyal örneklerinin paketlenmiş hali.....	44
Şekil 3.9. Stereo mikroskopta 20 kat büyütme ile görüntülenen gingival fibroblast hücre hattı	45
Şekil 3.10. a: 24'lük well platete MTT analizi, b: Membran görüntüsü, c: Örneklerin yerleştirilmesini anlatan görsel.....	47
Şekil 3.11. TAS değeri hesaplanırken kullanılan formül	48
Şekil 3.12. TOS değeri hesaplanırken kullanılan formül	49
Şekil 3.13. TAS ve TOS analizinin 96'lık well plate görüntüsü	49
Şekil 3.14. TAS ve TOS ticari kitleri	49
Şekil 3.15. Mikrosertlik cihazı	50
Şekil 3.16. Au-Pd ile kaplanmış örnekler.....	51
Şekil 3.17. Au-Pd sürülen örneklerin yerleştirildiği kaplama cihazı.....	51
Şekil 3.18. SEM cihazı	52
Şekil 3.19. SEM cihazına yerleştirilmiş örnekler	52
Şekil 3.20. İmage J program ile tanecik boyutunun hesaplanması.....	53
Şekil 3.21. XRD cihazı	54
Şekil 3.22. XRD analizi öncesi agat havanda ezilen numuneler	54
Şekil 3.23. Örneklerin yerleştirildiği bölme	54
Şekil 3.24. Analiz yapılırken çizilen XRD grafiği	55
Şekil 3.25. FTIR cihazı.....	56
Şekil 3.26. Örneklerin yerleştirildiği bölme	56
Şekil 4.1. Gingival fibroblast hücrelerinden 24. Saat sonunda elde edilen canlılık oranları	57
Şekil 4.2. Gingival fibroblast hücrelerinden 72. Saat sonunda elde edilen canlılık oranları	59
Şekil 4.3. Kuafaj materyallerinin 24. saatte oluşturdukları total oksidan kapasite	61
Şekil 4.4. Kuafaj materyallerinin 72. saatte oluşturdukları total oksidan kapasite	62

Şekil 4.5. Kuafaj materyallerinin 24. saatte oluşturdukları total antioksidan kapasite	64
Şekil 4.6. Kuafaj materyallerinin 72. Saatte oluşturdukları total antioksidan kapasite	66
Şekil 4.7. Mikrosertliğin gruplara göre dağılım grafiği.....	67
Şekil 4.8. Deney gruplarına ait SEM görüntüleri	68
Şekil 4.9. Angelus MTA'ya ait SEM görüntüsünden elde edilen EDX grafikleri.....	69
Şekil 4.10. Angelus MTA+%0.1 GNP ye ait SEM görüntüsünden elde edilen EDX grafikleri.....	71
Şekil 4.11. Angelus MTA+%0.3GNP ye ait SEM görüntüsünden elde edilen EDX grafikleri.....	72
Şekil 4.12. Dycal' ait SEM görüntülerinden elde edilen EDX grafiği	74
Şekil 4.13. Angelus MTA'ya ait tanecik büyüklüğü grafiği ve SEM görüntüsü.....	76
Şekil 4.14. Angelus MTA % 0.1 GNP'ye ait tanecik büyüklüğü grafiği ve SEM görüntüsü.....	76
Şekil 4.15. Angelus MTA+%0.3 GNP'ye ait tanecik boyutu ve SEM görüntüsü.....	77
Şekil 4.16. Angelus MTA(NC 0), Angelus MTA +%0.1 GNP (NC 1), Angelus MTA +%0.3 GNP (NC 2),Dycal (NC 3) kırınım desenleri	78
Şekil 4.17. NC 0 olarak kodlanan Angelus MTA faz analizi	78
Şekil 4.18. NC 3 olarak kodlanan Dycal materyalinin faz analizi	79
Şekil 4.19. Örneklerin FTIR analizi sonuçları.....	80
Şekil 5.1. M Naebe ve ark. tarafından elde edilen grafen FTIR analizi sonuçları.....	97

1. GİRİŞ

Vital pulpa tedavisi, direkt pulpa kuafajı, indirekt pulpa kuafajı ve kısmi veya tam pulpotomi gibi prosedürleri kapsar (1). Direkt pulpa kuafajı açığa çıkmış pulpanın koruyucu bir materyal ile örtülmesi ve sert doku tamirinin indüklenmesi için planlanan bir metottur. İndirekt pulpa kuafajı ise bir materyalin, vital pulpa ekspozunun meydana gelmediği ince bir dentin tabakası üzerine uygulanmasını ifade eder. Pulpotomi, uygulamasında da pulpanın bir kısmı çıkarılarak kalan kısmı bir kuafaj materyali ile örtülmektedir (2).

Vital pulpa tedavisinin amacı; pulpayı irrite eden etmenlerin uzaklaştırılarak enfeksiyonun ilerlemesini engellemek, tersiyer dentin oluşumunun uyarılmasını ve böylece, dişin ağızda görevini sürdüreceği şekilde aktif kalmasını sağlamaktır. Vital pulpa tedavisi; pulpası açık veya kapalı olan vital dişlerde, reversibl pulpa hastalıklarının tedavi edilmesine yönelik uygulamaları kapsar (3). Vital pulpa tedavisinin kök kanal tedavisine göre en önemli avantajı tamir ve savunma kapasitesi olan canlı pulpanın fonksiyonlarının devam etmesini sağlamasıdır. Ayrıca işlem süresi, maliyet, minimal invaziv bir uygulama olma yönünden de avantajları vardır. Bir sonraki aşama olan kanal tedavisi ise işlem sırasında doğacak komplikasyon ve olumsuzlukların yanı sıra, invaziv bir tedavi olduğundan kalan diş dokusunu güçsüzleştirmektedir. Bu sebepler, günümüzde rejeneratif endodontinin doğmasına etken teşkil etmiştir (4).

Dental pulpa; dış uyarıları algılamak için biyolojik sensörler olarak görev görür. Bu nedenle pulpanın canlı kalması büyük önem taşır. Dişin canlılığının korunması ve uyarıyı izole etmek için kullanılan ve geçerli bir yöntem olan direkt pulpa kuafajı olağanüstü önem teşkil eder (5-9). İdeal bir pulpa kuafaj materyali, pulpanın enfeksiyona karşı izole edilmesi ve diş pulpa dokusunun tamiri için biyolojik bir ortam sağlamalıdır (10).

Bahsi geçen ilk tedavi prosedürü, 1756'da Pfaff (11) tarafından gerçekleştirilen açık bir pulpa üzerinde bir kurşun folyonun tatbik edilmesidir. Yaklaşık 100 yıl sonra, ilk olarak Ca(OH)_2 (kalsiyum hidroksit) içeren materyaller ekspoz pulpa tedavisi için kullanılmıştır. 1936'da, Ca(OH)_2 , Hermann'ın (12) vital pulpa üzerinde sekonder dentin oluşumunu sağlamada etkinliğini gösteren çığır açan çalışmasının ardından diş hekimliğinde yaygın olarak kabul görmüştür. O zamandan beri toz, macun ve çimento

biçimindeki Ca(OH)_2 , vital pulpanın muhafazası, mineralizasyonun indüklenmesi ve bakteriyel büyümenin inhibe edilmesi ile birlikte reperatif dentinin oluşumunu kolaylaştırmak için klinikte başarılı bir şekilde kullanılmıştır (13, 14). Ca(OH)_2 bazlı materyal 1962'de (15) patent almış ve Dycal'ın ilk klinik çalışması 1963'te rapor edilmiştir (16).

Direkt kuafaj uygulamalarında günümüzde en çok kullanılan materyal Ca(OH)_2 'dir (17). Ca(OH)_2 , pulpa kuafajı için kullanılan materyaller içinde altın standart olarak kabul edilmiştir. Ca(OH)_2 'in etkisi, hidroksil iyonlarının neden olduğu kimyasal hasarın bir neticesi olarak kabul edilir. Perfore olan pulpaya uygulanan Ca(OH)_2 'in ilk etkisi, yüzeysel bir nekrozun gelişmesidir. Ca(OH)_2 'in neden olduğu nekroz hafif irritasyona neden olur ve hücrenin farklılaşması, hücre dışı matris sekresyonu ve takiben mineralizasyon yoluyla tersiyer dentin köprüsünü oluşturmak için pulpayı korur ve onarır (18). Dentin köprüsünün oluşması direkt pulpa kuafajının klinik başarısının anahtarıdır. Ancak maymunlarda Ca(OH)_2 tarafından oluşturulan dentin köprülerinin % 89'unun tünel kusurları içerdiği bildirilmiştir (19). Ayrıca bu materyal, yüksek çözünürlük ve zaman içinde mikrosızıntı gösterme ve pulpa nekrozuna sebep olma gibi dezavantajlara sahiptir. Bu dezavantajlarından ötürü biyoyumluluğu yüksek bir materyal olan MTA (mineral trioksit agregat) pulpa kuafaj materyali olarak önerilmiştir. MTA, Ca(OH)_2 'e göre daha kalın dentin köprüleri oluşturur ve pulpa nekrozuna sebep olma oranları daha düşüktür. Ancak dişlerin rengini değiştirme potansiyeli, uzun süren sertleşme süresi ve kullanımının zor olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (20, 21).

Bir karbon atomu tabakası olan grafenin geçtiğimiz on yılda, biyomedikal uygulamaları büyük ilgi görmüştür. Grafenin antibakteriyel, antiplatelet ve antikanser aktiviteleri olduğu bildirilmiştir. Grafenin göze çarpan özellikleri, biyolojik ve biyomedikal uygulamalar için potansiyel bir aday olmasını sağlamaktadır. Grafenin sentezi, toksisitesi, biyoyumluluğu ve biyomedikal uygulamaları kapsamlı araştırma gerektiren temel konulardır (22). Doku mühendisliği alanında sınırlı sayıda çalışma yapılmış ve sert doku oluşturma potansiyeli olduğu ortaya çıkarılmış, grafenin dişhekimliğinde de araştırmaya açık bir materyal olduğu görülmüştür.

Günümüzde kullanılmakta olan kuafaj materyallerinin göstermiş olduğu bazı dezavantajlarından dolayı kuafaj tedavilerinin başarılı olamadığı durumlar meydana gelebilmektedir. Bu nedenle de ideal kuafaj materyalleri arayışı sürmektedir. Yapılan bu

çalışmada; günümüzde kuafaj materyali olarak sıklıkla kullanılan Ca(OH)_2 (Dycal) ve Angelus MTA kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Angelus MTA'ya %0.1 ve %0.3 oranlarında grafenin bir türevi olan grafen nanoplatelet (GNP) katılarak deneysel kuafaj materyalleri oluşturulmuştur. Elde edilen materyallerin mekanik, fiziksel ve biyolojik etkileri in vitro olarak incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

Birçok perspektiften bakıldığında, pulpa eşsiz bir dokudur. Dentin matrisi, odontoblastlar ile doğrudan temas halinde olan ve periferik olarak düzenlenmiş özelleşmiş hücrelerle birlikte mezenkimal orijinli yumuşak bir dokudur. Pulpa-dentin kompleksi olarak da adlandırılan, dentin ve pulpa arasındaki yakın ilişki histolojik olarak farklı elementlerden oluşan fonksiyonel bir varlık olarak düşünülmelidir (23-25). Pulpa vazodilatasyon atakları ve artan filtrasyon sırasında genişleme kabiliyetini sınırlayan düşük uyumlu bir ortamda yer almaktadır. Arteriyoller, venüller, lenfatikler ve ekstrasvasküler doku arasında karşılıklı hacim değişiklikleri meydana gelebilirken pulpa haznesindeki toplam hacim büyük ölçüde arttırılamaz. Sonuç olarak, inflamatuvar reaksiyonlar sıvı hacminde sınırlı bir artışa bağlı olarak doku basıncında artışa neden olur (26, 27). Bu yükselmeden sonra pulpal patolojiler meydana gelebilmektedir. Bunlar reversibl ve irreversibl pulpitis, ülseratif ve hiperplastik pulpitis olarak adlandırılmaktadır (28).

Olgun pulpa embriyonik bağ dokusuna benzerlik gösterir ve bu nedenle nispeten zengin bir kök hücre kaynağıdır. Pulpa, aksonlar, vasküler doku, bağ doku lifleri, esas madde, interstisyel sıvı, odontoblastlar, fibroblastlar ve diğer hücresel bileşenleri içeren bir dizi doku elementini barındırır. Bu bileşenler dinamik olarak gelişimsel, fizyolojik (örneğin ortodontik veya çiğneme kuvvetleri) veya patolojik uyarılara tepki verir. Genel dinamik yanıt paterni, pulpa dokusunun bu uyarılara karşı doku nekrozunun gerçekleşip gerçekleşmemesi konusunda önemli bir rol oynar (29).

Pulpa mikrodolaşım sistemi ile desteklenir ve pulpanın en büyük vasküler bileşeni arteriol ve venüllerdir. Çoğu dokudan farklı olarak, pulpa gerçek bir kolleteral sistem içermez ve apikal foraminaya giren nispeten az sayıda arteriyole bağlıdır. Pulpanın vasküler sistemi yaşla birlikte giderek azalır (30).

Diş pulpası eşsiz bir duyuşal organdır. Dentin koruyucu tabakası ve en dışta da mine ile kaplı olup uyarılmaya oldukça yanıtşız olması beklenebilir.

Bununla birlikte, dentinin düşük ısı iletkenliğine rağmen, pulpa, soğuk ve sıcak içecekler gibi termal uyarılara karşı duyarlıdır. Dişin gelişiminden sonra, pulpa ömrü boyunca dentin oluşturma yeteneğini korur. Vital pulpa, mekanik travma veya hastalığın neden olduğu mine veya dentin kaybının kısmen telafi edilmesini sağlar (29).

2.1. Pulpa-Dentin Kompleksi

Dentin ve pulpa histolojik olarak farklıdır; ancak çoğu zaman benzer embriyolojik kökenleri ve bütünleşmiş fonksiyonları nedeniyle pulpa-dentin kompleksi olarak adlandırılan tek bir işlevsel varlık olarak kabul edilir. Pulpa, dentin üretimi ve dentin için besin temin ederek dentinin innervasyonunu sağlarken, dentin de pulpanın korunması görevini üstlenir (31).

2.2. Pulpanın Tabakaları

Genel olarak pulpa, dört farklı tabakadan oluşmaktadır (32).

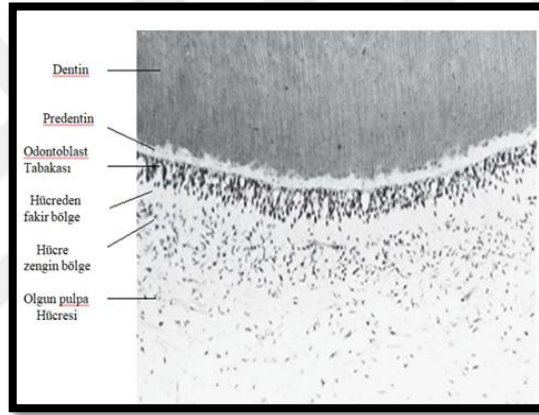
2.2.1. Odontoblast Tabakası:

Sağlıklı pulpa hücrelerinin en dış tabakası odontoblast tabakasıdır (Şekil 2-1). Bu tabaka hemen predentinin bitişiğinde bulunur. Bununla birlikte, odontoblast uzantıları, predentin içinden dentin iç kısmına geçer. Sonuç olarak, odontoblast tabakası aslında odontoblastların hücre gövdelerinden oluşur. Ayrıca, odontoblastlar arasında kılcak damarlar, sinir lifleri ve dendritik hücreler de bulunabilir (29). Aktif olarak kolajen salgılayan genç bir pulpanın koronal kısmında, odontoblastlar uzun bir sütun şeklini alırlar (33). Odontoblast çeşitliliği odontoblastların uzunluklarına göre değişir. Çekirdeklerinin hepsi aynı seviyede değildir ve sıklıkla bir palisade görüntüsü vererek kademeli olarak dizilir. Bitişik odontoblastlar arasında yaklaşık 30 ile 40 nm arasındaki bir genişlikte küçük gap junctionlar bulunur. Odontoblast hücre gövdeleri sıkı ve aralıklı birleşim kompleksleri ile bağlanır (33-35). Gap junctionlar, sinyal moleküllerinin hücre-hücre geçişine izin veren connexin proteinleri tarafından oluşturulur (36). Koronal pulpa içindeki odontoblast tabakası, birim alan başına radiküler pulpadakinden daha fazla hücre içerir (37). Olgun koronal pulpanın odontoblastları genellikle sütunludur, radiküler pulpanın ortasındakiler ise daha kübiktir (Şekil 2.3) (29).

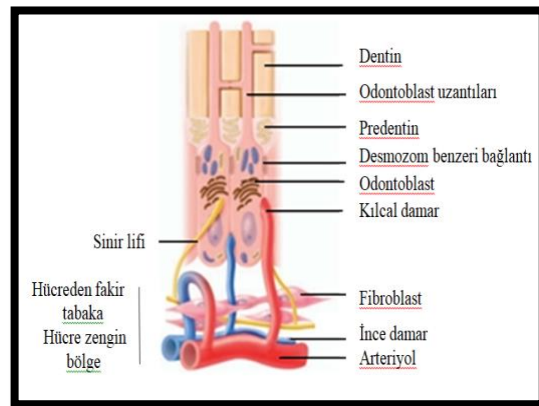
Dişin kuronuna göre kökte birim başına daha az dentin tübülü düşer, odontoblast hücre gövdeleri daha az ve yanlamasına yayılan şekildedir (37). Desmosomlar (zonula adherens), gap junctionlar (neksuslar) ve bitişik odontoblastları bağlayan tight junctionlar (zonula okludens) dahil olmak üzere bir dizi özel hücre-hücre birleşimleri (junctional kompleksleri) vardır. Birçok sayıda gap junction, sinyal moleküllerinin hücreler arasında geçebildiği geçirgen yollar sağlar (Şekil 2.5) ve nispeten tekdüze

pre dentin tabakaları üreten salgı aktivitesini senkronize ederler (Şekil 2.2). Bu junctionlar primer dentin oluşumu sırasında çok sayıda bulunur (29).

Gap junctionlar ve desmozomlar da odontoblastların subodontoblastik alandaki fibroblast üretimine katılmayı sürdürmüştür. Gap junctionlar genç dişlerde odontoblastların apikal kısmında bulunur. Bu yapılar, hücre içi boşluğu kapatan doğrusal sırtlar ve oluklardan oluşur (38). Tight junctionlar odontoblast tabakasının geçirgenliğini belirlerken; moleküllerin, iyonların ve sıvının pulpa ve pre dentinin hücre dışı bölümleri arasında geçişini kısıtlayarak; dentin, mine veya sement ile kaplanır (34). Kavite hazırlığı sırasında, bu bağlantılar bozulur ve böylece dentin geçirgenliği artar (39, 40).



Şekil 2.1. Olgun pulpanın morfolojik bölgesi



Şekil 2.2. Pulpanın tabakaları



Şekil 2.3. Hücreden zengin tabakanın görülmediği radiküler pulpadaki düşük sütunsal odontoblastlar

2.2.2. Hücreden Fakir Tabaka

Koronal pulpadaki odontoblast tabakasına hemen bitişik olarak, genellikle hücreler yönüden nispeten fakir olan yaklaşık 40 mikrometre genişliğinde dar bir bölge vardır ve Weil'in hücresiz tabakası olarak adlandırılır (Şekil 2.1). Kan kapillerleri, miyelinsiz sinir lifleri ve fibroblastların ince sitoplazmik uzantıları ile çaprazlanır (Şekil 2.2). Hücreden fakir bölgenin varlığı veya yokluğu reperatif dentinin üretildiği yaşlı pulpalarda belirgin olmayabilir (29).

2.2.3. Hücreden Zengin Tabaka

Subodontoblastik alanda, pulpanın daha merkezi bölgesine kıyasla nispeten yüksek oranda fibroblast içeren bir tabaka vardır (Şekil 2.1). Bu tabaka koronal pulpada radiküler pulpadan çok daha belirgindir. Fibroblastların yanı sıra, hücreden zengin bölge makrofajlar ve dendritik hücreler gibi farklı sayıda immün hücre içerebildiği gibi farklılaşmamış mezenkimal kök hücreleri de bulundurabilir (29). Rat molar dişlerinden elde edilen verilere dayanarak; hücreden zengin tabakanın, diş erüpsiyonun başlangıcından itibaren, pulpanın merkez bölgelerini dolduran hücrelerin periferel göçünün bir sonucu olarak oluştuğu ileri sürülmüştür (41). İmmüno-kompetan hücrelerin hücre dışı bölgeye göç etmeleri antijenik zorluğun bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır (42). Hücreden zengin bölgedeki hücre bölünmesi normal pulpalarda nadir olmakla birlikte, odontoblastların ölümü mitoz oranında büyük bir artışı tetikler.

Odontoblastlar post-mitotik hücreler olduğundan, geri dönüşümsüz olarak yaralanan odontoblastlar, hücreden zengin bölgeden dentin iç yüzeyine göç eden hücreler ile yer değiştirirler (43). Bu mitotik aktivite muhtemelen yeni bir odontoblast

tabakasının oluşumunda ilk adımdır (44-48). Çalışmalar, kök hücrelerin bu yedek odontoblastlar için bir kaynak olduğunu göstermektedir (49).

2.2.4. Santral Pulpa

Santral pulpa, pulpanın merkez kütesidir (Şekil 2.1). Gevşek bağ dokusundan oluşur ve daha büyük kan damarları ve sinirleri içerir. Bu bölgedeki en göze çarpan hücre fibroblasttır (29).

2.3. Pulpanın Hücreleri

2.3.1. Odontoblastlar

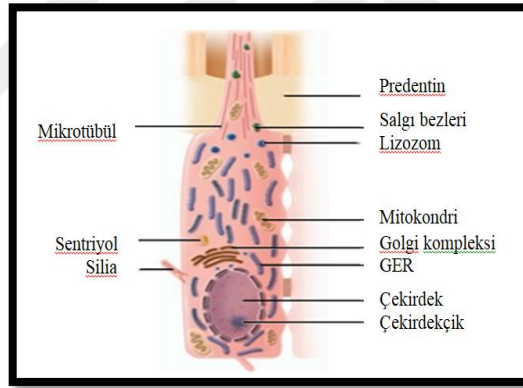
Odontoblastlar pulpanın karakteristik hücreleridir. Çevresinde tek bir katman oluştururlar, matrisi sentezler ve dentin mineralizasyonunu kontrol ederler (50). Kollajen liflerinin gömülü olduğu lifli ve nonkollajenaz üç protein halinde kollajen üretirler. Pulpanın koronal kısmında, odontoblastlar çok sayıda (45.000 ile 65.000 mm² arasında) bulunur ve nispeten büyük ve sütun şeklindedir. Kökün servikal ve orta kısmında, sayıları daha düşüktür ve düzleşmiş görünürler (33).

Odontoblastların, osteoblastların ve sementoblastların ultrastrüktürel özellikleri birbirine yakındır. Her biri oldukça yüksek bir GER (granüllü endoplazmik retikulum), belirgin bir golgi kompleksi, salgı granülleri ve çok sayıda mitokondri sergilemesi bakımından benzerdir. Ek olarak, bu hücreler RNA bakımından zengindir ve çekirdekleri bir veya daha fazla belirgin nükleol içerir. Aktif dentinogenez sırasında, endoplazmik retikulum ve golgi aygıtı belirgindir ve sayısız mitokondri ve vezikül vardır (29, 51).

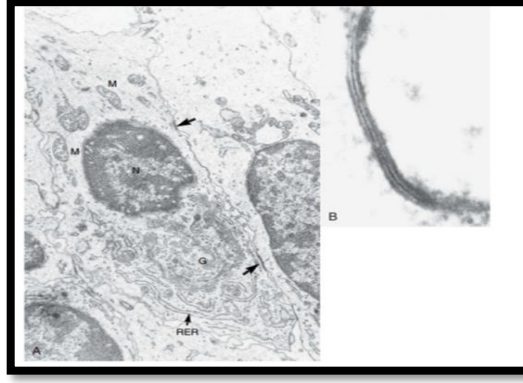
Odontoblastlar, dentin tübülünü oluşturmak için hücresel bir uzantıyı arkasında bırakır ve hücre gövdesi, mineralize dokunun dışında bulunur. Majör odontoblast uzantıları (52, 53) arasındaki yanal dallar, kemik ve sementumdaki kanaliküller boyunca birbirine bağlı osteositler ve sementositler gibi kanalların içinden geçerler. Bu, hücre içi iletişim için bir yol olmuştur. Aktif odontoblastın hücre gövdesi, dört nükleotid içerebilen geniş bir çekirdeğe sahiptir (Şekil 2.4). Çekirdek, hücrenin bazalinde bulunur ve bir nükleer zarf içerisindedir. Supranükleer sitoplazmada merkezi olarak bulunan iyi gelişmiş bir golgi kompleksinde, düzgün duvarlı kesecikler ve sisternalar vardır. Sisterna membranları ile yakından ilişkili çok sayıda ribozom, protein

sentezi bölgelerini işaretlemektedir. Sisterna lümeninde lifli materyal (muhtemelen yeni sentezlenmiş proteini temsil eder) gözlemlenebilir (Şekil 2.5) (29).

Ekstrasellüler matrikste küçük miktarlarda tip V kollajen bulunmasına rağmen, odontoblastın esas olarak tip I kollajen sentezlediği görülmektedir (54, 55). Proteoglikanlara (56-58) ve kolajene (54, 59) ek olarak odontoblastlar; dentin sialoproteini (60), fosforin (60, 61) ve hücre dışı mineralizasyonda yer alan yüksek oranda fosforile fosfoprotein salgılar (60, 62). Fosforin dentine özgüdür ve diğer mezenkimal hücre tiplerinde bulunmaz (62). Odontoblast ayrıca hem asit fosfataz hem de alkalın fosfataz salgılar. Alkalın fosfataz enzimi mineralizasyon ile yakından ilişkilidir; ancak dentinogenezde alkalın fosfatazın kesin rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Bir lizozomal enzim olan asit fosfataz, predentin matriksinden emilen sindirim materyalinde yer alabilir (63). Aktif odontoblastın aksine, istirahat halindeki veya inaktif odontoblastın organel sayısı azalmıştır (33, 37). Bu değişiklikler, dentin üretimi primerden sekonder dentine kaydığında kök gelişimi ve erüpsiyonunun tamamlanması ile başlayabilir (29).



Şekil 2.4. Tamamen değişmiş bir odontoblast ve granüllü endoplazmik retikulum (GER)



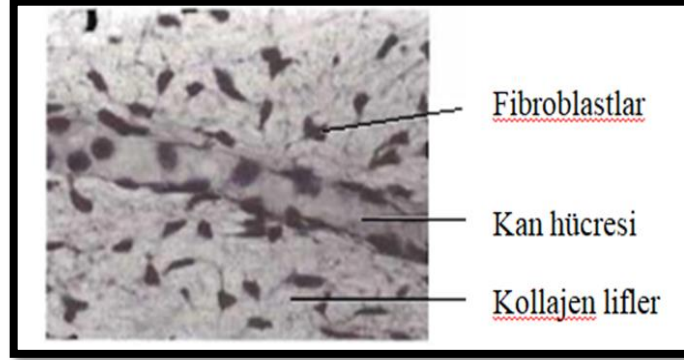
Şekil 2.5. A: Fare odonblast hücrelerinin elektron mikroskobu ile görüntülenmesi; gap junctionlar (oklar), çekirdek (N), mitokondri(M), golgi kompleksi (G) ve granüllü endoplazmik retikulum (GER) B: Gap junction

2.3.2. Fibroblastlar

Fibroblastlar pulpada en çok bulunan hücrelerdir. Bu hücreler fonksiyonel durumları ile karakterize edilir. Genç pulpalarda fibroblastlar; kollajen lifler ve esas madde üretir. Genç pulpalarda, merkezi bir konumda bulunan ve birden çok uzantıya sahip olan büyük bir oval çekirdeğe sahiplerdir (şekil 2.6) (64). Bu hücreler, tip I ve III kolajenin yanı sıra proteoglikanlar ve GAG'ları sentezler. Böylece ECM'nin (ekstra sellüler matriks) matriks proteinlerini üretir ve sürdürürler. Pulpa boyunca dağılmış olmasına rağmen, fibroblastlar hücreden zengin bölgede özellikle bol miktarda bulunur. Olgunlaştıkça hücreler yıldız formuna gelir ve golgi kompleksi büyür, GER çoğalır, salgı kesecikleri görünür ve fibroblastlar protein salgılayan hücrelerin karakteristik görünümünü alır. Ek olarak, kollajen fibrilleri hücre gövdesinin dış yüzeyi boyunca birikir (64) .

Kan damarlarının, sinirlerin ve kollajen liflerinin sayısındaki artışla, pulpadaki fibroblast sayısında nispi bir azalma olur (29). Pulpanın birçok fibroblastı, nispeten farklılaşmamış olarak karakterize edilir. Farklılaşmamış hücreler için daha modern bir terim kök hücre terimidir. Birçok pulpal hücre nispeten farklılaşmamış bir modalitede kalmaktadır (diğer birçok bağ dokusunun fibroblastlarına kıyasla) (65). Pulpada çok sayıda retikülin benzeri lif de gözlemlenir. Retikülin lifler, gümüş boyaları için bir afiniteye sahiptir ve pulpanın arjirofilik liflerine benzerdir. Bununla birlikte dikkatli bir incelemede, gerçek retikülin liflerinin pulpada bulunmayabileceği anlaşılmaktadır. Bunun yerine daha önce tarif edilen lifler aslında arjirofilik kollajen lifleridir (66). Lifler

görünüşe göre bir GAG kılıfı kazanırlar ve gümüş boyalarla boyanan bu kılıftır. Genç pulpada, nonarjirofilik kolajen lifleri seyrek olmakla birlikte, pulpa yaşı arttıkça giderek artmaktadır (29).



Şekil 2.6. Genç pulpada fibroblastlar, kollajen lifler ve kan hücreleri

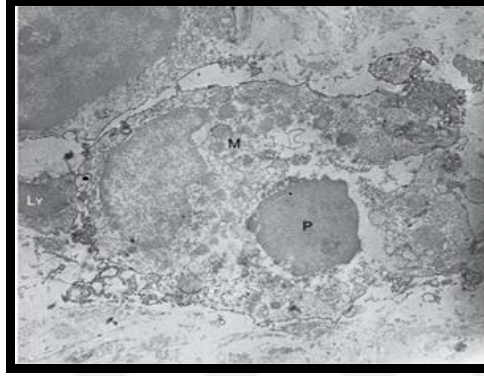
Pulpada yara iyileşmesini incelemek için birçok deneysel model geliştirilmiştir, özellikle pulpotomi veya pulpotomi sonrası dentinal köprü oluşumu incelenmiştir (29). Bir çalışma (43), öncü odontoblastların farklılaşmasından önceki mitotik aktivitenin öncelikle perivasküler fibroblastlar arasında ortaya çıktığını göstermiştir. Pulpal fibroblastlar dental pulpada sinyal yollarında aktif rol alır gibi görünmektedir. Örneğin, fibroblast büyümesi ve sentezi, nöropeptidler tarafından uyarılır; sırayla, fibroblastlar inflamasyon sırasında NGF (sinir büyüme faktörü) ve proinflamatuvar sitokinler üretir (67-69). NGF, sadece gelişimde değil, aynı zamanda yaralanmaya karşı nöron alım ve muhtemelen odontoblast tepkilerini düzenlemede de önemli bir rol oynar (68).

2.3.3. Makrofajlar

Makrofajlar, kan dolaşımını terk eden, dokulara giren ve çeşitli alt popülasyonlara ayrılan monositlerdir. Farklı alt popülasyonlar, immüno-histokimyasal çalışmalarda antijenik özellikleri ile incelenebilir. Bir çoğu kan damarlarına yakın bulunur. Makrofajların büyük bir alt popülasyonu, endositoz ve fagositozda oldukça aktiftir (Şekil 2.7). Hareketliliklerinden ve fagositik aktivitelerinden ötürü, süpürücü olarak hareket edebilirler, ekstravaze kırmızı kan hücrelerini, ölü hücreleri ve yabancı cisimleri dokudan temizlerler. Fagositoza uğramış materyal, lizozomal enzimlerin etkisi ile yok edilir (29).

2.3.4. Dendritik Hücreler

Dendritik hücreler bağışıklık sisteminin aksesuar hücreleridir. Benzer hücreler, epidermis ve mukoza zarlarında Langerhans hücreleri olarak adlandırılır (70, 71). Dendritik hücreler öncelikle lenfoid dokularda görülür; ancak pulpa da dahil olmak üzere bağ dokularına da yaygın şekilde dağılmışlardır (Şekil 2.9) (29).



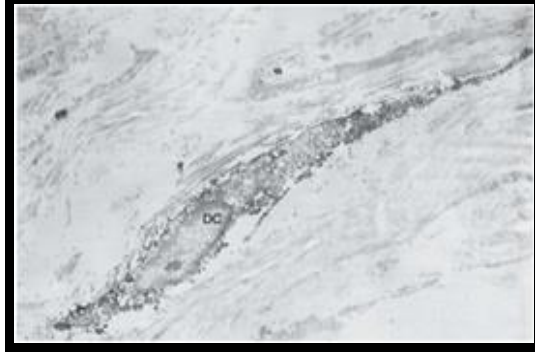
Şekil 2.7. İmmünoelektron mikroskobu ile görüntülenen insan pulpa hücresinde olgunlaşmış makrofaj (M), fagazom (P), lenfosit (Ly)

Bu hücreler antijen sunan hücreler olarak adlandırılır ve hücre yüzeyinde dendritik sitoplazmik uzantılar ve sınıf II MHC komplekslerinin varlığı ile karakterize edilir (Şekil 2.8). Normal pulpada predentine yakın pulpanın periferinde bulunurlar, antijenik değişimden sonra pulpanın merkezine göç ederler (29). T hücresine bağımlı immünitinin indüksiyonunda merkezi bir rol oynadıkları bilinmektedir. Antijen sunan makrofajlar gibi, dendritik hücreler protein antijenlerini içine alır ve daha sonra antijenlerden ve MHC sınıf II moleküllerden bir peptid fragmanları topluluğu sunar. MHC sınıf II molekülleri T hücrelerinin tanıyabileceği bir düzenektir. Daha sonra MHC sınıf II molekülleri, bir T hücresi reseptörüne bağlanır ve T hücresi aktivasyonu oluşur (Şekil 2.10). Şekil 2.11'de, bir dendritik benzeri hücre ve bir lenfosit arasında hücre-hücre teması gösterilmektedir (29).

2.3.5. Lenfositler

Hahn ve ark. (72), insan dişlerinin normal pulpalarında T lenfositlerin bulunduğunu bildirmişlerdir. T8 (baskılayıcı) lenfositler, bu örneklerde mevcut olan baskın T lenfositlerin alt kümesidir. Lenfositler ayrıca, etkilenmiş dişlerin pulpalarında gözlenmiştir (73). Makrofajlar, dendritik hücreler ve T lenfositlerin varlığı, pulpanın

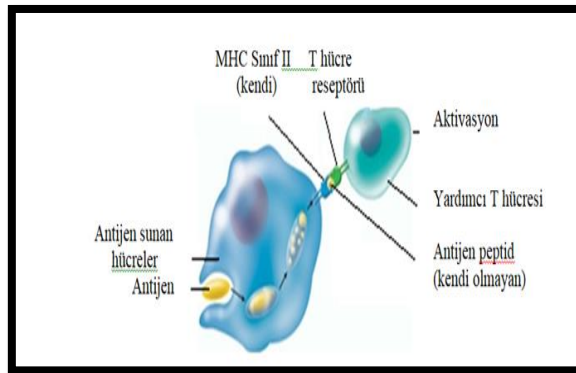
bağışıklık yanıtlarının başlaması için gerekli hücrelerle iyi bir şekilde donatıldığını gösterir (70, 74). Lenfositler normal pulpada bulunmaz (29).



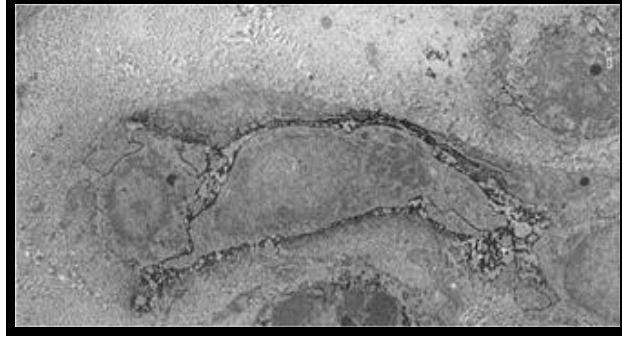
Şekil 2.8. İnsan pulpasındaki dendritik benzeri hücrenin (DC) immünoelektron mikrofrafisi



Şekil 2.9. İnsan pulpasında, pulpa-dentin sinir bölgesindeki class II antijen ekspres edici dendritik hücrelerin immünohistokimyasal görüntülemesi. Dentin (D), Odontoblastik tabaka (OB)



Şekil 2.10. MHC sınıf II molekülü salgılayan hücrelerin fonksiyonu



Şekil 2.11. Dendritik hücre ve lenfosit benzer hücrenin immünoelektron mikrofrafisi

2.3.6. Mast Hücreleri

Mast hücreleri, kan damarları ile ilişkili olarak küçük gruplar halinde meydana geldikleri bağ dokularında yaygın şekilde dağılmıştır. Mast hücreleri iltihaplı pulpada bulunsa da, normal pulpa dokusunda nadiren bulunur (74). Mast hücresi, enflamatuar reaksiyonlardaki önemli rolü nedeniyle büyük ilgi çekmiştir. Mast hücrelerinin granülleri heparin, bir antikoagülan ve önemli bir enflamatuar mediatör olan histamin ve diğer birçok kimyasal faktör içerir (29).

2.4. Dentin

Dentin dişin genel formunu sağlayan tübüler yapıda sert bir doku olarak karakterize edilir. Mineden önce oluşmaya başladığı için; kuron, tüberkül ve köklerin sayısı ve büyüklüğü de dahil olmak üzere dişin şeklini belirler (75). Dentin mineralize bir doku olmasına rağmen, mineye göre daha az mineral içerir ve daha dirençli olup, kırılma ve çatlaklara karşı güçlüdür. Dentin, onu üreten hücrelerin sitoplazmik uzantılarını, odontoblastları ve sinir uçlarını içeren canlı bir dokudur. Dentin, bol kan ve sinir beslenmesine sahiptir ve pulpayı çevreler, ayrıca immünolojik ve yenileyici özellikleri mevcuttur (76). Dentin fiziksel ve kimyasal olarak kemiğe çok benzer. Kemik ve dentin arasındaki temel morfolojik fark, kemiğin oluşumunda rol oynayan osteoblastların bir çoğunun kemik yüzeyinde bulunurken, dentin oluşumunda rol oynayan odontoblastların hücre gövdelerinin dentin dışında kalarak uzantılarının (prosesleri) ise dentin tübüllerinde bulunuyor olmasıdır. Osteblast hücreleri matris içinde bulunduğu ise osteosit ismini almaktadır. İkisi de hayati dokular olarak kabul edilir; çünkü canlı protoplazma içerirler (75).

2.4.1. Dentinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

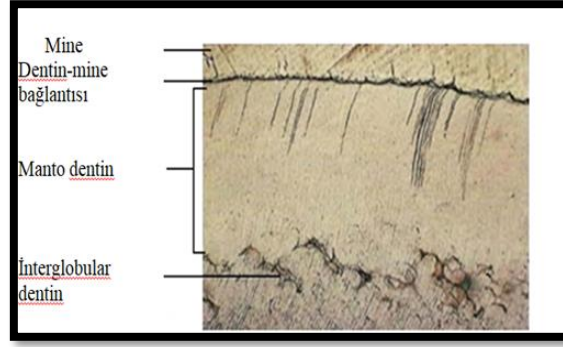
Genç bireylerin dişlerinde dentin genellikle açık sarımsı renktedir ve yaşlandıkça daha koyulaşır. Çok sert ve kırılğan olan minenin aksine, dentin viskoelastik ve hafif deformasyona maruz kalır. Kemikten biraz daha sert ama mineden çok daha yumuşaktır. Dentin sertliği diş tipleri arasında ve kuron ile kök dentini arasında değişiklik gösterir. Primer dişlerin dentinleri kalıcı dişlerden biraz daha incedir. Dentin içindeki mineral tuzlarının daha düşük içeriği, dentini mineden daha fazla radyolusent yapar (75). Dentin; hacim olarak %40-45 mineral matriks, %30 organik matriks ve %20-25 sudan (67), ağırlık olarak ise % 70'i inorganik, % 20'si organik ve % 10'u sudan oluşan bir dokudur (77). Organik madde, mukopolisakkaritlerin (proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar) esas maddesine gömülmüş kolajenöz fibrillerden oluşur.

Tip I kollajen, dentinde bulunan başlıca kollajen türüdür. Esas maddenin önemli bileşenleri proteoglikanlar-kondroitin sülfatlar, dekorin ve biglikan, glikoproteinler-dentin sialoprotein (DSP), osteonektin, osteopontin, dentin-fosfoprotein (DPP), gama karboksiglutamat içeren proteinler (Gla-proteinler) ve fosfolipitlerdir. Dentin matris proteini ve kemik birbirine benzer, ancak dentin sialoprotein ve dentin fosfoprotein sadece dentin içinde bulunur (75).

Dentinin inorganik yapısı diğer mineralize dokularda olduğu gibi kalsiyum hidroksiapatit kristallerinden ($Ca_{10}[PO_4]_6[OH]_2$) meydana gelmektedir. Dentin dokusunun mineye oranla inorganik içeriği %20 daha azdır ve hidroksiapatit kristallerinin boyutları daha küçük olduğu için mineye göre daha yumuşaktır; fakat kemik dokusuna benzer olup kemik ve sement dokusundan serttir (77).

2.4.2. Primer Dentin

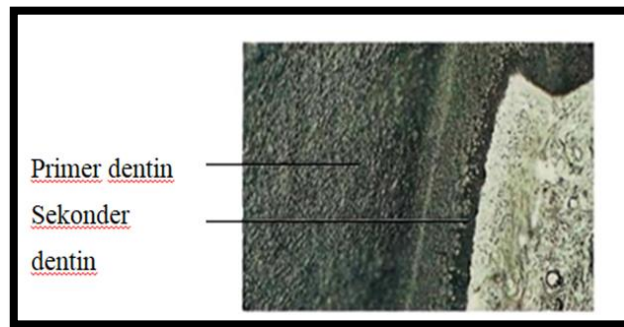
Kökün tamamlanmasından önce oluşan dentin, primer dentin olarak bilinir (78). Önce dentin-mine birleşiminde birikir (Şekil 2.12) ve birleşme noktasından interglobüler veya globüler dentin bölgesine yaklaşık 150 mikrometre uzanır. Bu kısım manto dentin olarak adlandırılır; çünkü dentinin geri kalanı üzerinde örtü veya manto görevi görür. Sirkumpulpal dentin, doğrudan manto dentin altında uzanır ve dişin primer dentin kütlelerini içerir. Sirkumpulpal dentin, kuronda 6 ile 8 mm kalınlığında ve köklerde biraz daha ince olabilir. Manto dentin biraz daha az mineralizedir ve sirkumpulpal dentinden daha az defekt içerir (64).



Şekil 2.12. Manto dentinin ve interglobuler dentinin histolojik kesiti

2.4.3. Sekonder Dentin

Sekonder dentin, pulpayı çevreleyen dar bir dentin bandıdır, kök tamamlandıktan sonra oluşan dentini temsil eder. Bu dentin primer dentinden daha az tübül içerir. Çok daha düşük bir oranda sentezlenir ve primer dentine göre yapı bakımından daha düzensizdir. Sekonder dentin dişin yaşamının geri kalanı boyunca biriktirilir. Primer ve sekonder dentin, tersiyer dentinden (onarıcı, reaksiyoner) farklı olarak, çürük veya oklüzal aşınma gibi patolojik bir sürecin sonucu olarak biriktirilir. Oluşan sekonder dentin herhangi bir dış uyarana cevap değildir ve primer dentin gibi görünmektedir. Dentin tübüllerinin düzenli olarak dizilmesi nedeniyle düzenli (regular) sekonder dentin olarak bilinir. Apikal dentin ise hem primer hem de sekonder dentinde, dentin tübüllerinde düzensizlik gösterir (29, 75). Şekil 2.13'te primer ve sekonder dentin gösterilmektedir (64).

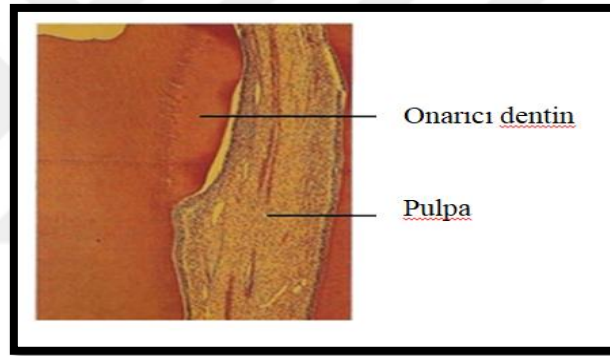


Şekil 2.13. Primer dentin (solda) sekonder dentin (sağda)

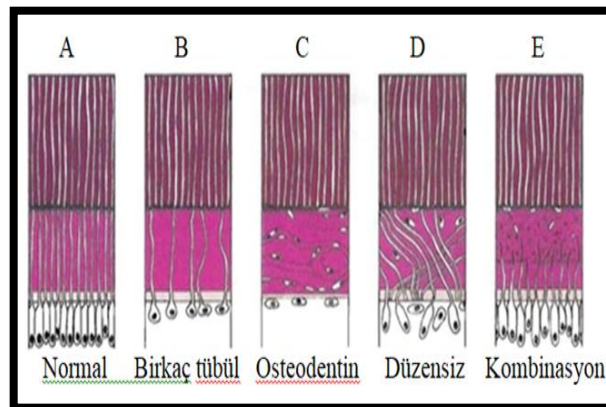
2.4.4. Tersiyer Dentin

Tersiyer dentin tamir, cevap veya reaktif dentin olarak da ifade edilmektedir. Bu dentin, pulpa-dentin sınırında dentine daha yakın olup; çürük veya restoratif prosedürler

gibi travmaya tepki olarak oluşur. Tersiyer dentin orjinal odontoblastlar tarafından ya da odontoblastların ölümü halinde, yakın mezenkimal kök hücrelerden köken alır. Tersiyer dentinin işlevi, pulpayı zararlı etkilere korumaktır. Tersiyer dentin primer ve sekonder dentin ile karşılaştırıldığında yapısı düzensizdir (29, 75). Tersiyer dentin pulpa stimülasyonundan kaynaklanır ve sadece odontoblastik aktivasyon sahasında oluşur. Tersiyer dentin oluşumu atrizyon, abrazyon, çürük veya restoratif prosedürlerin sonucu olsa da, bu dentin sadece uyarılan alanların altında toplanır (Şekil 2.14 ve 2.15) (64). Hızlı bir şekilde depolanabilir, bu durumda ortaya çıkan dentin, seyrek ve bükülmüş tübüller ve olası hücre inklüzyonları ile düzensiz görünür (Şekil 12.15, B ile E). Bu tip dentinde odontoblastlar, fibroblastlar ve kan hücreleri bulunmuştur. Aksine, daha az uyarılan nedeniyle yavaş yavaş şekillenirse, primer veya sekonder dentin gibi daha düzenli görünür (Şekil 2.14 ve 2.15, A). Zaman zaman tersiyer dentin, dentinden çok kemiği andırmaktadır bu nedenle osteodentin olarak da adlandırılmaktadır (64).



Şekil 2.14. Reparatif dentin(Onarıcı dentin) histolojik görüntüsü



Şekil 2.15. Normal ve onarıcı dentin: A normal dentin, B-E reparatif dentin, B tübül sayısında azalma, C hücre inklüzyonu, D düzensiz ve bükülmüş tübüller, E tiplerin kombinasyonu

Tersiyer dentin, kendi içinde reaksiyoner ve reperatif dentin olarak iki alt sınıfta değerlendirilmektedir (79). Reaksiyoner dentin, hayatta kalan odontoblast hücrelerinin tipik olarak daha hafif uyarıcılarla uyarılmasıyla oluşturulan tersiyer dentin olarak tanımlanmaktadır. Buna karşılık, reparatif dentin, yeni nesil odontoblast benzeri hücrelerin oluşturduğu tersiyer dentin olarak tanımlanır. Böyle bir yanıt normalde daha güçlü uyarılardan sonra görülür (80).

2.5. Vital Pulpa Tedavisi

Vital pulpa tedavisi, direkt veya indirekt pulpa kuafajı, pulpotomi ve pulpa hasarını en aza indiren, kimyasal, bakteriyel, mekanik veya termal travmanın toksik etkilerinden pulpayı koruyan herhangi bir tedaviyi içerir (80). Direkt pulpa kuafajı, pulpal dokunun canlılığını korumak için bir ilaç ya da restoratif materyali perfore pulpa üzerine yerleştirme prosedürü olarak tanımlanmaktadır (7, 81). Başarılı direkt pulpa kuafajı, kök kanalı tedavisi veya çekim gibi daha karmaşık veya invaziv tedavi seçeneklerine olan ihtiyacı önler (82). Direkt pulpa perforasyonu, derin çürüklerin temizlenmesi sırasında oluşabildiği gibi mekanik aksilikler ve travmalar nedeniyle de meydana gelebilmektedir (7).

2.5.1. Vital Pulpa Tedavilerinin Başarısını Etkileyen Faktörler

Vital pulpa tedavilerinin başarısını etkileyen birçok etken gösterilmiştir. Bunlardan bazıları, hekimin materyal ve teknik seçiminden etkilenmektedir; ayrıca vaka seçimini etkileyen kritik faktörlerle de ilgilidir. Bu etkenlerin anlaşılması vital pulpa tedavisine uygun vakaların seçiminde rehber olacağı için önemlidir (80).

Direkt pulpa kuafajı başarısını arttırabilen etkenlerden bazıları şunlardır:

- 1) Spontan veya sürekli ağrı öyküsü olmayan asemptomatik diş,
- 2) 0.5 mm'den küçük pulpa perforasyonu,
- 3) Pulpa perforasyonundan sonra kontrol edilebilen kanama,
- 4) İşlem sırasında çalışma alanının doğru izolasyonu, (83)
- 5) Perforasyon alanına komşu dentinden kaynaklanabilen bakteriyel sızıntının engellenmesi (7).

2.6. Direkt Pulpa Kuafaj Materyalleri:

Geçmişten günümüze kadar direkt pulpa kuafajı için çeşitli materyaller kullanılmıştır. Bunlardan bazıları aşağıda sıralanmıştır;

- Çinko oksit öjenol (7, 83),
- Cam iyonomer (7, 83),
- Bonding ajanlar (7, 83),
- Ca(OH)₂ (kalsiyum hidroksit) (7, 83),
- Kalsiyum slika esaslı materyaller (MTA, Biodentin, Bioaggregate, Therecal, ERRM, Kalsiyumdan zenginleştirilmiş siman) (84),

Ayrıca yapılan çalışmalarda propolis (85), tetra kalsiyum fosfat simanlar (86), demineralize dentin matriksi (87), hidroksiapatit kristalleri (88), mine matriks türevleri (89), rekombinant insan osteojenik proteinleri (90), kemik sialoproteinleri (90), hyaluronik asit (91), büyüme faktörleri (92) gibi birçok direkt kuafaj materyali de deneysel olarak kullanılmıştır.

2.6.1. Çinko Oksit Öjenol

Çinko oksit öjenol, dişhekimliğinde kaide materyali veya geçici restorasyon materyali olarak sıklıkla kullanılır (7). Ek olarak, pulpa dokusuna palyatif ve yatıştırıcı bir etki üretmek için pulpa kuafaj materyali olarak çinko oksit öjenol kullanılması önerilmiştir (83). Bununla birlikte, direkt pulpa kuafajı için çinko oksit öjenol kullanımı üzerine yapılan bir çalışmada, zayıf klinik sonuçlar ve pulpanın kronik enflamasyonu görülmüştür (7).

2.6.2. Cam İyonomer

Cam iyonomer ve rezin modifiye cam iyonomerin, dentine adezyon kabiliyeti ve bakteri istilasını önleme kabiliyeti nedeniyle altın, amalgam veya seramik restorasyonlarda kaide olarak kullanılması önerilmiştir (7, 83). Cam iyonomer, ayrıca mikro sızıntıyı önlemek için kompozit restorasyonlar altında bir yalıtım materyali olarak da kullanılmaktadır (93). Direkt pulpa kuafaj işlemi, her iki materyalin de pulpa dokusu ile doğrudan temas halinde kullanıldığında sitotoksik olduğu kabul edilir. Direkt pulpa kuafaj materyali olarak rezin modifiye cam iyonomerin kullanıldığı bir

araştırmada, zayıf klinik sonuçlar gözlenmiş ve tersiyer dentinin de oluşmadığı görülmüştür (7).

2.6.3. Bonding Ajanlar

Adeziv sistemlerin direkt pulpa kuafaj ajanı olarak kullanılması 1900' lü yıllarda başlamıştır (94). Ekspoz pulpada kuafaj ajanı olarak adezivlerin kullanılması, adeziv bileşenlerin muhtemel toksisitesi ve adezivlerin ekspoz pulpa üzerinde başarılı bir şekilde kullanılması için kritik faktör oluşturması nedeniyle tartışmalı bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu olumsuz etkilerin sebebi pulpa içine yayılan ve iyileşme için olumsuz uyarılara neden olan polimerleşmemiş rezin monomerlerdir (95, 96). Ayrıca, kanama ve nem kontrolünü sağlarken yaşanan zorluklar, polimerizasyon sırasındaki ışık yoğunluğu ve dalga boyu ve marjinal sızıntının önlenememesi gibi klinik kullanımında zorluklar bulunmaktadır (97).

Bonding ajanların direkt pulpa kuafajında kullanıldığı birkaç hayvan çalışmasında pulpanın iyileşme gösterdiği gözlemlenirken (98, 99), bazı hayvan çalışmalarında ise yeterli pulpal iyileşmenin olmadığı görülmüştür (100, 101). Sızdırmazlık yararının aksine, birkaç çalışma, adeziv sistemlerinin Ca(OH)₂ bazlı materyallerle karşılaştırıldığında direkt pulpa kuafaj tedavisinde sürekli kronik inflamasyon ve gecikmiş dentin köprüsü oluşumuna neden olma dezavantajlarına sahip olduğunu göstermiştir (102, 103). Ancak mikrosızıntı ve pulpaya olan bakteri istilası önlediği takdirde pulpa kuafajı için olumlu sonuçlar elde edilebilmektedir (104). O nedenle günümüzde MDPB (12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide) içeren primer ve adeziv bonding ajanlar geliştirilmiş ve polimerizasyondan sonra oldukça etkili antibakteriyel özellik gösterdiği gözlemlenmiştir (105). MDPB içeren primer, pulpa canlılığını ve primer odontoblastik fonksiyonu muhafaza etme yeteneğine sahip olabilir ve bu nedenle pulpada antibakteriyel monomer içeren self-etch adeziv kullanmak mümkündür. Restorasyonun yerleştirilmesinden sonra rezidüel bakterileri inhibe eder (104). Cui ve ark'nın (104) yaptığı çalışmada MDPB içeren self etch bonding ajanların in direkt kuafaj ajanı olarak kullanılması önerilirken; daha güncel bir çalışma olan Parthasarathy ve ark'nın (106) yaptığı çalışmada MDPB içeren self etch bonding ajanlar direkt kuafaj ajanı olarak kullanılmıştır. Parthasarathy ve ark'nın yaptığı çalışmada Ca(OH)₂ ve MDPB içeren self etch adeziv direkt kuafaj ajanı olarak karşılaştırılmıştır. 7 günlük gözlem süresinden sonra enflamatuvar reaksiyon, MDPB

içeren self etch adeziv grubunda Ca(OH)_2 grubuna göre önemli ölçüde daha düşük şiddette gözlemlenmiş; ancak 30 gün sonra oluşan dentin köprüsü MDPB içeren self etch adeziv grubunda Ca(OH)_2 grubuna göre daha düşük bulunmuştur.

2.6.4. Kalsiyum Hidroksit (Ca(OH)_2)

Ca(OH)_2 uzun yıllardan beri direkt pulpa kuafajı prosedürlerinde “altın standart” olarak tanınmıştır (107). Ca(OH)_2 yıllardır kullanılan bir materyaldir. 1920'de Herman (108), dental pulpa tedavisi için Ca(OH)_2 kullanımını önermiştir. Materyal 1921'de diş hekimliği uygulamalarına tanıtılmış ve o zamandan beri çok popüler bir kavite liner olarak kullanılmaktadır. Diş hekimliğindeki popülaritesi ise 1930'da bir insan çalışması yayımlandıktan sonra artmıştır (81). Tarihsel bir bakış açısıyla, Ca(OH)_2 ürünlerinin tanıtımı vital pulpa tedavisinin gelişiminde önemli bir rol oynamıştır. Pulpa kuafaj ajanları olarak vaat edilen ilk materyaller, dentin talaşları ve Ca(OH)_2 'in birlikte kullanıldığı macunlardır (109). Çok sayıda takip eden çalışma, çeşitli Ca(OH)_2 formülasyonları ile tedavi edilen vakaların yaklaşık % 50 ile % 87'sinde dentin köprüsü oluşumunu göstermiştir (110-117).

Ca(OH)_2 , kalsiyum okside dönüşene kadar kalsiyum karbonatın kalsine edilmesi (ısıtılması) yoluyla elde edilen güçlü bir bazdır. Ca(OH)_2 , kalsiyum oksidin hidrasyonu ile elde edilir ve Ca(OH)_2 ve karbon dioksit arasındaki kimyasal reaksiyon kalsiyum karbonat oluşturur. Yüksek pH'a (12.6) sahip beyaz bir tozdur ve suda az çözünür (25°C sıcaklıkta 1.2 g/L çözünürlük) (118). Ca(OH)_2 'in özellikleri kalsiyum ve hidroksil iyonlarına ayrışmasından gelir ve bu iyonların dokular ve bakteriler üzerindeki etkisi bu maddenin biyolojik ve antimikrobiyal özelliklerini açıklar. Biyolojik özelliklerdeki değişiklikler, kimyasal reaksiyonlarla da anlaşılabilir; çünkü karbondioksit varlığında Ca(OH)_2 kalsiyum karbonat (zayıf asit oksit) olur ve bu ürün Ca(OH)_2 'in mineralizasyon kabiliyeti gibi biyolojik özelliklerine sahip değildir (119).

Diş hekimliğinde Ca(OH)_2 mineralizasyonda ve antimikrobiyal etkilerde önemli bir rol oynar. Mineralizasyon etkisi, Ca(OH)_2 'in, alkalın fosfataz enzimini (doku enzimi) aktive etme kabiliyetinden kaynaklanır ve sert doku köprüsünün oluşumuna katılan hidroksiapatitin moleküler birimi olan kalsiyum fosfat üretir. Pulpa dokusu ile Ca(OH)_2 doğrudan teması, birkaç dakika içinde nekrotik alanların oluşumunu indükler. Bundan sonra, mineralize doku oluşumu yedinci ile onuncu gün arasında gözlenir (118).

Yapılan çalışmalar, yapının geçirgen olup olmadığının ve yine de tatminkar bir pulpa korumasının sağlanıp sağlanmadığını belirlemek için, Ca(OH)_2 ile şekillendirilmiş dentin köprülerinin ultrastrüktürünü değerlendirmiştir (120). Başka bir çalışmada, kasten perforasyon edilen insan premolar ve üçüncü molar diş pulpası bir Ca(OH)_2 (Pulpdent) ile kapatıldıktan sonra 4 ile 15 hafta sonra oluşturulan dentin köprülerini değerlendirmek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanmıştır (121). Sonuçlar tedavi sonrası, daha uzun dönemlerde tam dentin köprüsü ve kalınlık artışı göstermiştir. 6 haftadan daha uzun bir süre boyunca işlenmiş pulpaların çapraz kesitleri, doku artıkları ve Ca(OH)_2 , fibrodentin olarak tanımlanan liflerin kaba bir ağ örgüsünün orta tabakası ve tübüler osteodentin gösteren bir iç tabakadan oluşan üstün bir amorf tabakayı göstermiştir (80).

Pulpanın durumu, bakteri varlığı ve sert dokunun inflamasyon sürecinin devamlılığı ile ilişkilidir (122). Kirk ve Meyer (123), ratlarda pulpa ekspozunda kuafaj ajanı olarak Ca(OH)_2 'i, çinko oksit öjenol ve bir kortizon-antibiyotik kombinasyonu olan Ledermix (Wyeth Lederle, Glostrup, Danimarka) ile karşılaştırmıştır. Ca(OH)_2 , hızlı bir şekilde düzenli olarak kalkosferit oluşumuyla tam bir onarım sağlamıştır. Diğer iki materyal, dentin köprüsü oluşumunu önlemiştir.

Bazı çalışmalar Ca(OH)_2 tarafından oluşturulmuş dentin köprülerinde gözeneklilik bildirmiştir (124). Bir grup araştırmacı ise Ca(OH)_2 ile direk pulpa kuafaj çalışmanın sonuçlarını özetleyerek, 1 ile 2 yıllık bir takip periyodundan sonra bir dizi iltihaplı ve enfekte pulpa olduğunu bildirmişlerdir (19).

Uzun yıllar boyunca, çalışmalar Ca(OH)_2 'in, bonding ajanlar veya cam iyonomer gibi daha önce tartışılan materyallerden üstün olduğunu göstermiştir. Ca(OH)_2 kullanarak yapılan pulpa kuafajının sonucu hem kısa hem de uzun takip sürelerine dayanarak başarılı olmuştur (7). Ca(OH)_2 'in iki ana dezavantajı vardır. İlk olarak, materyal zamanla çözünebilir. Bu nedenle, kalsiyum hidroksit tabakası üzerine ayrıca sızdırmaz bir materyal yerleştirilmesi önerilmektedir (7, 83). İkinci dezavantajı ise; pulpa üzerindeki onarıcı dentin katmanındaki tünel kusurlarının varlığı olarak bildirilmektedir (7).

Öte yandan, Ca(OH)_2 içeren pulpa kuafaj materyalleri düşük mukavemet (basınç, gerilme), MTA'dan daha düşük elastikiyet modülü, zamanla ve fosforik asit veya eterle artan çözünürlük, yüksek sitotoksikite (yüksek pH seviyesinden), zayıf sızdırmazlık

kabiliyeti (doğal adezyon özelliği yoktur) ve tersiyer dentindeki tünel defektlerinin indüksiyonu dahil olmak üzere birçok dezavantaja sahiptir (125, 126). Ek olarak, bu materyal dentinogenezi özel olarak uyaralmaz; bunun yerine, sert doku köprüsü olarak mineralleşmiş doku oluşumunu indükler (7) .

2.6.4.1. Ca(OH)₂'in Dentin Köprüsü Oluşum Mekanizması

Ca(OH)₂ antibakteriyel özelliklere sahip olup pulpanın bakteri penetrasyonunu en aza indirebilir veya ortadan kaldırabilir. Geleneksel olarak, kalsiyum hidroksitin yüksek pH'ının pulpa dokusunun irritasyonuna neden olduğuna ve bu irritasyonun bilinmeyen bir mekanizmayla tamir sürecini uyardığına inanılmaktadır. Son yıllarda, bu “bilinmeyen mekanizma” biyoaktif moleküllerin salınımı ile açıklanmaktadır. Dentinogenez sırasında dentin matrisine çeşitli proteinlerin dahil edildiği bilinmektedir. Pulpa kuafajında özellikle önemli olan, bu proteinlerden Kemik Morfogenik Protein (BMP) ve Transforming Growth Faktör β-1 (TGFβ-1) pulpa onarımını uyarabilmektedir. Kalsiyum hidroksit, pulpa kuafajının ardından pulpa onarımında önemli rol oynayan bu proteinleri dentinden çözebilmektedir. Bu süreç, Ca(OH)₂ kullanıldığında direkt pulpa kuafajındaki etki mekanizmasını açıklar. Ek olarak, pulpa kuafajında kullanıldığında Ca(OH)₂, kavitedeki bakteri sayısını azaltır ve bu da reperatif dentin oluşumunu teşvik eder (7, 127).

Ca(OH)₂ materyalinin uygulamasının ardından yaklaşık 1-2 saat sonra ortalama olarak 0,3-0,7 mm kalınlığa sahip bir koagülasyon nekrozu bölgesi oluşmaktadır. Bu bölgenin altında kalan canlı pulpa dokusunda hafif bir iritasyon meydana gelir ve daha sonra iltihapsal yanıt meydana gelmektedir. Vital pulpa dokusu ile koagülasyon nekrozu bölgesinin en alt kısmı arasında demarkasyon hattı oluşmaktadır. İnflamatuar hücreler Ca(OH)₂ uygulandıktan altı saat sonra demarkasyon hattının altına doğru göç etmektedir. Yaklaşık olarak 1-2 gün sonra ise, demarkasyon hattının altında bulunan mezenkimal hücreler çoğalmaya başlar. 2-3 gün içinde bağ dokusu liflerinde artış görülür. Komşu fibroblastlar ve mezenkim hücreler çoğaldıkça hücreden zengin bir tabaka oluşarak önce preodontoblastlara daha sonra ise odontoblast benzeri hücrelere dönüşürler. Kalsifikasyon teorileri arasında geçerliliği en çok kabul edilen epitaktik mekanizmaya göre, bir kristal çekirdek kalsiyum ve fosfat iyonlarını bağlayarak kalsifikasyonu başlatır. Ayrıca kollajenler ve mukopolisakkaritler de kalsifikasyona katılmaktadır. Kuafaj bölgesine gelen pulpa hücreleri ortalama olarak 2 hafta sonra

organize hale gelir ve yaklaşık 4 hafta sonra tip I ve tip III kollajen sentezlenmesi ile mineralizasyon başlar ve ilk dentine benzer tübüler yapılar gözlemlenebilir. Bütün bu aşamalardan sonra dentin köprüsü için hazırlıklar tamamlanmaktadır (43, 128-132).

Ca(OH)₂ uygulamasından yaklaşık bir ay sonra oluşan dentin köprülerinin pulpaya ait yüzeyi odontoblastlardan meydana gelen predentin tabakasından oluşurken, dentine ait yüzeyi ise düzensiz yapıda osteodentin benzeri dokudan oluşmaktadır. Kuafajdan sonra geçen süre 3 aya yaklaştığında ise dentin köprülerinin kalınlığı artar ve iki bölge arasında oluşan sınır daha da belirginleşmektedir. Pulpaya bakan yüzeyde daha düzgün kanallar içeren dentin benzeri doku görülmektedir (133).

Ca(OH)₂'in kuafaj materyali olarak kullanıldığı bir çalışmada ilk tamir dentininin 12. günde gözlemlendiği bildirilmiştir. 27. ve 28. güne tamir dentin oluşumu artış göstermiş ve 3.5 µm/gün'e ulaşmış ve bu süreç 48. güne kadar devam etmiştir. Sonraki süreçte ise günlük dentin oluşum hızı azalmış ve 72. günde 0.74 µm/gün, 132. günde 0.23 µm/gün'e olarak tespit edilmiştir. 2,5 ay içinde 0.15 mm ve 6 aylık süre sonunda 0.25 mm'lik dentin kalınlığı elde edildiği bildirilmiştir(134).

2.6.4.2. Ca(OH)₂'in Antimikrobiyal Etkisi

Ca(OH)₂' in yüksek pH'ı organik bileşenlerin kimyasal olarak zarar görmesine ve bütünlüğünü değiştiren mikroorganizmanın sitoplazmik membranında fosfolipidlerin veya doymamış yağ asitlerinin tahrip olmasına neden olur (118). Antimikrobiyal etki; yüksek pH, Ca(OH)₂ ve yüksek oksidan serbest radikalleri olan hidroksil iyonlarının salınmasından da kaynaklanır. Bu etkiler bakteriyel hücrelerin sitoplazmik membran bütünlüğünü değiştirir, bakterilerin DNA'sına zarar verir ve bakteriyel proteinlerin denatürasyonuna sebep olur (118, 130).

Uzun tarihine rağmen, vital pulpa tedavisinde Ca(OH)₂ kullanımı tartışmalıdır. Bu tartışmanın bir kısmı Ca(OH)₂'nin kostik etkisi ile ilgilidir. Saf halde diş pulpalarına uygulandığında, sadece biyolojik bir pansuman olarak işlev görmek yerine, Ca(OH)₂, belirli bir miktarda pulpa dokusunu tahrip etmektedir. Çok sayıda çalışma Ca(OH)₂'in doku kültüründeki hücreler için de son derece toksik olduğunu göstermiştir. Bu yıkıcı özellik, kostik etki olmadan onarıcı dentin köprülerini uyarabilen bir formül bulma çabalarını tetiklemiştir (80). Ca(OH)₂'in insanlarda kostik bölge ve vital pulpa dokusu arasındaki bölgede tersiyer dentin oluşumunu destekleyebildiğini göstermiştir (135).

2.6.5. Kalsiyum Slikat Esaslı Materyaller

2.6.5.1. Mineral Trioksit Agregat (MTA)

1993 yılında MTA, Torabinejad (136) tarafından diş hekimliğine tanıtılmıştır. 1998 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) tarafından onaylanması ile hem deneysel hem de klinik olarak geniş çaplı kullanım alanı bulmuştur (93). MTA tozu, nem varlığında sertleşen ince hidrofilik parçacıklar içerir. MTA tozunu hidratlamak için birkaç sıvı kullanılmıştır. MTA kompozisyonunu incelemek için, enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX), endüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektroskopisi (ICP-OES), X ışını kırınım yöntemi (XRD), X ışını floresans spektrometresi (XRF), enerji dağıtıcı analizi de dahil olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılmıştır (137-145).

MTA kalsiyum oksit (CaO) ve silisyum oksit (SiO) içermektedir (146). Bazı araştırmalar, MTA'nın ana element bileşenlerinin, kalsiyum ve silika, ayrıca bizmut oksit olduğunu ileri sürer (142, 146-148). MTA ilk olarak gri (GMTA) olarak sunulmuş ve GMTA'nın renk değişim potansiyeli nedeniyle beyaz MTA (WMTA) geliştirilmiştir (149). Araştırmalar WMTA'da GMTA'dan daha az oranda demir, alüminyum ve magnezyum bulunduğunu göstermiştir (139, 142, 143, 147, 150).

WMTA, GMTA ve PC (portland çimentosu) arasındaki temel fark WMTA ve GMTA'da potasyumun olmaması ve bizmut oksidin ise mevcut olmasıdır (143). Bir araştırma, GMTA ve WMTA'nın kuru tozunun yanı sıra sıradan ve beyaz PC değerlendirmiş ve test edilen tüm materyallerin benzer ana bileşenlere sahip olduğunu tespit etmiştir. Bunlar trikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat, kalsiyum silikat ve tetrakalsiyum alüminoferrittir (151). GMTA temel olarak dikalsiyum ve trikalsiyum silikat ve bizmut oksitten oluşur, WMTA ise öncelikle trikalsiyum silikat ve bizmut oksitten oluşur (142). MTA tozu su ile karıştırıldığında, önce kalsiyum hidroksit ve kalsiyum silikat hidrat oluşur ve sonuçta zayıf kristalleşmiş ve gözenekli katı bir jel halini alır (144).

MTA, çeşitli çalışmalara göre, pulpa ile doğrudan temasta iyi biyoyumluluğa sahip olduğunu kanıtlamıştır. Dahası, MTA mikrosızıntıyı önler ve dokunun yenilenmesini destekler ve Ca(OH)₂'ten daha iyi bir sızdırmazlık sağlar (7, 152). MTA'nın primer sertleşme reaksiyonunda, hücre çoğalmasını arttıran ve materyalin biyoyumluluğunu açıklayan Ca(OH)₂ üretilir. MTA'nın antibakteriyel etkisi, alkali pH

seviyesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, MTA, sert doku üreten hücrelerin göçünü artırır (153). MTA, klinik deneylerde direkt pulpa kuafaj materyali olarak kullanıldığında, Ca(OH)₂ ile karşılaştırılabilir sonuçlar göstermiştir. MTA'nın ana dezavantajı, klinik uygulamada ilk kez kullanıldığında uzun süren sertleşme süresidir. Ancak, yeni formül MTA sertleşme süresini hızlandırmıştır (7).

Son on yılda yayınlanan birçok çalışma, MTA'nın klinik sonuçlarını direkt kuafaj maddesi olarak Ca(OH)₂ ile karşılaştırmıştır. Bazı çalışmalar MTA'nın kısa vadeli çalışmalarda daha iyi sonuçlar gösterebileceğini iddia etmiştir (7). Bununla birlikte, 2013 yılında yayınlanmış iki yıllık bir klinik çalışma; MTA'nın kalsiyum hidroksit ile karşılaştırıldığında üstün klinik sonuçlar gösterdiğini doğrulamıştır (107). Sistematik bir derleme ve meta-analiz, MTA'yı Ca(OH)₂ ile karşılaştırmış ve MTA kullanılan vakalarda pulpanın daha az inflamasyon gösterdiği ve tersiyer dentin oluşumunu arttırdığı sonucuna varmıştır (82).

Angelus MTA

MTA, ticari olarak farklı isimlerde bulunmaktadır: ProRoot MTA (Dentsply), White ProRoot MTA (Dentsply), Angelus MTA (Angelus MTA, Angelus, Londrina, PR, Brezilya), Angelus MTA-Blanco (Angelus MTA, Angelus, Londrina, PR, Brezilya), MTA Plus (Avalon Biom Inc., Bradenton, FL, Amerika), MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brezilya), Retro MTA (BioMTA, Seoul, Kore) piyasada bulunan MTA markalarındandır.

Bunlardan biri olan Angelus MTA, 2001 yılında bir Brezilyalı şirket (Angelus Industria de Produtos Odontologicos Ltda. , Londrina, PR, Brezilya) tarafından geliştirilmiştir (154). Materyal hem beyaz hem de gri Angelus MTA formlarında pazarlanmaktadır (155). Üreticilerine göre, Angelus MTA bir radyopaklaştırıcı olarak % 80 PC ve % 20 bizmut oksit içermektedir (48). Sertleşme süresini 10 dakikaya (145) düşürmek için hiçbir kalsiyum sülfat ilave edilmezken, ProRoot MTA ise % 75 PC, % 20 bizmut oksit ve % 5 kalsiyum sülfattan oluşur (156). Gri ProRoot MTA ile karşılaştırıldığında gri Angelus MTA, daha düşük miktarda bizmut oksit ve magnezyum fosfat, ancak daha yüksek miktarda kalsiyum karbonat, kalsiyum silikat ve baryum çinko fosfat içerir. Ayrıca, Angelus MTA, gri ProRoot MTA'dan daha az karbon, oksijen ve silika içerir; ancak daha fazla kalsiyum bulundurur (155).

MTA'nın Fiziksel Özellikleri

MTA tozunun hidrasyonu, koloidal bir jelin sert bir yapıda katılaşması ile sonuçlanır. Karışımın özellikleri toz/sıvı oranından, karıştırma yönteminden (yani hapsolmuş havanın miktarı), kondansasyon için kullanılan basınçtan, ortamın neminden, MTA tipinden, MTA'nın depolama ortamından, pH'dan, karıştırma ve değerlendirme arasındaki süre, materyalin kalınlığı ve sıcaklıktan etkilenebilir (140, 157-178). Fridland ve Rosado (165) bu faktörlerin bazılarının kolayca kontrol edilemeyeceğine inanmaktadır. Bu nedenle, MTA'nın fiziksel özellikleri üzerine yapılacak bir araştırma sırasında farklı sonuçlar elde edilebilir.

• Sertleşme Zamanı

MTA, tozu 3:1 toz/sıvı oranında steril su ile karıştırılarak hazırlanır (162). MTA'nın ortalama sertleşme süresi, amalgam, Süper EBA ve ara restoratif materyalden (IRM) daha uzundur (165 ± 5 dakika). GMTA, WMTA'dan (168, 169) daha yüksek başlangıç ve son sertleşme süreleri gösterir. WMTA'nın PC ile karşılaştırıldığında daha uzun sertleşme süresi, WMTA'da (140) daha düşük seviyelerde kükürt ve trikalsiyum alüminat varlığı ile ilgilidir. MTA'nın uzun sertleşme süresi, materyalin en büyük dezavantajlarından biridir. Bu klinik dezavantajın üstesinden gelmek için birçok araştırma yapılmıştır (161, 179-182).

• Çözünürlük

Çoğu araştırma MTA'nın düşük çözünürlüklü olduğunu veya hiç olmadığını bildirmiştir (137, 172, 183, 184). Bununla birlikte, uzun vadeli bir çalışmada çözünürlüğün fazla olduğu bulunmuştur (185). Bir çalışma, hem sıradan hem de beyaz PC'nin WMTA'dan önemli ölçüde daha az çözünürlük gösterdiğini bulmuştur (169). Bu bulgular, WMTA'nın 2 farklı PC türünden daha az çözünür olduğunu gösteren başka bir çalışmanın aksinedir (172). Farklılıklar, bu araştırmalarda kullanılan PC türüne bağlanmaktadır. Ek olarak, toz su oranı çözünürlük miktarını da etkileyebilir. Aslında, daha fazla su oranı, toza oranla MTA gözenekliliğini ve çözünürlüğünü arttırmıştır (165). Çalışmalar, daha fazla su kullanmanın MTA'dan kalsiyum salınımını artıracak olduğunu bildirmiştir. Bizmut oksidin, suda çözünmeyen MTA'ya eklenmesi, MTA'nın daha az çözünmesine sebep olan başka bir unsurdur (186). Camilleri ve ark.'nın (144) MTA'nın hidrasyonu ile ilgili yaptığı bir çalışmada bizmut oksidin MTA'nın hem kalsiyum hem de silikat içerikleriyle reaksiyonunu doğrulamıştır.

- **Basınç Dayanımı**

MTA'nın basınç dayanımı, 24 saat sonra amalgam, IRM ve Süper EBA'ninkinden önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, 3 hafta sonra, Süper EBA, IRM ve MTA arasında basınç dayanımı açısından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (137). MTA, öncelikle bizmut oksit ilavesiyle trikalsiyum ve dikalsiyum silikattan oluşur (16). Dikalsiyum silikatın hidrasyon hızı, trikalsiyum silikatınkinden daha yavaş olduğundan (14), MTA'nın basınç dayanımı (137) ve itme dayanımı, karıştırmadan birkaç gün sonra maksimum seviyelerine ulaşır (163, 171). WMTA ve GMTA'nın basınç dayanımı ile ilgili çelişkili sonuçlar vardır (157, 169, 175). Bir çalışma, WMTA'nın basınç dayanımının, karıştırmadan 3 ve 28 gün sonra, GMTA'ninkinden önemli ölçüde daha düşük olduğunu bildirmiştir (169). Buna karşılık, GMTA ve WMTA'nın basınç dayanımını karşılaştıran diğer iki araştırma WMTA için daha fazla basınç dayanımı olduğunu bildirmiştir (157, 175). Genelde, MTA'nın basınç dayanımı, kondansasyon basıncından önemli ölçüde etkilenmez (174). Son zamanlarda yapılan bir başka deney WMTA'nın kuru koşullarda tutulmasının basınç dayanımını azalttığını göstermiştir (173).

- **pH**

MTA'nın pH değeri, karıştırmadan sonra 10.2'dir. Bu değer 3 saatte 12,5'e yükselir (137). MTA, uzun süreli bir çalışma boyunca yüksek pH değerini korumuştur (185). Çalışmalar, yüksek pH değerini, MTA'dan sürekli kalsiyum salınımı ve $\text{Ca}(\text{OH})_2$ oluşumuna bağlamışlardır. Ph değerleri farklı zaman dilimlerinde karşılaştırıldığında, hem WMTA hem de GMTA, karıştırmadan hemen sonra 2 tür PC 'den önemli ölçüde daha yüksek pH değerleri sergilemiştir (169). Bununla birlikte, karıştırmadan 30 dakika sonra, test edilen materyaller arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. 60 dakikada, GMTA'nın, WMTA ve her iki PC tipinden anlamlı derecede düşük bir pH değerine sahip olduğu belirtilmiştir (169). Mevcut veriler, MTA'nın su ile karıştırılmasının, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ açığa çıkmasını ve yüksek pH ortamının oluşumunu sağladığını göstermektedir (186)

- **Porozite**

Birçok çalışma MTA porozitesini değerlendirmiştir (177, 178). Karıştırılmış MTA'nın porozitesi, eklenen su miktarı, karıştırma işlemi sırasında hava kabarcıklarının sıkışması veya çevresel asidik pH değeri ile ilgilidir (158, 162, 165, 177, 178).

- **Mikrosertlik**

MTA'nın mikro sertliği, ortamın pH değeri, materyalin kalınlığı, kondansasyon basıncı, karışımdaki sıkışan havanın miktarı, materyalin nemi, asitle aşınması ve sıcaklık gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilir (140, 159, 162, 167, 172, 174, 177, 187, 188). Asidik bir ortam, hem GMTA'nın hem de WMTA'nın mikro sertliği üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir (159, 177). Çevrenin MTA'nın hidrasyon davranışı üzerindeki etkisini değerlendiren bir araştırma, hidrasyon fazındaki MTA'nın iğneli ve baskın kübik kristallerden oluştuğunu tespit etmiştir (177). Asitli ortamda kübik kristaller arasında büyüyen iğne benzeri kristaller görülmüştür. Azalan mikro sertlik, bu iğne benzeri kristallerin yokluğuna bağlanmıştır. Apikal bariyer olarak kullanıldığında 2 mm ve 5 mm kalınlıktaki GMTA ve WMTA'nın mikro sertliği incelenmiştir. MTA'nın formülasyonuna veya kullanılan yerleştirme tekniğine bakılmaksızın 5 mm kalınlık, 2 mm kalınlıktan belirgin şekilde daha sert bulunmuştur (167). Bir araştırma WMTA'nın mikrosertliğini 2 tip PC ile karşılaştırmıştır. WMTA, test edilen materyallerin farklı kimyasal ve fiziksel özelliklerine atfedilebilecek her iki PC tipinden önemli ölçüde daha fazla mikrosertlik göstermiştir (172). Son zamanlarda yapılan bir çalışma, MTA'nın kondansasyonu sırasında daha fazla baskı uygulanmasının daha az mikrosertlik eğilimi göstermesine neden olduğunu doğrulamıştır (174). İki ayrı araştırma, EDTA ve asitleme prosedürünün MTA mikro sertliğini önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir (187, 188) .

2.6.5.2. Biodentine

Biodentine özellikle hızlı sertleşen kalsiyum slika siman olarak üretilen ve ticari olarak dentinin bir alternatifi olarak pazarlanan, pulpa kuafaj materyali ve endodontik tedavilerde MTA' yı destekleyecek şekilde MTA'ya benzeyen bir dental materyaldir. Biodentine kapsüle edilmiş toz ve likit şeklinde satılır (84). Biodentin, kalsiyum komponentlerinden zengindir ve Biodentinin kalsiyum salınımı ile sert doku formasyonunu arttırdığı bilinmektedir. Biodentin pulpa hücrelerini odontoblast benzeri hücrelere farklılaştır ve bunlara ek olarak mineralize doku ve reparatif dentin formasyonuna neden olur (84).

Biodentine vital pulpa kuafajı prosedürlerinde ve dentin, sement onarımı gibi diğer endodontik uygulamalarda ve pulpa rejenerasyonunda kullanılabilir (189). Derin çürük lezyonları, indirekt pulpa kuafajı ve external kök rezorpsiyonu Biodentin

kullanılarak başarılı şekilde tedavi edilebilir. Olumlu fiziksel özellikleri, iyi kullanım özellikleri, kısa sertleşme süresi, bioaktif, biomineralizasyon potansiyeli, sızdırmazlık özelliği ve MTA'dan düşük fiyatı, MTA'ya alternatif özellikler oluşturabilir (84).

2.6.5.3. Bioaggregate

Bioaggregate, MTA'nın modifikasyonu ve endodontik tamir materyali olan kalsiyum slikaat esaslı bir simandır. Bioaggregate MTA'dan farklıdır, çünkü radyoaktif için MTA'daki bizmut oksidin aksine Bioaggregate tantalum okside bulunmaktadır (190). Bioaggregate biyouyumlu ve non-toksik materyaldir ve MTA ile karşılaştırıldığında daha az sistemik ve lokal toksik etki gösterir (191). Bioaggregate güçlü antibakteriyel ve antifungal özellik gösterir (*Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans*) ve sert doku formasyonu yeteneği vardır (191).

Bioaggregate, pulpa kuafajında, kök kanal tedavisinde, apeksifikasyonda, kök perforasyonlarında ve kök rezorbsiyonlarının tamirinde kullanılmaktadır. Bioaggregate ile birlikte beklenen sert doku oluşturma potansiyeli, MTA'dan fazladır ancak kötü mekanik özellikleri ve uzun sertleşme süresi MTA'nın yerini alabilen durumlarını sınırlar (192).

2.6.5.4. Theracal

Theracal radyopak, ışıkla sertleşen rezin modifiye kalsiyum slikaat simandır. Pulpa kuafaj materyali olarak kullanıldığında apatit benzeri çökeltiler ve dentin köprüleri oluşturma yeteneğine sahiptir (193). TheraCal'ın yüksek miktarda kalsiyum salınım yeteneği ve başlangıçtaki yüksek alkalitesi (pH 10–11) sert doku stimülasyonuna katkıda bulunan primer faktördür (194). Üreticiler, direkt ve indirekt pulpa kuafaj materyali olarak TheraCal kullanılmasını önerir. TheraCal kirli beyaz bir renktedir, estetik sorunları önlemek ve kompozit restorasyonların altında ince bir tabaka halinde uygulanır (195). Halen, Theracal'ın kullanımını destekleyecek *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar yetersizdir (84).

2.6.5.5. Endosequence Kök Tamir Materyali (ERRM)

Üretici bilgisine göre, ERRM önceden karıştırılmış bir kalsiyum slikaat simandır. Kullanıma hazır ve şırınga edilmiş bir pasta ya da MTA'ya kıyasla kullanım ve uygulama kolaylığı olan sıkıştırılabilir bir macundur (84). ERRM fizyolojik bir solüsyonla temas ederse hidroksiapatit benzeri çökeltiler oluşturur. ERRM'den sert

doku birikimine olanak sağlayan kalsiyum salınır (196). ERRM perforasyon tamiri, apikal cerrahi, apikal tıkaç ve pulpa kuafaj materyali olarak kullanılabilir (197). ERRM ile MTA'nın biyolojik etkisi benzerdir. Ne var ki, bu materyalin kullanımını destekleyecek yeterli in vivo ve in vitro çalışma yoktur (84).

2.6.5.6. Kalsiyumdan Zenginleştirilmiş Siman

Kalsiyumdan zenginleştirilmiş siman tozu birçok kalsiyum komponentinden oluşur. Fosfat varlığı kimyasal içeriğın MTA'dan farklı olmasının başlıca sebebidir (150). Kalsiyumdan zenginleştirilmiş siman ve MTA'nın osteoblast/odontoblast farklılaşması için benzer bir yeteneği vardır, mineralizasyonla vital pulpada dentin köprü oluşumunu destekler. Kök ucu dolum malzemesi olarak kullanıldığında sement birikimini teşvik eder. Klinik raporlar kalsiyumdan zenginleştirilmiş simanın internal ve eksternal kök rezorpsiyonu, apeksifikasyon, apeksogenezis, furkasyon perforasyon tamiri, kök ucu dolumu, direkt pulpa kuafajı ve primer veya kalıcı dişlerde pulpotomide kullanımını önermiştir (84).

2.7. Grafen

Allotropik bir karbon türü olan Grafen, 2004 yılında Geim ve Novoselov tarafından tanıtılmıştır (198). İki boyutlu bir ağdaki tek atom kalınlığında bir karbon tabakası olan grafen, yüksek özgül alanı ve olağanüstü mekanik, elektriksel ve ısıl özellikleri nedeniyle ilgi odağı olmuştur (199-203). Günümüzde, grafen, bilimsel toplulukta çok fazla araştırmanın konusudur. Ayrıca, üstün elektronik, optik, termal iletkenlik ve mekanik özellikleri nedeniyle çeşitli endüstriyel uygulamalarda da kullanılabilir (204-206). Son yıllarda grafen hastalık teşhisi, antibakteriyel ve antiviral materyal, kanser hedefleme ve fototermal tedavi, hücrelerin elektriksel olarak uyarılması, ilaç dağıtımı ve doku mühendisliği gibi biyotıpta sayısız potansiyel uygulamada kullanılmaktadır (198, 207-210).

2.7.1. Grafen bazlı materyaller

- Grafen,
- Grafen oksit (GO),
- İndirgenmiş grafen oksit (rGO)
- Grafen nanoplateletler (GNP) gibi türlerden oluşur (211).

2.7.1.1. Grafen Oksit

Grafen oksit (GO), epoksit, karbonil, karboksil ve hidroksil grupları gibi çeşitli oksijen içeren fonksiyonlara sahip tek bir monomoleküler grafit tabakası olarak görülebilen eşsiz bir materyaldir (212).

2.7.1.2. İndirgenmiş Grafen Oksit (rGO)

İndirgenmiş grafen oksit rGO, oksijen içeriğini azaltmak için kimyasal, termal ve diğer yöntemlerle işlenen GO şeklindedir (213).

2.7.1.3. Grafen Nanoplateletler (GNP)

Grafen nanoplateletler, nanometre ölçeğinde kalınlığa sahip iki boyutlu parçacıklar oluşturmak üzere üst üste bindirilmiş tek ile birkaç katmanlı sp^2 bağlı karbon atomu tabakalarından oluşur (214). Bir GNP, çoğu zaman kalınlığı ~ 10 nm'nin altında olan birkaç istiflenmiş grafen katmanından oluşan bir nanosheet anlamına gelir (215). Grafen nanoplateletler (GNP), dikkate değer mekanik, elektriksel ve termal özellikler içeren yeni nesil karbon bazlı nanopartiküllerdir (198).

2.7.2. Grafen Sentezi

Genel olarak, grafen sentezi dört farklı yöntemle yapılabilir;

- Kimyasal buhar biriktirme (CVD) (216),
- Grafen tabakalarını mekanik olarak eksiltme, grafit pullarından mekanik olarak eksfoliyasyon eden bant yöntemi (198),
- Elektriksel yalıtkan bir substrat üzerinde grafen filmlerin epitaksiyel büyümesi (örneğin Si) (217),
- Doğal grafit pullarından grafen oksit türevlerinin kimyasal olarak indirgenmesi (218, 219).

1950'lerde ve 1960'larda, tek katmanlı grafit oksit (GO) tabakalarının sulu süspansiyonları üzerine kapsamlı araştırmalar Boehm ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (218, 220). Grafen oksit tabakalarının tipik olarak doğal grafit pullarının oksidasyon işlemi ile ekstrakte edilmesi için kullanılabilen "grafit oksit", 19. yüzyılın başlarında tanımlanmıştır (221-223). Doğal grafit pullarından dökülmüş birkaç katlı

grafenlerin toplu miktarlarının sentezindeki son gelişmeler, grafen bazlı kompozit materyallerin üretimini sağlamıştır (201, 224, 225).

CVD'de yetiştirilen grafenin in vitro osteojenik farklılaşmayı indükleme kabiliyeti, hücre bazlı kemik doku mühendisliği ve rejenerasyonu için umut verici bir platform olarak ortaya konmuştur (226-233). Özellikle, bazal büyüme ortamı olan grafen filmlerinde kültürlenmiş kök hücreler, RUNX₂ (Runt ile ilişkili transkripsiyon faktörü 2), osteokalsin (OCN), alkalın fosfataz (ALP) ve osteopontin (OPN) dahil olmak üzere osteojenik proteinlerin yüksek ekspresyonunu göstermiştir (226, 228, 232). Benzer şekilde, üç boyutlu grafen substratlar (iskele ve hidrojeller), RUNX₂, kollajen-1 (COL-1) ve OCN (osteokalsin) gibi kemikle ilgili genlerin ve proteinlerin ekspresyonunu arttırmıştır (228, 234, 235). Grafen filminin ayrıca farklı somatik ve kök hücre sınıflarının mineralizasyon potansiyelini arttırdığı gösterilmiştir (227, 231, 235). Dikkat çekici bir şekilde, grafen kaplı titanyum üzerinde kültürlenmiş MG-63 hücreleri, kaplanmamış kontrol grubuna kıyasla 7 gün sonra daha fazla miktarda kalsiyum nodülü sergilemiştir (231).

Grafenin fiziksel özellikleri (elastik özellikler, dalgalanmalar gibi yüzeysel topografik özellikler) hücre tutunmasını kolaylaştırabilir ve böylece kök hücre farklılaşmasını destekleyebilir (226). Önceki çalışmalar, mezenkimal kök hücrelerin (MSC), osteojenik indüktörlerin yokluğunda grafen üzerinde osteojenik farklılaşmaya uğradığını, kollajen-1, RUNX₂, OCN ve OPN'nin yanı sıra diğer osteojenik genlerin bazal ekspresyonunda bir yukarı regülasyon sergilediğini göstermiştir (226, 228, 230, 234, 236).

Grafen ve grafen oksitle (GO) ilgili ileri biyolojik ve biyomedikal araştırmalar yapılmıştır (237-245). Son yıllarda, araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda GO'nun kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin (BMSC'ler) osteojenik farklılaşmasını destekleyebileceğini göstermiştir. Bu nedenle GO'lar kemik rejenerasyonu için potansiyel bir yeni biyomateryal olarak kabul edilmektedir (246, 247). Grafen bazlı materyaller kanser teşhisi gibi hastalıkların teşhisinde ve bakterilerin, mantarların fototermal tedavisi gibi hastalıkların tedavidesinde de kullanılmıştır (248-252). Grafen bazlı nanomateryaller, birkaç biyomolekül ile kolayca işlevselleştirilebilir (253-255). Grafen doku mühendisliğinde (256) ve yeniden kemik üretimi için yapı iskelesi olarak kullanılmıştır (257).

Grafen ve türevleriyle ilgili diş hekimliği alanında henüz yapılmış çok fazla çalışma bulunmamaktadır ve bu da grafeni araştırmaya açık bir konu haline getirmektedir. Bunlardan biri olan He ve ark.'nın yaptıkları çalışmada grafen oksit dental patojenlere karşı antibakteriyel ajan olarak kullanmış ve grafen oksitin antibakteriyel etkili olduğu bulunmuştur (258). Kulshrestha ve ark.'nın (259) yaptıkları çalışmada ise bir grafen/çinko oksit nanokompozit filminin, dental implant yüzeylerindeki karyojenik Streptococcus mutanslara karşı olan etkisi incelenmiştir. Grafen/çinko oksitin Streptococcus mutans biyofilmlerini etkili bir şekilde inhibe ederek dental implantlar için bir kaplama maddesi olabileceğini bulmuşlardır.

2.8. Total Antioksidan Kapasite (TAS), Total Oksidan Kapasite (TOS) ve Oksidatif Stres

Biyolojik sistemlerde oksidanların kaynağı genelde oksijendir ve çoğunlukla reaktif oksijen türevleri (ROT) olarak isimlendirilirler. Süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali (HO^-), tekil (singlet) oksijen (1O_2) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) bu reaktif oksijen türevlerinin başlıcalarıdır (260). Biyolojik sistemlerde ROT'lar yüksek enerji radyasyonları ya da fotooksidasyon gibi fiziksel ajanların yanı sıra oksijenin biyolojik aktivasyonunu gerçekleştiren pek çok protein ve enzim ilişkisi ile üretilebilirler (261). Oksidatif patlama (farklı nedenlerle bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu sonucu), oksidatif ürünler (ör., elektron taşıma zinciri, sitokrom P450 aktivasyonu ve artan monoamin oksidasyonu), lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres (ör. , travma, iskemi) olmak üzere dört ana ROT kaynağı olduğu bilinmektedir (262) . ROT'lar çok kısa yarı ömürlü olmalarına rağmen, hücredeki proteinler, lipidler ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi hücrenin temel bileşenleri ile etkileşerek yapı ve işlevlerinde önemli hasarlara yol açmakta ve bu şekilde apoptoz ve hücre ölümünü tetiklemektedir. Geri dönüşümsüz oksidatif hasarın birikimi ile önce hücre, daha sonra doku ve organ sistemlerinde yapısal ve işlevsel bozukluklar ortaya çıkabilir. Oksidatif yıkım ürünlerinin yol açtıkları biyolojik hasarlar için “oksidatif stres” tanımı kullanılmaktadır. Oksidatif metabolizma ürünlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Antioksidan savunma olarak bilinen bu mekanizma, enzim olan ve olmayan mekanizmalar olarak iki kısımda incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX) ve glutatyon S-transferaz (GST) gibi enzimlerdir. Enzimlerin hücre içi korumasının aksine hücre dışı

ortamda antioksidan savunmadan A, E, ve C vitaminleri, melatonin, ferritin, transferrin, haptoglobin, seruloplazmin, albumin, bilirubin, β -karoten ve α -₁ antitripsin gibi enzimatik olmayan moleküller sorumludur (263).

Antioksidanların etki yolları dört şekilde gerçekleşmektedir:

- 1-Enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla veya süpürerek,
- 2-Oksidan oluşum mekanizmalarını engelleyerek,
- 3-Ortamdaki serbest metal iyonlarını bağlayarak,
- 4-Hasar sonrası tamir (264, 265).

Sağlıklı organizmalarda oksidanlar ve antioksidanlar denge halindedir; ancak bazı durumlarda bu denge bozulur ve oksidatif stresin zararlı etkileri ortaya çıkar (266). Oksidatif stres; vücudumuzda oksidatif-antioksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik bir durumdur. Oksidatif stresin toplam değeri, total oksidatif stres veya total oksidan kapasite (TOS) olarak ifade edilir. Bu durum, aşırı reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur. Total antioksidan kapasite (TAS), biyolojik sıvılarda mevcut olan antioksidanların membranları ve diğer hücrel komponentleri oksidatif hasara karşı koruma kapasitesinin bir göstergesidir (267). Total antioksidan kapasitenin ölçülmesi, antioksidanların yalnız ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Çünkü TAS, serumda bulunan antioksidan özelliklere sahip maddelerin toplam aktivitesini yansıtır ve daha doğru bir yaklaşım sağlar (268).

2.9. Mikrosertlik

Bir materyalin sertleşme reaksiyonu ve gücü, mikrosertliğin bir fonksiyonu olarak ölçülebilir. Mikrosertlik, bir materyalin öngörülen bir yük uygulandığında kalıcı deformasyona karşı koyma yeteneğidir. Mikrosertlik, pH, tanecik büyüklüğü, çekme dayanımları ve sıcaklık dahil olmak üzere materyalin diğer özelliklerinden etkilenen mekanik bir özelliktir (269). Knoop ve Vickers testleri mikro sertlik testleri Brinell, Rockwell ise makrosertlik testleri olarak kullanılır (270). Bu testler, kullanılan girinti şekline göre farklılık gösterir. Knoop testi, uzun bir piramit girintinin kullanılmasını içerirken Vickers testi, kare piramit elmas girintinin kullanılmasını içerir (269).

2.10. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX)

SEM; örnek alanları veya mikro hacimleri ince odaklanmış bir elektron ışını ile taramak için kullanılır. İkincil elektronlar, geri saçılmış elektronlar, Auger elektronları, karakteristik X-ışınları ve farklı enerji seviyeleri içeren fotonlar da dahil olmak üzere çeşitli sinyaller üretir. Elektron ışını numune yüzeyini taradığında, sinyaller yüzey topografyasına göre değişecektir. Elektron odaklama alanına yakın hacimdeki ikincil elektronların sınırlı emisyonu, yüksek görüntü çözünürlüğü ile sonuçlanır. Görüntülerin üç boyutlu görünümü derin alan derinliği ve ikincil elektron kontrastının gölge etkisinden gelir (271).

EDX ise bir yüzey analitik tekniktir. Bir elektron ışını numuneye çarpar; iç yörüngedeki bir elektronu kopartır ve materyalin elektronik yapısında bir elektron boşluğunun oluşumuna sebep olur. Kopan elektronlar iç yörüngelerden ise atomik kararlılığın sağlanması amacıyla elektron boşluklarına dış yörüngelerden elektron sıçrar. Daha fazla enerji barındıran dış yörüngelerdeki elektron yüksek enerjisini ışıma yaparak kaybeder. Kaybedilen enerji ise X ışınını ortaya çıkarır. Ortaya çıkan X ışınının karakteristiği incelenen örneğin hangi atomları içerdiğini ve enerjinin hangi enerji kabuğundan yayımlandığını açığa çıkarır (272, 273).

2.11. X Işını Kırınım Yöntemi (XRD)

XRD, kristalin materyalin karakterize edilmesi için güçlü ve tahribatsız bir tekniktir. Yapılar, fazlar, tercih edilen kristal yönelimleri (doku) ve ortalama tanecik boyutu, kristallik, zorlanma ve kristal kusurları gibi diğer yapısal parametreler hakkında bilgi sağlar. X ışını kırınım zirveleri, bir numunedeki her örgü düzleminde belirli açılarda yayılan monokromatik bir X ışınının yapıcı etkileşimi ile üretilir. Zirve yoğunlukları örgü düzlemlerindeki atomik konumlarla belirlenir. Sonuç olarak, X ışını kırınım modeli, belirli bir materyaldeki periyodik atomik düzenlemelerin parmak izidir (274).

2.12. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

FTIR spektroskopisi, kızılötesi ışık enerjisinin emilmesiyle moleküler bağların titreşimli uyarımına dayanır. FTIR spektroskopisi, kızılötesi ışın tarafından uyarılan moleküllerin titreşimlerinin gözlemlenmesini içerir. Moleküller farklı ışık kuantalarının

enerjisini emebilir ve bir sallanma veya dönme hareketi başlatabilir. Kızılötesi spektrum, herhangi bir kimyasal madde için karakteristik olan parmak izini temsil eder. (275).



3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma üç aşamada ve in vitro olarak gerçekleştirilmiştir;

- 1- Angelus MTA'ya (Angelus, Londrina, PR, Brezilya)+%0.1 GNP (grafen nanoplatelet) ve + %0.3 GNP'nin (grafen nanoplatelet) katılarak havanda homojen bir karışımın elde edilmesi,
- 2- Hazırlanan deneysel materyallerin, (Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+%0.3GNP), Angelus MTA ve Dycal'ın (Dentsply, Almanya) üretici firma talimatları doğrultusunda hazırlanarak teflon kalıplarda disk şeklindeki örneklerinin oluşturulması,
- 3- Disk şeklindeki materyal örneklerinin in vitro deneylerde kullanılması.

Çalışmamızda güncel kuafaj materyallerinden olan Angelus MTA (Angelus, Londrina, PR, Brezilya) ve günümüzde hala yaygın bir şekilde kullanılmakta olan Dycal (Dentsply, Almanya) kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+%0.3 GNP ise çalışma grubu olarak kullanılmıştır. Kullanılan materyaller Şekil 3.1'de, kimyasal içerikleri Tablo 3.1' de ve GNP'nin fiziksel özellikleri ise Tablo 3.2 'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan materyaller ve kimyasal içerikleri

Materyal Adı	Üretici Firma	Materyal Tipi	Materyal İçeriği
MTA	Angelus, Londrina, PR, Brezilya	Angelus MTA	Toz: sikon oksit(SiO ₂), potasyum oksit (K ₂ O), alüminyum oksit (Al ₂ O ₃), sodyum oksit (Na ₂ O), demir oksit (Fe ₂ O ₃), kalsiyum oksit (CaO), bizmut oksit (Bi ₂ O ₃), magnezyum oksit (MgO), kristalin sikonun çözünmeyen kalıntıları,potasyum sülfat(K ₂ SO ₄),ve sodyum sülfat(Na ₂ SO ₄) Likit: Distile su
Kalsiyum Hidroksit	DENTSPLY ,DeTrey Konstanz,Alma nya	Dycal	Baz: Kalsiyum tungstat, çinko oksit, 1.3 bütülen glikolün disalisilat esterleri Katalizör:Kalsiyum hidroksit, çinko oksit, titanyum dioksit
Grafen	Nanografi	Grafen Nanoplatelet(GNP)	Birkaç katmanlı grafen tabakası

Tablo 3.2. Grafen nanoplatelet fiziksel özellikleri

Safılık	%99.9
Tane İnceliği	3nm
Pelet Çapı	1.5 mikrometre
Yüzey Alanı	800 m ² /g
İletkenlik	1500-1980 s/m
Renk	Siyah



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan materyaller a: Dycal, b: Angelus MTA c: GNP

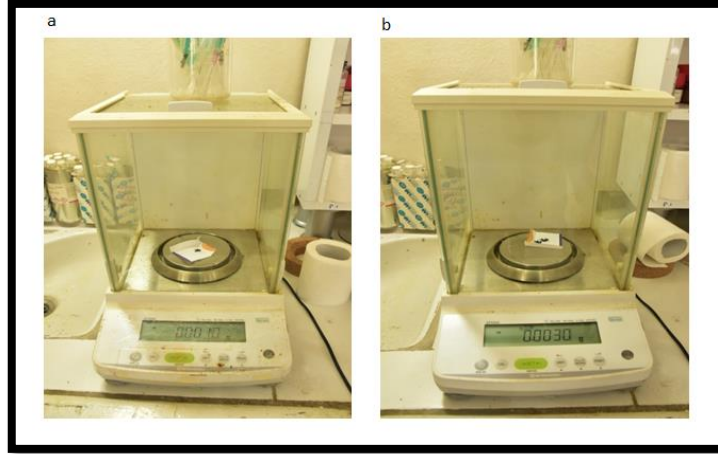
Materyallerin ;

- MTT ve Total antioksidan kapasite (TAS), Total oksidan kapasite (TOS) analizi
- Mikrosertlik analizi,
- Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)- Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX),
- Tanecik Boyutu,
- X Işını Kırınımı Yöntemi (XRD),

- Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektrofotometresi (FTIR), analizleri yapılmıştır.

3.1. İn vitro deneylerde kullanılacak materyal örneklerinin hazırlanması

- Deney gruplarını oluşturmak için öncelikle %0,1'lik ve %'0,3 lük oranlarda GNP hassas terazi ile tartılmıştır (Şekil 3.2). Tartılan %0.1 ve %0.3 oranlarındaki GNP, Angelus MTA'ya katılmış ve agat havanda iyice ezilerek karıştırılmıştır (Şekil 3.3).
- Angelus MTA ve deneysel olarak elde edilmiş olan Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+%0.3 GNP, firmanın talimatları doğrultusunda bir siman camı ve siman spatülü yardımı ile karıştırılıp (Şekil 3.4) 4mm çap ve 2mm yüksekliğinde silindirik teflon kalıplara yerleştirilmiştir (Şekil 3.5). Angelus MTA, Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+ %0.3 GNP'nin sertleşmesi için materyaller 48 saat süreyle 37 °C' de ve $90 \pm 5\%$ nemin sağlandığı etüvde (Nüve ES 110, Türkiye) bekletilmiştir (Şekil 3.6). Ortamın nemliliği nem ölçer cihaz ile belirli aralıklarla kontrol edilmiştir. Dycal materyali ise firmanın talimatları doğrultusunda karıştırılmış ve sertleşmesi teflon kalıplara yerleştirildikten sonra oda sıcaklığında tamamlanmıştır.



Şekil 3.2.Toz halindeki GNP'nin hassas terazi ile ölçülmesi a: %0.1 GNP b %0.3 GNP



Şekil 3.3. GNP ve MTA'nın havanda ezilerek karıştırılması



Şekil 3.4. Materyallerin firmanın talimatları doğrultusunda siman camında karışıma hazırlanması

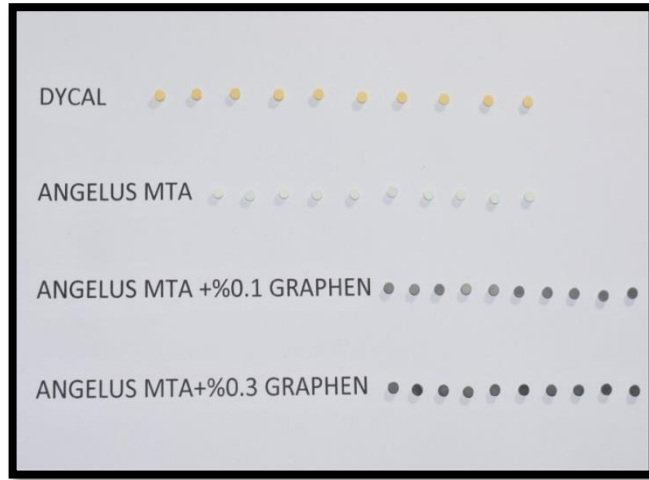


Şekil 3.5. 4mm çap ve 2mm kalınlığa sahip kalıplar kullanılarak karıştırılmış materyal örnekleri



Şekil 3.6. Örneklerin 48 saat 37 °C 90 ± 5% nemde tutulduğu etüv

Silindirik teflon kalıplardan, her bir materyalden 10 tane olmak üzere elde edilen disk şeklindeki materyal örnekleri (Şekil 3.7), tek tek paketlenerek (Şekil 3.8) in vitro testleri yapılmak üzere ilgili bölümlere gönderilmiştir. SEM-EDX, XRD, FTIR analizleri İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde, tanecik boyutu hesaplanması İnönü Üniversitesi Fizik Bölümünde, mikrosertlik analizi Atatürk Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümünde, MTT-TAS ve TOS analizi Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında yapılmıştır.



Şekil 3.7. Sertleşmesi tamamlanan materyal örnekler



Şekil 3.8. Materyal örneklerinin paketlenmiş hali

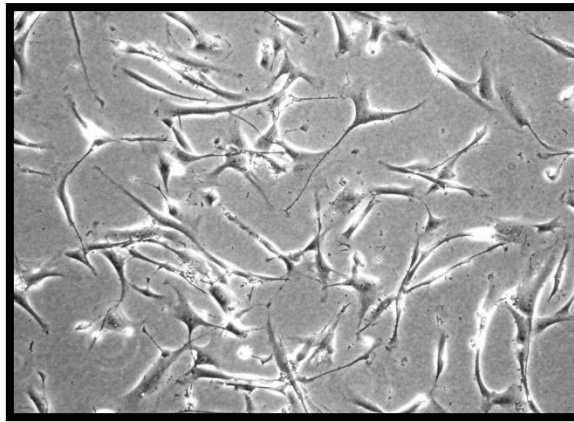
3.2. MTT, Total Antioksidan Kapasite (TAS)-Total Oksidan Kapasite (TOS) Analizi

Hazırlanan örneklerin gingival fibroblast kök hücre hattı üzerine etkileri 24. ve 72. saatlerde MTT, TAS ve TOS analizleri ile değerlendirilmiştir. Bu analizler Atatürk

Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında 3'er tane numune kullanılarak yapılmıştır.

3.2.1. Gingival Fibroblast Kök Hücrelerin Hazırlanması

Gingival fibroblast hücrelerinin mikroskopik görüntüsü Şekil 3.9'da gösterilmektedir. Gingival kök hücreleri ATCC, ABD firmasından temin edilmiştir. Krayo falkonlarda gelen hücreler seri şekilde normal oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Sıvı hale gelen hücre ve medyum 2 cc yeni medyumla karıştırılarak 1200rpm+4 dereceli santrifüjde 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Dibe çöken hücrelerin üstü atılarak yeni medyumda low glucose DMEM/f 12 (Sigma, ABD), 1/10 FBS (Sigma, ABD), %1 antibiyotik (Sigma, ABD) (pensilin-streptomisin-amfotrisin)) karıştırılmış ve 25 cm² flaskta ekilmiştir. Her 3 günde bir medyum değişikliği uygulanmıştır. Hücreler flaskın %80'ini kaplayınca pasaj işlemi yapılmıştır. Bunun için hücrelerin medyumunu atılarak uzaklaştırılmıştır. Flask steril PBS (Ca⁺⁺ ve Mg⁺⁺ içermeyen) ile yıkanmıştır. PBS (Sigma,USA) uzaklaştırıldıktan sonra 25 cm²'lik flaska 0,4 cc Tripsin/EDTA(Sigma, ABD) eklenmiş ve enkübe edilerek 5 dakika hücreleri kaldırılması için zaman tanınmıştır. 1:1 oranında FBS ilave edilmiş ve flaskın solüsyonunda yüzen hücreler steril tüpe alınarak 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Pelet oluşturan hücrelerin, üst sıvısı atıldıktan sonra yeni medyum ilave edilmiş ve 48'lik plate 100 µl gelecek şekilde ekim işlemi yapılmış ve hücre dağılımının homojen olmasına özen gösterilmiştir. Toma camıyla, her kuyucuk başına 1×10⁵ hücrenin geldiği saplanmıştır. Plateler 37°C derecede, %5 CO₂ bulunan bir inkübatörde tutulmuştur.



Şekil 3.9. Stereo mikroskopta 20 kat büyütme ile görüntülenen gingival fibroblast hücre hattı

3.2.2. Well Platelerin Hazırlanması

Logaritmik üreme tarzında olan, aktif ve yüzeyi %90-95 oranında kaplamış olan hücreler, pasajlama işleminde olduğu gibi flask tabanından ayrılmış ve taze medyum ile hücre süspansiyonu hazırlanmıştır. 24 gözlü well platelerin materyallerin yerleştirileceği her bölmesine, hazırlanan 200 ml hücre süspansiyonu dağıtılmıştır. Aynı yöntemle 3 adet 24 gözlü well platerler hazırlanmıştır. 5. günde kültür ortamındaki DMEM medyum aspire edilerek uzaklaştırılmış ve yerine taze medyum ilave edildikten sonra tekrar 37 °C'deki %5 CO₂'li inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. %5 CO₂'li ve 37 °C de nemli ortamdaki 7 günlük inkübasyon süresi sonunda hazırlanan well plate hücrelerin tüm gözlerinin tabanını tamamen doldurup doldurmadığı inverted mikroskop (Leica, Almanya) ile kontrol edilmiştir. Deney öncesinde hücrelerin gözleri tamamen doldurduğu görülmüş ve gingival fibroblast hücrelerinin karakteristik yapısı ışık mikroskopunda (Leica, Almanya) incelenmiştir.

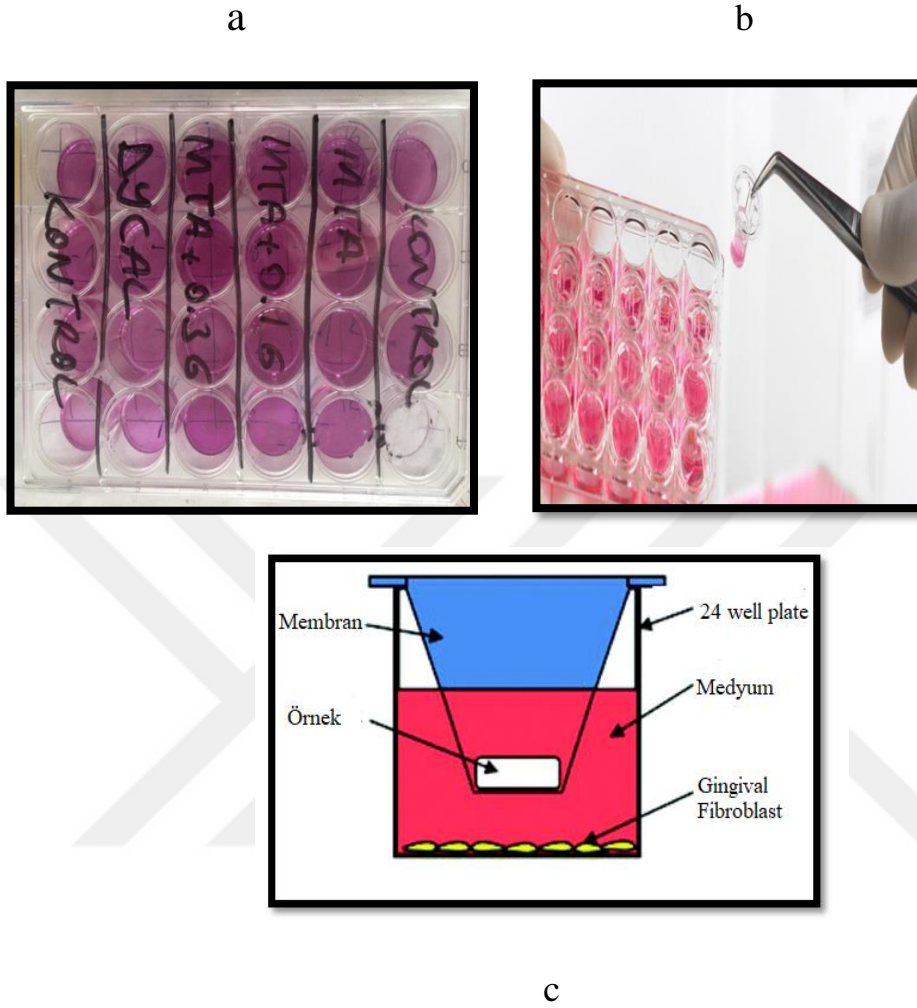
UV ışını (Klas 2 kabin, Türkiye) altında 2 saat boyunca sterilize edilen örnekler; daha sonra, steril bir presel yardımıyla, steril kabin içerisinde teker teker membran kutucukların içine yerleştirilerek hücrelerle direkt temas etmeleri engellenmiştir. Hücreler 24 ve 72 saat boyunca materyallere maruz bırakılmışlardır (Şekil 3.10).

3.2.3. MTT Analizi

Materyallerin MTT testi ile sitotoksitesini belirlemek için 1 ml PBS içinde 5 mg MTT tozu (Sigma Aldrich inc, St.Louis, ABD) olacak şekilde hazırlanan karışım, 0.20 µm'lik steril filtreden (Corning, Wiessbaden, Almanya) geçirilerek dış yüzeyi alüminyum folyo ile kaplandıktan sonra +4°C'de kullanılacağı zamana kadar bekletilmiştir. İnkübe edilen hücrelerin ortam sıvıları çekildikten sonra, daha önceden hazırlanmış olan örneklerden 3 tanesi her bir kuyucuğa yerleştirilerek 24 ve 72 saat süreyle 37 °C'de %5 CO₂ içeren ortamda tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Böylece, kullanılan materyallerin 24 ve 72 saat sonundaki sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir.

MTT maddesinin uygulanması sonucu oluşan formazan kristallerini çözünür duruma getirmek için 99.4 ml dimetilsülfoksit (DMSO), 0.6 ml (HCl) ve 10 g sodyumlauril sülfat (SDS) içeren karışımdan 100 µl/kuyucuk olacak şekilde ilave edilmiş ve 4 saat süreyle tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemin ardından absorbans, (optik yoğunluk) spektrofometrede (µQuant, Bad Friedrichshall, Biotek,

ABD) 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Veriler SPSS analiz sonrası grafikler halinde sunulmuştur.



Şekil 3.10. a: 24'lük well platete MTT analizi, b: Membran görüntüsü, c: Örneklerin yerleştirilmesini anlatan görsel

3.2.4. Total Antioksidan Kapasite (TAS) ve Total Oksidan Kapasite (TOS)'un Tespiti

24 ve 72 saat boyunca gingival fibroblast hücrelerinin, membran üzerinde bekletilen materyallere karşı oluşturduğu ve hücre sıvısına (medyum) bıraktığı TAS ve TOS değerleri ölçülmüştür. TAS ve TOS analizi Şekil 3.13 'te gösterilmektedir. TAS düzeyi tespitinde, hücre sıvısının 2-2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sülfonat = ABTS+) radikal katyonunun oluşumunu inhibe edecek antioksidan kapasitesi tespit edilmiştir. Tespit işleminde TAS (Total Antioksidan Kapasite) ticari kitleri (Rel Assay

Diagnostics® ,Türkiye) kullanılmıştır (Şekil 3.14). Kit Bileşenleri Reaktif 1 Solüsyonu, Reaktif 2 Solüsyonu, Standart 1 Solüsyonu ve Standart 2 Solüsyonundan oluşmaktadır.

30 µl hücre sıvısı (medyum) içeren kuyucuklara 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan eklenerek 660 nm’de ilk absorbans okunmuştur. Daha sonra aynı kuyucuklara 75 µl Reaktif 2 eklenerek 10 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekleme sonunda 660 nm’de ikinci absorbans değeri okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri aşağıdaki formülde uygun şekilde yerlerine konularak mmol Trolox Equiv/L cinsinden TAS düzeyleri tespit edilmiştir (Şekil 3.11).

$$\text{TAS Değeri} = \frac{[(\Delta \text{ abs std1}) - (\Delta \text{ abs örnek})]}{[(\Delta \text{ abs std1}) - (\Delta \text{ abs std 2})]}$$

Şekil 3.11. TAS değeri hesaplanırken kullanılan formül

Δ absorbans örnek = Örneğin 2. absorbans değeri – örneğin 1. absorbans değeri

Δ absorbans standart 1 = Std1’in 2. absorbans değeri – Std1’in 1. absorbans değeri

Δ absorbans standart 2= Std2’nin 2. absorbans değeri – Std2’nin 1. absorbans değeri

Total Oksidan Kapasite (TOS) tespitinde, numunede bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Çalışmamızda tespit işleminde TOS (Total Oksidan Kapasite) ticari kitleri (Rel Assay Diagnostcs®, Türkiye) kullanılmıştır (Şekil 3.14). Kit Bileşenleri Reaktif 1 Solüsyonu, Reaktif 2 Solüsyonu, Standart 1 Solüsyonu, Standart 2 Solüsyonundan oluşmaktadır.

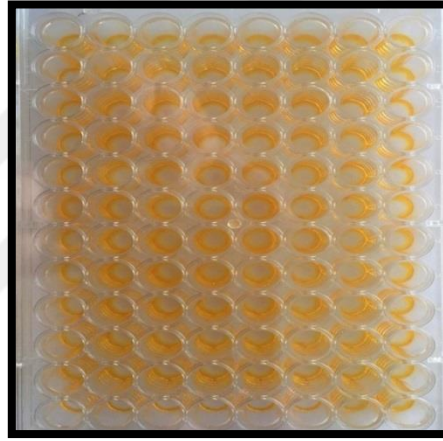
75 µl hücre sıvısının (medyum) bulunduğu kuyucuklara 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan ilave edilerek 530 nm’de ilk absorbansı okunmuştur. Daha sonra aynı küvete 25 µl Reaktif 2 solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk. bekletilmiştir. Bekleme sonunda 530 nm’de ikinci kez absorbansı okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri ve aşağıdaki formül kullanılarak mmol TOS düzeyleri H2O2 equi mmol /L-1 cinsinden tespit edilmiştir (Şekil 3.12).

$$\text{TOS Değeri} = \frac{\Delta \text{ absorbans örnek}}{\Delta \text{ absorbans standart}} \times 20$$

Şekil 3.12. TOS değeri hesaplanırken kullanılan formül

Δ absorbans örnek = Örneğin 2. absorbans değeri – örneğin 1. absorbans değeri

Δ absorbans standart = Standartın 2. absorbans değeri – standartın 1. absorbans değeri



Şekil 3.13. TAS ve TOS analizinin 96'lık well plate görüntüsü



Şekil 3.14. TAS ve TOS ticari kitleri

3.3. Mikrosertlik analizi

Mikrosertlik analizi Atatürk Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümünde 1 adet numune kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Materyal örneklerinin mikrosertlikleri, test cihazının (Shimadzu, HMV-G, Japonya) (Şekil 3.15) Vickers ucu kullanılarak ölçülmüştür. Mikrosertlik ölçümlerinde Hardness Vickers (HV) 0,1 ile 100 gram yük uygulanmış, ölçümlerin doğruluğu için bir materyal örneğinden 5'er adet ölçüm alınarak mikrosertlik değerleri belirlenmiştir. Vickers ucunun materyal üzerinde oluşturduğu çentiğin diagonal uzunluğu ve Vickers mikrosertlik değeri, cihaz üzerinde bulunan mikroyptik ölçüm sistemi ile $HV=1.854 \times \text{kuvvet} / (\text{taban köşegeni})^2$ formülüne göre otomatik olarak hesaplanmış ve HV cinsinden sonuçlar kaydedilmiştir.



Şekil 3.15. Mikrosertlik cihazı

3.4. Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağılımı X-Ray Analizi (SEM-EDX)

Bu analiz İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde 1 adet numune kullanılarak yapılmıştır. Örnekler incelemeye öncesi yüzeye iletkenlik kazandırmak amacıyla Au-Pd sürülmüş (Şekil 3.16) ve kaplama cihazına (Bal-Tec 050, Lichtenstein) yerleştirilmiştir (Şekil 3.17). Daha sonra örneklerin SEM analizi İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde (İBTAM) bulunan cihaz ile (LEO, EVO 40 XVP, İngiltere) (Şekil 3.18-3.19) 20 kV hızlandırma voltajında SE (Secondary Electron) kullanılarak, 4.5 nm ayırma gücü, 0.2-30 kV hızlandırma voltaj aralığı ve 7 ile 1.000.000 defa büyütme kapasitesine sahip elektron mikroskopuyla

gerçekleştirilmiştir. Örneklerin incelenmesinde 500-5000 (10-100 mikrometre aralığında) büyütme aralığı kullanılmıştır.

Elektron mikroskopunun yüksek voltaj altında hızlandırılmış elektron demetinin numune yüzeyinden yansması sonucu görüntü elde edilmiştir. Bu ışın numunenin yüzeyini tarayarak, belirli bir alanı hakkında bilgi edinmeyi sağlamıştır. Elektron ışınının numune ile etkileşimi, daha sonra uygun dedektörler tarafından tespit edilebilen bir dizi sinyal üretmiş ve bu sinyaller ile bir yüzey görüntüsü elde edilmiştir (276).



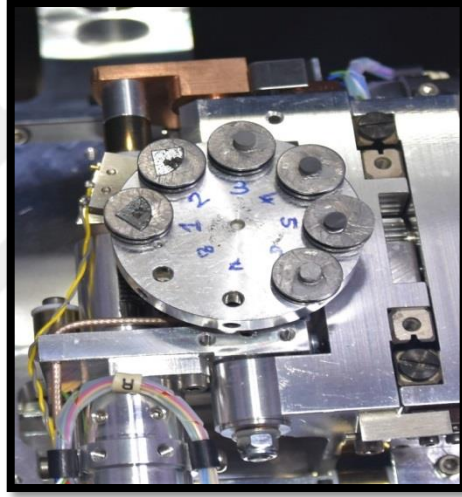
Şekil 3.16. Au-Pd ile kaplanmış örnekler



Şekil 3.17. Au-Pd sürülen örneklerin yerleştirildiği kaplama cihazı



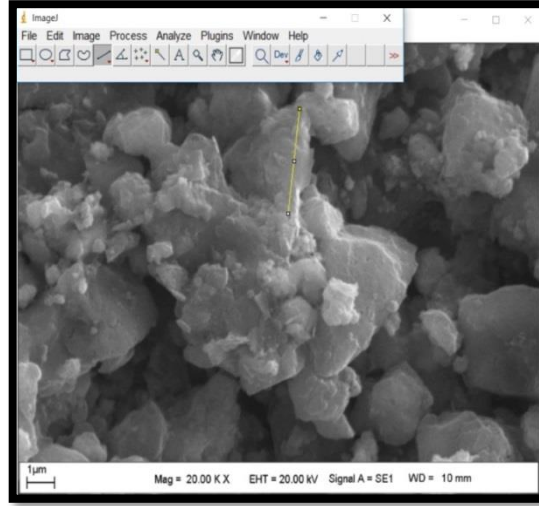
Şekil 3.18. SEM cihazı



Şekil 3.19. SEM cihazına yerleştirilmiş örnekler

3.5. Tanecik büyüklüğü

Tanecik büyüklüğü hesaplanırken tüm örneklerde 20 büyütme SEM görüntüsü kullanılmıştır. Elde edilen SEM görüntüsü üzerinden imagej (Şekil 3.20) programı kullanılarak tanecik büyüklüğü hesaplanmış ve istatistiksel analizi (Kruskal Wallis-Conover testi) yapılmıştır.



Şekil 3.20. İmage J program ile tanecik boyutunun hesaplanması

3.6. X Işını Kırınım Yöntemi (XRD)

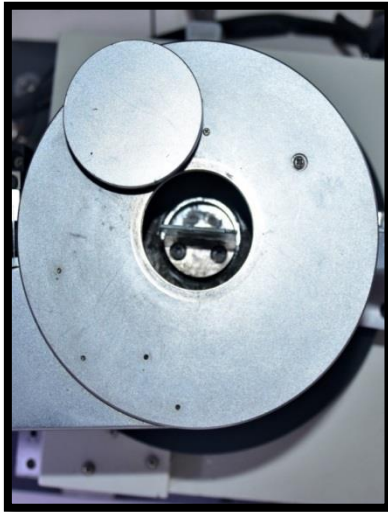
Bu analiz İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Agat havanda ezilen 1 numenin bir kısmı XRD analizinde bir kısmı ise FTIR analizinde kullanılmıştır. Elde edilen numunenin kristal yapı analizi X ışını kırınım yöntemi (XRD) ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan numunelerin X ışını analizleri, (Rigaku RadB-DMAX II, Japonya) bilgisayar kontrollü X ışını difraktometresi (Şekil 3.21) ile $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1.5405 \text{ \AA}$) radyasyonu kullanılarak yapılmıştır. Öncelikle hazırlanan numuneler agat havanda ezilmiştir (Şekil 3.22). Daha sonra örnekler cihaza yerleştirilmiştir (Şekil 3.23). Ölçümler $2\theta=3-800$ aralığında 30 /dk sabit tarama hızında alınmıştır (Şekil 3.24). Örneklerin kristal parametreleri MDI Jade 6.0 Crystal Refinement programı ve referans PDF kartları (pattern diffraction file) ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.21. XRD cihazı



Şekil 3.22. XRD analizi öncesi agat havanda ezilen numuneler



Şekil 3.23. Örneklerin yerleştirildiği bölme



Şekil 3.24. Analiz yapılırken çizilen XRD grafiği

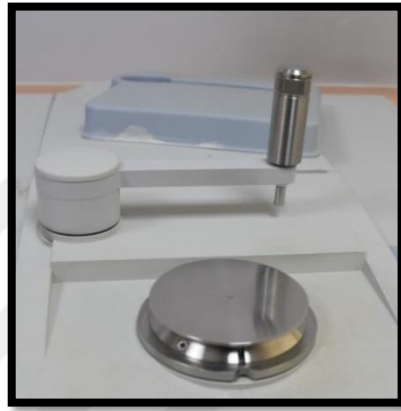
3.7. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektrofotometresi (FTIR)

Bu analiz İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Agat havanda ezilen 1 numenin bir kısmı XRD analizinde bir kısmı ise FTIR analizinde kullanılmıştır. Üretilen örneklerin FTIR ölçümleri alınırken, toz halindeki örnekler potasyum bromür (KBr) ile karıştırılmış, karışımda örnek miktarının %3'ü geçmemesine dikkat edilmiş ve karışım iyice öğütüldükten sonra 1 cm çapında peletler hazırlanıp kızılötesi radyasyon gönderilerek ölçümler alınmıştır. Kızıl ötesi radyasyonu kimyasal bağların gerilme, büzülme ve bükülme gibi farklı titreşim hareketleri ile absorbe edilmiştir. Kızıl ötesi bölgesinde kimyasal bağların titreşimlerindeki değişim ve absorpsiyon özellikleri spektral piklerin oluşmasını sağlamıştır. Her fonksiyonel grup kendine özgü titreşim sıklığına sahiptir ve her kızıl ötesi ışık dizisi (spectrum) özgüdür.

Analiz İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi Kimya Laboratuvarı bölümündeki, FTIR cihazı (Perkin Elmer, Spectrum One, Amerika) (Şekil 3.25-3.26) ile 200-2000 cm^{-1} ölçüm aralığında yapılmıştır.



Şekil 3.25. FTIR cihazı



Şekil 3.26. Örneklerin yerleştirildiği bölme

3.8. İstatistiksel Analiz

Veriler değişkenin dağılımına göre ortanca ile minimum ve maksimum ya da ortalama ve standart sapma değerleri ile özetlenmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir.

Değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi ve Kruskal Wallis testleri kullanılmıştır. Anlamlı tek yönlü varyans analizi sonrası çoklu karşılaştırmalarda Tukey testi, anlamlı Kruskal Wallis testi sonrası çoklu karşılaştırmalarda Conover testi kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler, IBM SPSS Statistics V. 25 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, Amerika) ve açık kaynak erişimli yazılım (Arslan, A. K., Yasar S., Colak, C. IAY: İstatistiksel Analiz Yazılımı [Web-tabanlı yazılım], 2019-05-22 tarihinde <http://biostatapps.inonu.edu.tr/IAY/> adresinden erişildi.) ile analiz edilmiştir. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

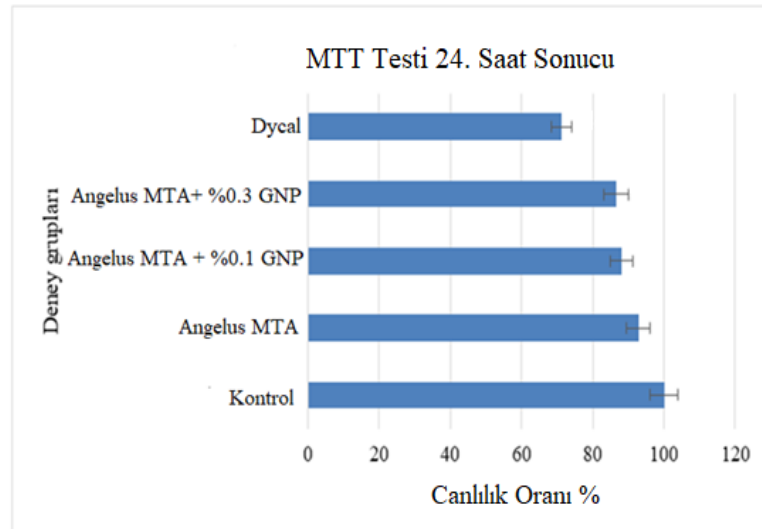
4.1. MTT, Total Antioksidan Kapasite (TAS), Total Oksidan Kapasite (TOS) Analizi Bulguları

4.1.1. MTT Bulguları

4.1.1.1. MTT Testi 24. Saat Sonucu

MTT testi 24. saat sonucu hücre canlılık oranlarının yüzde değerleri Şekil 4.1’de gösterilmektedir. Kontrol grubunun verileri 100’e eşitlenmiştir ve diğer grupların verileri de kontrol grubuyla oranlanmıştır. 24 saatlik değerlendirmede hücre canlılık oranları Angelus MTA ‘da % 93, Angelus MTA+%0.1 GNP’de %88, Angelus MTA+%0.3 GNP’de %87 ve Dycal’da ise %71 olarak bulunmuştur.

MTT testi 24. saat değişkeni için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuş ($p=0.016$) ve buna ilişkin tanımlayıcı istatistikler Tablo 4.1’de özetlenmiştir. Çoklu karşılaştırmalar ise Tablo 4.2 ‘de gösterilmiştir. Buna göre Angelus MTA ve Angelus MTA+%0.1 GNP gruplarının kontrol grubuyla anlamlı farklılık göstermediği gözlemlenmiştir ($p>0.05$). Angelus MTA+ %0.3 GNP grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı fark ($p=0.045$) bulunurken; Dycal ve kontrol grubu arasında ise yüksek düzeyde istatistiksel anlamlılık bulunmuştur ($p= 0.001$).



Şekil 4.1. Gingival fibroblast hücrelerinden 24. Saat sonunda elde edilen canlılık oranları

Tablo 4.1. 24. Saat MTT testinden elde edilen değerler

MTT Testi 24 saat	n	Ortanca	Minimum	Maksimum	p değeri
Kontrol Grubu	3	0.620	0.598	0.669	0.016*
Angelus MTA	3	0.582	0.560	0.609	
Angelus MTA +%0.1 GNP	3	0.549	0.541	0.572	
Angelus MTA +%0.3 GNP	3	0.551	0.530	0.553	
Dycal	3	0.462	0.416	0.465	

*Kruskal Wallis testi

Tablo 4.2. 24. Saat MTT analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar

Örnek 1-Örnek 2	Test İstatistiği	P Değeri*
Dycal - Angelus MTA +%0.3 GNP	4.333	0.235
Dycal - Angelus MTA+%0.1 GNP	5.000	0.171
Dycal- Angelus MTA	9.000	0.014
Dycal - Kontrol Grubu	11.667	0.001
Angelus MTA +%0.3 GNP - Angelus MTA+%0.1 GNP	0.667	0.855
Angelus MTA +%0.3 GNP - Angelus MTA	4.667	0.201
Angelus MTA +%0.3 GNP - Kontrol Grubu	7.333	0.045
Angelus MTA+%0.1 GNP - Angelus MTA	4.000	0.273
Angelus MTA+%0.1 GNP - Kontrol Grubu	6.667	0.068
Angelus MTA-Kontrol Grubu	2.667	0.465

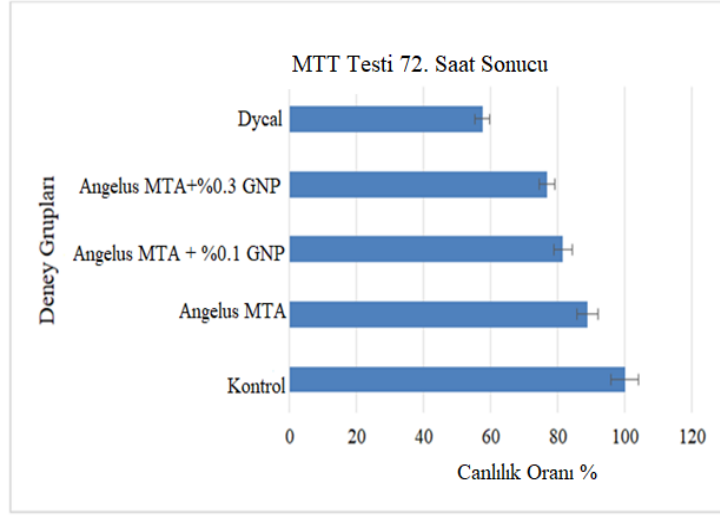
* Mann-Whitney U testi

4.1.1.2. MTT Testi 72. Saat Sonucu:

MTT testi 72. saat sonucu hücre canlılık oranlarının yüzde değerleri Şekil 4.2’de gösterilmektedir. Kontrol grubunun verileri 100’e eşitlenmiştir ve diğer grupların verileri de kontrol grubuyla oranlanmıştır. 72 saatlik değerlendirmede hücre canlılık oranları Angelus MTA’da %89, Angelus MTA+%0.1 GNP’de %82, Angelus MTA+%0.3 GNP ‘de %77 ve Dycal’da ise %58 olarak bulunmuştur.

MTT testi 72. saat değişkeni için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuş ($p = 0.027$) ve buna ilişkin tanımlayıcı istatistikler Tablo 4.3 te özetlenmiştir. Çoklu karşılaştırmalar ise Tablo 4.4 ‘te gösterilmiştir. Buna göre Angelus MTA ve Angelus MTA+ %0.1 GNP gruplarının kontrol grubuyla anlamlı farklılık göstermediği gözlemlenmiştir ($p > 0.05$). Angelus MTA+%0.3 GNP grubu ve kontrol grubu arasında

anlamli fark ($p=0.041$) bulunurken; Dycal ve kontrol grubu arasinda ise yuksek duzeyde istatistiksel anlamlilik bulunmustur ($p= 0.002$) .



Şekil 4.2. Gingival fibroblast hücrelerinden 72. Saat sonunda elde edilen canlılık oranları

Tablo 4.3. 72. Saat MTT analizinden elde edilen değerler

MTT Testi 72. saat	n	Ortanca	Minimum	Maksimum	p değeri
Kontrol Grubu	4	0.376	0.360	0.421	0.027*
Angelus MTA	3	0.348	0.286	0.388	
Angelus MTA+%0.1 GNP	3	0.312	0.302	0.322	
Angelus MTA +%0.3 GNP	3	0.276	0.248	0.358	
Dycal	3	0.214	0.198	0.249	

*Kruskal Wallis testi

Tablo 4.4. 72. Saat MTT analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar

Örnek 1-Örnek 2	Test İstatistiği	p Değeri*
Dycal - Angelus MTA +%0.3 GNP	4.000	0.303
Dycal - Angelus MTA+%0.1 GNP	5.667	0.145
Dycal - Angelus MTA	8.000	0.40
Dycal - Kontrol Grubu	11.417	0.002
Angelus MTA +%0.3 GNP - Angelus MTA+%0.1 GNP	1.667	0.668
Angelus MTA +%0.3 GNP- Angelus MTA	4.000	0.303
Angelus MTA +%0.3 GNP - Kontrol Grubu	7.417	0.041
Angelus MTA+%0.1 GNP - Angelus MTA	2.333	0.548
Angelus MTA+%0.1 GNP - Kontrol Grubu	5.750	0.114
Kontrol Grubu- Angelus MTA	3.417	0.347

* Mann-Whitney U testi

4.1.2. Total Oksidan Kapasite (TOS) Analizi Sonuçları

4.1.2.1. Total Oksidan Kapasite (TOS) 24. Saat Sonuçları

TOS testi 24. saat değişkeni için tanımlayıcı istatistikler Tablo 4.5'te özetlenmiş, çoklu karşılaştırmalar ise Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Grafikler halinde ise Şekil 4.3'te sunulmuştur. Veriler hidrojen peroksit seviyesine göre hesaplanmıştır. En düşük total oksidan kapasite kontrol grubunda tespit edilmiştir. En yüksek total oksidan kapasite ise Dycal kuafaj materyalinde hesaplanmıştır. Kontrol grubu $2,45 \pm 0.19$ H₂O₂ equi mmol/L⁻¹, Angelus MTA $2,91 \pm 0.21$ H₂O₂ equi mmol/L⁻¹, Angelus MTA +%0.1 GNP $3,27 \pm 0.26$ H₂O₂ equi mmol/L⁻¹, Angelus MTA+ %0.3 GNP $3,37 \pm 0.24$ H₂O₂ equi mmol/L⁻¹, Dycal ise $4,49 \pm 0.31$ H₂O₂ equi mmol olarak bulunmuştur.

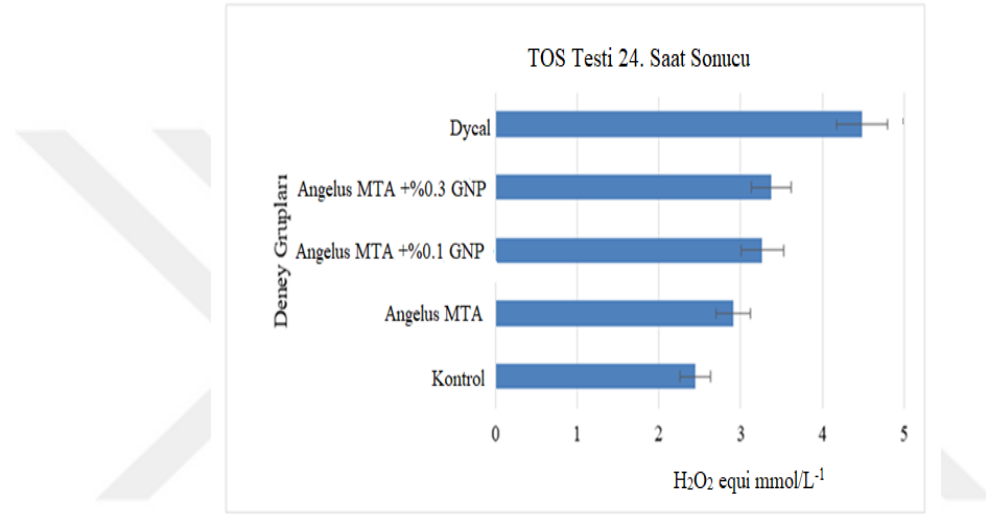
Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda Dycal ve kontrol grubu arasında yüksek düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0.001). Angelus MTA' da ve GNP eklenen gruplarda GNP dozuna bağlı olarak oksidan kapasite artış göstermiş ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (p>0.05) (Tablo 4.6).

Tablo 4.5. TOS testi 24. Saat sonuçları

TOS	n Değeri	Ortalama	StD
24 saat*	kontrol	3	2,45 ± 0,19
	Angelus MTA	3	2,91 ± 0,21
	Angelus MTA+%0.1 GNP	3	3,27 ± 0,26
	Angelus MTA+%0.3 GNP	3	3,37 ± 0,24
	Dycal	3	4,49 ± 0,31

Veriler ortalama ± standart sapma ile verilmiştir.

*Tek yönlü varyans analizi



Şekil 4.3. Kuafaj materyallerinin 24. saatte oluşturdukları total oksidan kapasite

Tablo 4.6. 24. Saat TOS analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar

Örnek 1-Örnek 2	p Değeri*
Dycal - Angelus MTA +%0.3 GNP	0.226
Dycal - Angelus MTA+%0.1 GNP	0.43
Dycal - Angelus MTA	0.009
Dycal - Kontrol Grubu	0.001
Angelus MTA + %0.3 GNP - Angelus MTA+%0.1 GNP	0.995
Angelus MTA +%0.3 GNP- Angelus MTA	0.815
Angelus MTA +%0.3 GNP - Kontrol Grubu	0.321
Angelus MTA+%0.1 GNP - Angelus MTA	0.999
Angelus MTA+%0.1 GNP - Kontrol Grubu	0.821
Kontrol Grubu- Angelus MTA	0.996

*Tukey çoklu karşılaştırma testi

4.1.2.2. Total Oksidan Kapasite (TOS) 72. Saat Sonuçları:

TOS testi 72. saat değişkeni için tanımlayıcı istatistikler Tablo 4.7’de özetlenmiş, çoklu karşılaştırmalar ise Tablo 4.8 ‘de gösterilmiştir. Grafikler halinde ise Şekil 4.4’te sunulmuştur. Veriler hidrojen peroksit seviyesine göre hesaplanmıştır. En düşük total oksidan kapasite kontrol grubunda tespit edilmiştir. En yüksek total oksidan kapasite ise Dycal kuafaj materyalinde hesaplanmıştır. Kontrol grubu $2,73 \pm 0,12$ H₂O₂ equi mmol/L⁻¹ Angelus MTA $3,01 \pm 0,18$ H₂O₂ equi mmol/L⁻¹, Angelus MTA+%0.1 GNP $3,85 \pm 0,19$ H₂O₂ equi mmol/L⁻¹, Angelus MTA+%0.3 GNP $4,42 \pm 0,29$ H₂O₂ equi mmol/L⁻¹, Dycal ise $5,21 \pm 0,41$ H₂O₂ equi mmol/L⁻¹ olarak bulunmuştur.

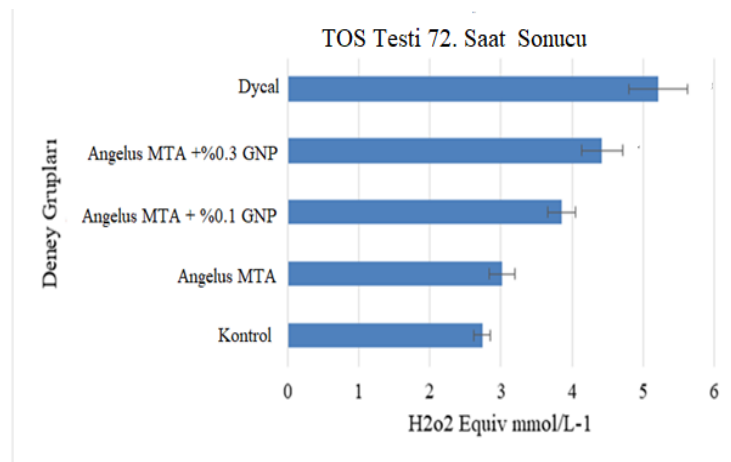
Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda Dycal ve Angelus MTA+%0.3 GNP grubu ile kontrol grubu arasında yüksek düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0.001). Angelus MTA’da ve Angelus MTA+%0.1 GNP eklenen grupta ise oksidan kapasite artış göstermiş; ancak kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (p>0.05) (Tablo 4.8).

Tablo 4.7. TOS testi 72. Saat sonuçları

TOS	n Değeri	Ortalama	StD
72 saat*	kontrol	3	2,73 ± 0,12
	Angelus MTA	3	3,01 ± 0,18
	Angelus MTA+%0.1 GNP	3	3,85 ± 0,19
	Angelus MTA+%0.3 GNP	3	4,42 ± 0,29
	Dycal	3	5,21 ± 0,41

Veriler ortalama ± standart sapma ile verilmiştir.

*Tek yönlü varyans analizi



Şekil 4.4. Kuafaj materyallerinin 72. saatte oluşturdukları total oksidan kapasite

Tablo 4.8. 72. Saat TOS analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar

Örnek 1-Örnek 2	p Değeri*
Dycal - Angelus MTA +%0.3 GNP	0.655
Dycal - Angelus MTA+%0.1 GNP	0.001
Dycal - Angelus MTA	0.001
Dycal - Kontrol Grubu	0.001
Angelus MTA + %0.3 GNP - Angelus MTA+%0.1 GNP	0.48
Angelus MTA +%0.3 GNP- Angelus MTA	0.002
Angelus MTA +%0.3 GNP - Kontrol Grubu	0.001
Angelus MTA+%0.1 GNP - Angelus MTA	0.85
Angelus MTA+%0.1 GNP - Kontrol Grubu	0.556
Kontrol Grubu- Angelus MTA	1

*Tukey çoklu karşılaştırma testi

4.1.3. Total Antioksidan Kapasite (TAS) Analizi Sonuçları

4.1.3.1. Total Antioksidan Kapasite 24. Saat Sonuçları

TAS testi 24. saat değişkeni için tanımlayıcı istatistikler Tablo 4.9’da özetlenmiş, çoklu karşılaştırmalar ise Tablo 4.10’da gösterilmiştir. Grafikler halinde ise Şekil 4.5’te sunulmuştur. Veriler trolox equiv mmol/L⁻¹ cinsinden hesaplanmıştır. En yüksek total antioksidan kapasite kontrol grubunda tespit edilmiştir. En düşük total antioksidan kapasite ise Dycal kuafaj materyalinde hesaplanmıştır. Kontrol grubu 4,35±0.012 trolox equiv mmol /L⁻¹, Angelus MTA 3,68±0.011 trolox equiv mmol/L⁻¹, Angelus MTA +%0.1 GNP 3,48±0.009 trolox equiv mmol/L⁻¹, Angelus MTA %0.3 GNP 2,96±0.014 trolox equiv mmol/L⁻¹, Dycal ise 2,07±0.015 trolox equiv mmol/L⁻¹ olarak bulunmuştur.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda Angelus MTA+%0.3 GNP ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (p=0.013). Dycal grubu ile kontrol grubu arasında ise yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p=0.001). Ancak Angelus MTA ve Angelus MTA+%0.1 GNP ile kontrol grupları arasına istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (p>0.05) (Tablo 4.10) .

Tablo 4.9. TAS testi 24. saat sonuçları

TAS	n	Değeri	Ortalama	±	StD
24 saat*	kontrol	3	4.35	±	0.012
	Angelus MTA	3	3.68	±	0.011
	Angelus MTA+%0.1 grafen	3	3.48	±	0.009
	Angelus MTA+%0.3 grafen	3	2.96	±	0.014
	Dycal	3	2.07	±	0.015

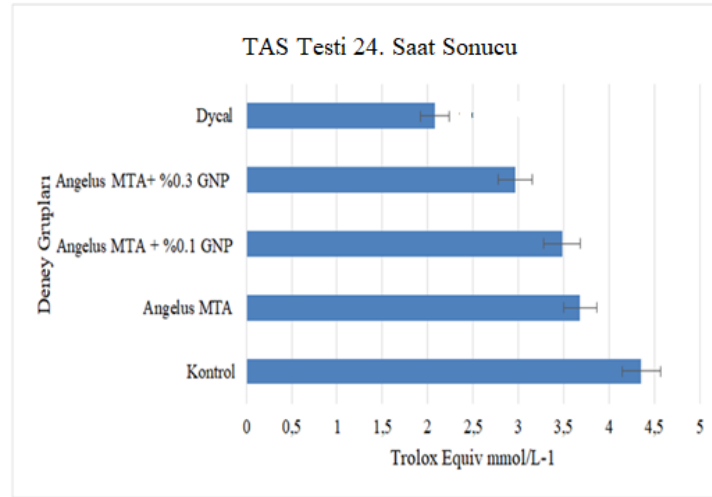
Veriler ortalama ± standart sapma ile verilmiştir.

*Tek yönlü varyans analizi

Tablo 4.10. 24. Saat TAS analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar

Örnek 1-Örnek 2	p Değeri*
Dycal - Angelus MTA +%0.3 GNP	0.887
Dycal - Angelus MTA+%0.1 GNP	0.123
Dycal - Angelus MTA	0.073
Dycal - Kontrol Grubu	0.001
Angelus MTA + %0.3 GNP - Angelus MTA+%0.1 GNP	0.832
Angelus MTA +%0.3 GNP- Angelus MTA	0.685
Angelus MTA +%0.3 GNP - Kontrol Grubu	0.013
Angelus MTA+%0.1 GNP - Angelus MTA	1
Angelus MTA+%0.1 GNP - Kontrol Grubu	0.292
Kontrol Grubu- Angelus MTA	0.43

*Tukey çoklu karşılaştırma testi



Şekil 4.5. Kuafaj materyallerinin 24. saatte oluşturdukları total antioksidan kapasite

4.1.3.2. Total Antioksidan Kapasite 72. Saat Sonuçları

TAS testi 72. saat değişkeni için tanımlayıcı istatistikler Tablo 4.11’de özetlenmiş, çoklu karşılaştırmalar ise Tablo 4.12 ‘de gösterilmiştir. Grafikler halinde

ise Şekil 4.6’da sunulmuştur. Veriler trolox equiv mmol/L⁻¹ cinsinden hesaplanmıştır. En yüksek total antioksidan kapasite kontrol grubunda tespit edilmiştir. En düşük total antioksidan kapasite ise Dycal kuafaj materyalinde hesaplanmıştır. Kontrol grubu 3,7±0.012 trolox equiv mmol/L⁻¹, Angelus MTA 3,54±0.018 trolox equiv mmol/L⁻¹, Angelus MTA +%0.1 GNP 3,02±0.009 trolox equiv mmol/L⁻¹, Angelus MTA %0.3 GNP 2,72±0.011 trolox equiv mmol/L⁻¹, Dycal ise 2,29±0.008 trolox equiv mmol/L⁻¹ olarak bulunmuştur.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda Angelus MTA+%0.3 GNP ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (p=0.028). Dycal grubu ile kontrol grubu arasında ise yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p=0.001). Ancak Angelus MTA ve Angelus MTA+%0.1 GNP ile kontrol grupları arasına istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (p>0.05) (Tablo 4.12).

Tablo 4.11. TAS testi 72. saat sonuçları

TAS	n	Değeri	Ortalama	±	StD
72 saat*	kontrol	3	3.7	±	0.012
	Angelus MTA	3	3.54	±	0.018
	Angelus MTA+%0.1 grafen	3	3.02	±	0.009
	Angelus MTA+%0.3 grafen	3	2.72	±	0.011
	Dycal	3	2.29	±	0.008

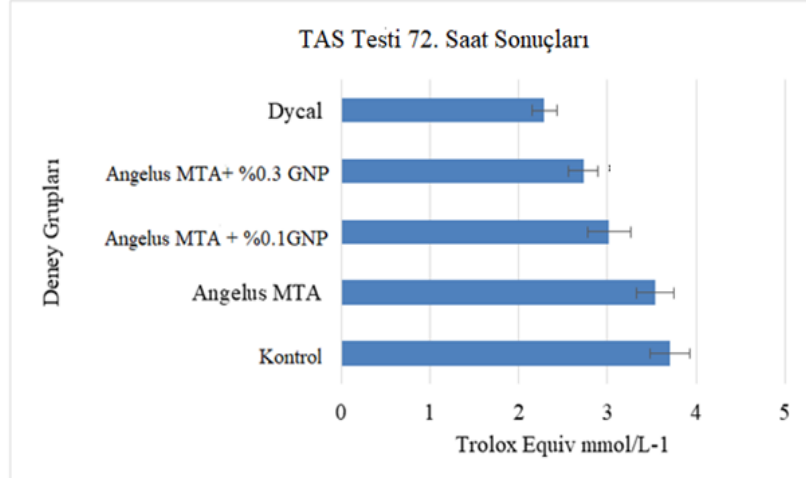
Veriler ortalama ± standart sapma ile verilmiştir.

*Tek yönlü varyans analizi

Tablo 4.12. 72. Saat TAS analizinde gruplar arası ikili karşılaştırmalar

Örnek 1-Örnek 2	p Değeri*
Dycal - Angelus MTA +%0.3 GNP	0.706
Dycal - Angelus MTA+%0.1 GNP	0.148
Dycal - Angelus MTA	0.37
Dycal - Kontrol Grubu	0.001
Angelus MTA + %0.3 GNP - Angelus MTA+%0.1 GNP	0.974
Angelus MTA +%0.3 GNP- Angelus MTA	0.696
Angelus MTA +%0.3 GNP - Kontrol Grubu	0.028
Angelus MTA+%0.1 GNP - Angelus MTA	0.999
Angelus MTA+%0.1 GNP - Kontrol Grubu	0.246
Kontrol Grubu- Angelus MTA	0.630

*Tukey çoklu karşılaştırma testi



Şekil 4.6. Kuafaj materyallerinin 72. Saatte oluşturdukları total antioksidan kapasite

4.2. Mikrosertlik

Mikrosertlik testi değişkeni için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuş ($p < 0.001$) ve buna ilişkin tanımlayıcı istatistikler Tablo 4.13'te özetlenmiştir. Çoklu karşılaştırmalar ise Tablo 4.14 'te gösterilmiştir. Buna göre Angelus MTA 63 (49.1-75) HV, Angelus MTA+%0.1 GNP 135 (93.7-220) HV, Angelus MTA+%0.3 GNP 205 (127-608) HV, Dycal ise 18,4 (17-20.3) HV olarak bulunmuştur. Mikrosertliği en düşük bulunan materyal Dycal en yüksek bulunan materyal ise Angelus MTA'ya %0.3 GNP katkılanmış örnekte olmuştur. %0.1 GNP katkılanmış örnekte ise Angelus MTA'ya göre daha yüksek mikrosertlik değeri elde edilmiştir (Şekil 4.7).

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (Tablo 4.14). Buna göre Angelus MTA-Angelus MTA+%0.3 GNP arasında çok yüksek düzeyde anlamlı farklılık ($p < 0.001$), Angelus MTA-Angelus MTA+%0.1 GNP arasında yüksek düzeyde anlamlı farklılık ($p = 0.001$), Angelus MTA+%0.1-GNP-Angelus MTA+%0.3 GNP arasında anlamlı farklılık ($p = 0.015$), Angelus MTA-Dycal arasında yüksek düzeyde anlamlı farklılık ($p = 0.01$), Angelus MTA+%0.1 GNP-Dycal ve Angelus MTA+%0.3 GNP-Dycal arasında ise çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p < 0.001$) bulunmuştur.

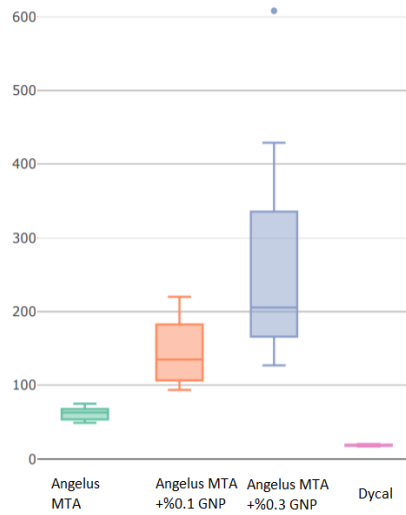
Tablo 4.13. Mikrosertlik testinde elde edilen değerler

Gruplar	n	Minimum	Ortanca	Maksimum	p değeri
Angelus MTA	1	49.1	63	75	<0.001*
Angelus MTA+%0.1 GNP	1	93.7	135	220	
Angelus MTA+%0.3 GNP	1	127	205.5	608	
Dycal	1	17	18.4	20.3	

*Kruskal-Wallis testi

Tablo 4.14. Mikrosertlik değerleri gruplar arası ikili karşılaştırmalar

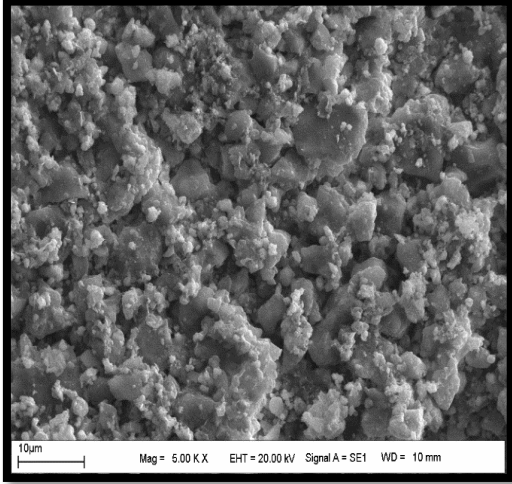
İkili Karşılaştırmalar	Conover test istatistiği	p değeri	İstatistiksel anlamlılık
Angelus MTA-Angelus MTA+%0.1 GNP	-3.637	0.002	Evet
Angelus MTA-Angelus MTA+%0.3 GNP	-6.699	<0.001	Evet
Angelus MTA+%0.1-GNP-Angelus MTA+%0.3 GNP	-2.664	0.015	Evet
Angelus MTA-Dycal	2.841	0.01	Evet
Angelus MTA+%0.1 GNP-Dycal	6.479	<0.001	Evet
Angelus MTA+%0.3 GNP-Dycal	9.851	<0.001	Evet



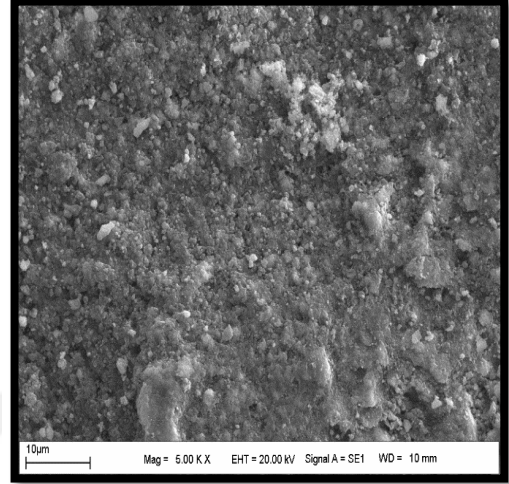
Şekil 4.7. Mikrosertliğin gruplara göre dağılım grafiği

4.3. Taramalı Elektron Mikroskopu Analizi (SEM)

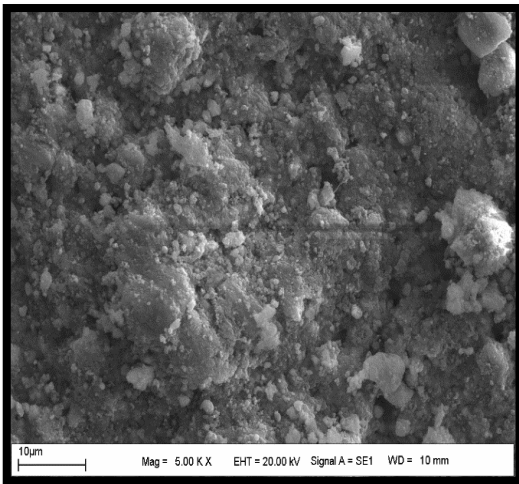
Hazırlanan örneklerin yüzey oluşumlarının 20.00 kV büyütmedeki görüntüleri Şekil 4.8'deki gibidir.



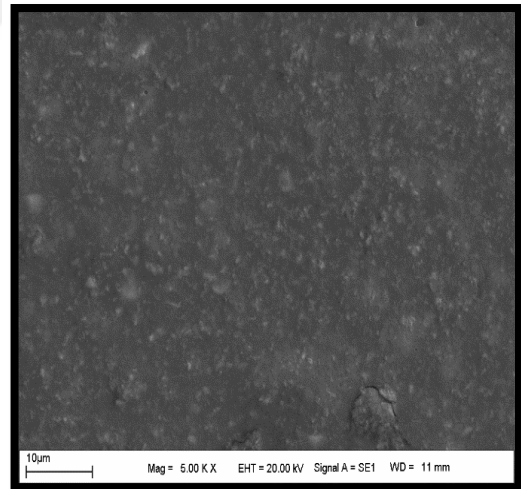
a. Angelus MTA'ya ait
SEM görüntüleri



b. Angelus MTA+0.1 GNP'ye ait
SEM görüntüleri



c. Angelus MTA+0.3 GNP'ye ait
SEM görüntüleri



d. Dycal'a ait SEM görüntüleri

Şekil 4.8. Deney gruplarına ait SEM görüntüleri

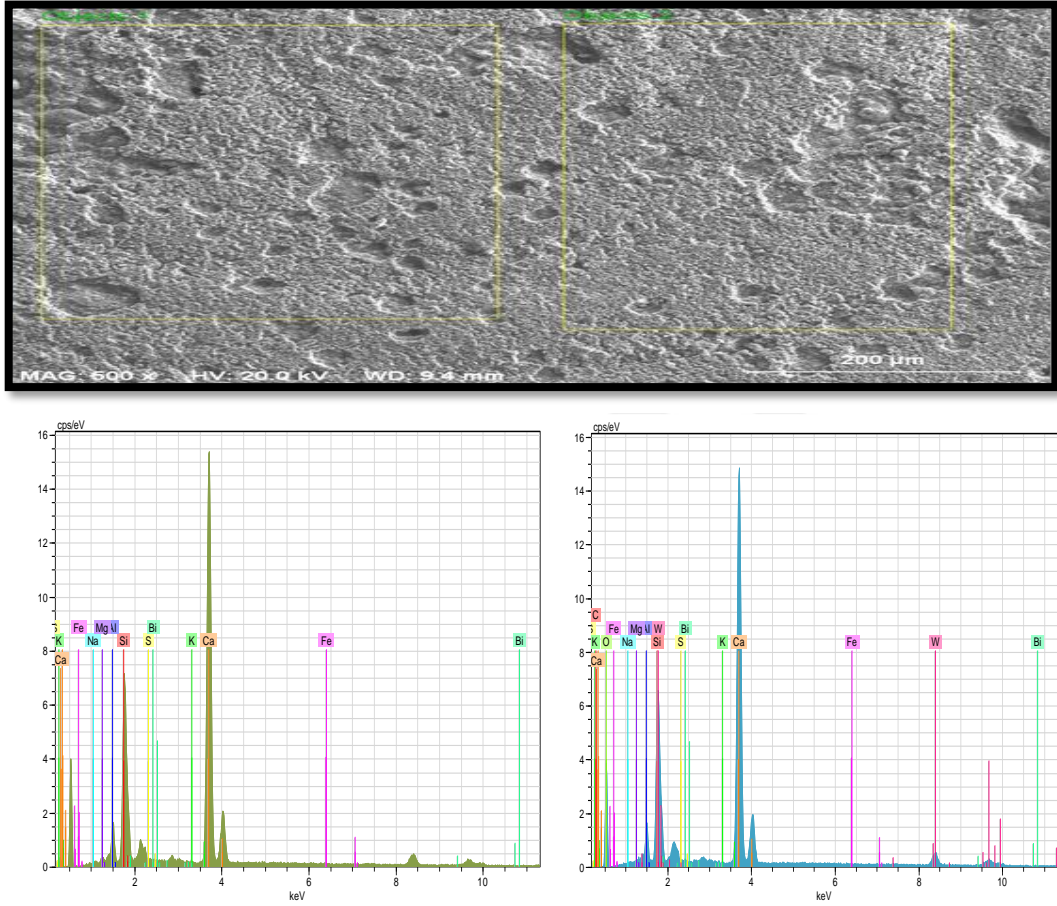
SEM görüntüleri incelendiğinde saf materyal olan Angelus MTA'nın boşluklu bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. GNP katkılama miktarı arttıkça tanecik boyutlarının ve boşluklu yapının azalmaya başladığı gözlemlenmektedir. Şekil 4.d'de (Dycal) ise yüzeyde herhangi bir boşluklu yapı olmadığı görülmektedir.

4.4. Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX) Analizi Sonuçları

Örneklerden alınan SEM görüntüsünden seçilen iki bölge üzerinden sonuçlar elde edilmiştir.

4.4.1. Angelus MTA

Angelus MTA'ya ait EDX analizi sonuçları Şekil 4.9 ve Tablo 4.15'te gösterilmektedir.



Şekil 4.9. Angelus MTA'ya ait SEM görüntüsünden elde edilen EDX grafikleri

Tablo 4.15. Angelus MTA EDX analizi sonuçları

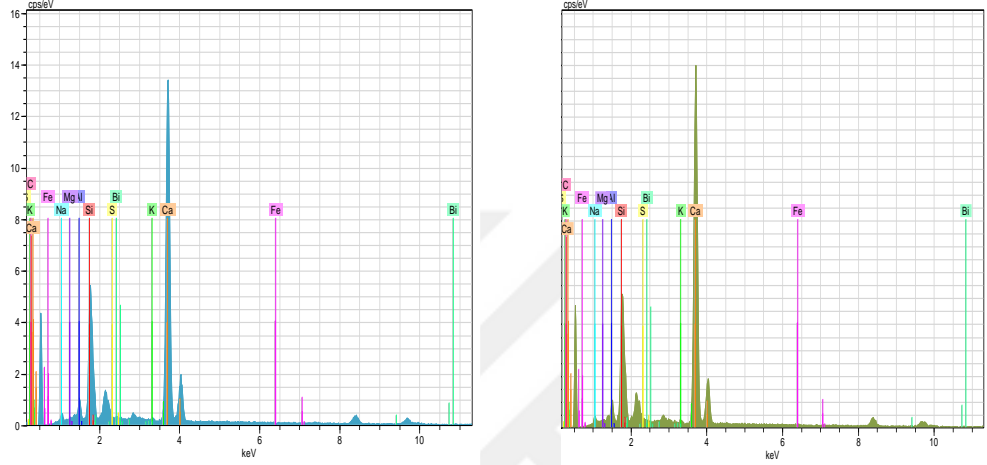
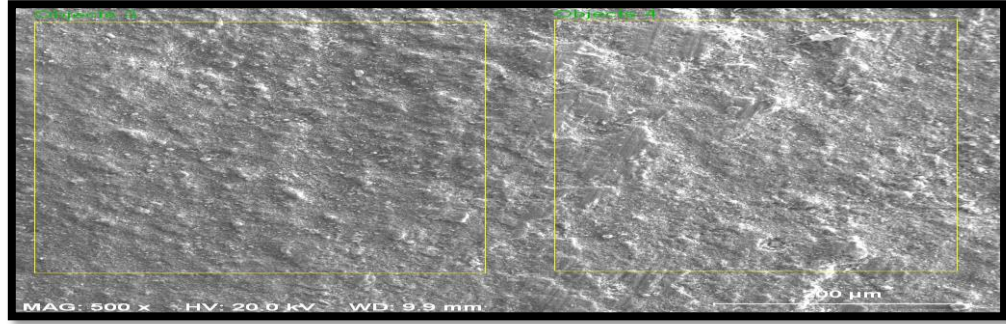
Spektrum: 1. bölge				Spektrum: 2. Bölge			
	C Atom		C Error		C Atom		C Error
	[at.-%]		[%]		[at.-%]		[%]
Ca	34.26	±	0.8	Ca	35.06	±	0.8
C	50.08	±	5.8	C	48.41	±	4.9
Si	13.56	±	0.3	Si	14.26	±	0.3
Bi	0.31	±	0.1	Bi	0.32	±	0.1
Al	1.42	±	0.1	Al	1.50	±	0.1
Fe	0.36	±	0.0	Fe	0.43	±	0.1
K	0.00	±	0.0	K	0.00	±	0.0
Na	0.00	±	0.0	Na	0.00	±	0.0
S	0.00	±	0.0	Mg	0.00	±	0.0
Mg	0.00	±	0.0	S	0.00	±	0.0
Toplam:	100.00			Toplam:	100.00		

Veriler ortalama ± standart sapma ile verilmiştir.

Angelus MTA EDX analizine göre 1. bölgede %34.26±0.8 oranında Ca, %50.08 ±5.8 oranında C, %13.56±0.3 Si, %0.31±0.1 Bi, Al %1.42±0.1, Fe 0.36±0.0, bulunmuş olup K, Na, Mg ve S a rastlanmamıştır. 2. bölgede ise Ca %35.06±0.8, C %48.41±4.9, Si %14.26±0.3 ,Bi %0.32±0.1, Al %1.50±0.1, Fe %0.43±0 iken 1. bölgedeki gibi K, Na, Mg ve S e rastlanmamıştır.

4.4.2. Angelus MTA+%0.1 GNP

Angelus MTA+%0.1 GNP'ye ait EDX analizi sonuçları Şekil 4.10 ve Tablo 4.16'da gösterilmektedir.



Şekil 4.10. Angelus MTA+%0.1 GNP ye ait SEM görüntüsünden elde edilen EDX grafikleri

Tablo 4.16. Angelus MTA+%0.1 GNP'ye ait EDX analizi sonuçları

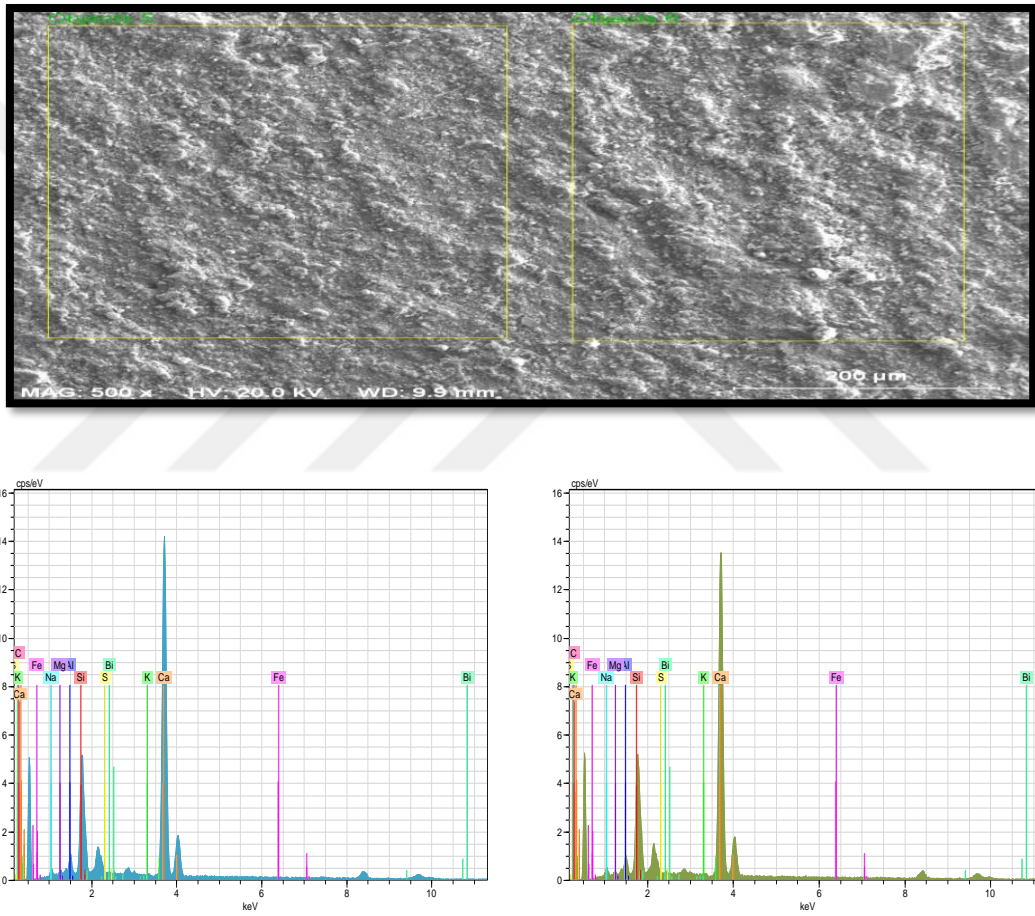
Spektrum: 1. Bölge			Spektrum: 2. Bölge		
	C Atom	C Error		C Atom	C Error
	[at.-%]	[%]		[at.-%]	[%]
Ca	24.69	± 0.7	Ca	23.22	± 0.6
C	65.65	± 4.8	C	67.76	± 4.7
Si	8.33	± 0.2	Si	8.33	± 0.2
Bi	0.48	± 0.1	Bi	0.41	± 0.1
Fe	0.32	± 0.0	Fe	0.27	± 0.0
Al	0.41	± 0.0	Al	0.42	± 0.0
Na	0.11	± 0.0	Na	0.05	± 0.0
Mg	0.00	± 0.0	K	0.01	± 0.0
K	0.00	± 0.0	Mg	0.00	± 0.0
S	0.00	± 0.0	S	0.00	± 0.0
Toplam	100.00		Toplam	100.00	

Veriler ortalama ± standart sapma ile verilmiştir.

Angelus MTA +%0.1 GNP EDX analizine göre; 1.bölgede Ca %24,69±0.7, C %65.65±4.8, Si %8.33±0.2, Bi %0.48±0.1, Fe % 0.32±0.0, Al %0.41±0.0, Na 0.11 ±0.0 bulunurken Mg, K, S ye ise rastlanmamıştır. 2.bölgede ise Ca %23.22±0.6, C %67.76±4.7, Si %8.33±0.2, Bi %0.41±0.1, Fe %0.27±0.0, Al %0.42±0.0, Na %0.05±0.0, K %0.01±0.0 bulunurken Mg ve S ye rastlanmamıştır.

4.4.3 Angelus MTA +%0.3 GNP

Angelus MTA+%0.3 GNP'ye ait EDX analizi sonuçları Şekil 4.11 ve Tablo 4.17'de gösterilmektedir.



Şekil 4.11. Angelus MTA+%0.3GNP ye ait SEM görüntüsünden elde edilen EDX grafikleri

Tablo 4.17. Angelus MTA+%0.3 GNP'ye ait EDX analizi sonuçları

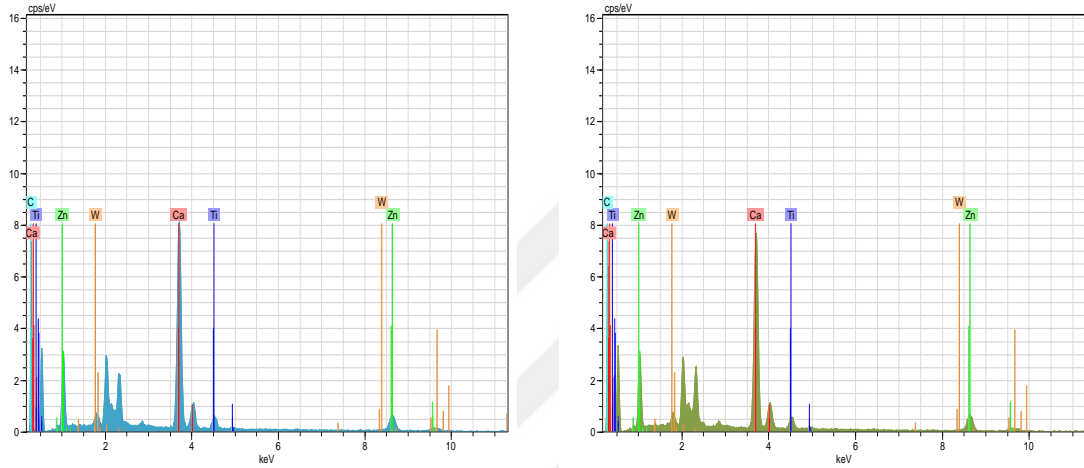
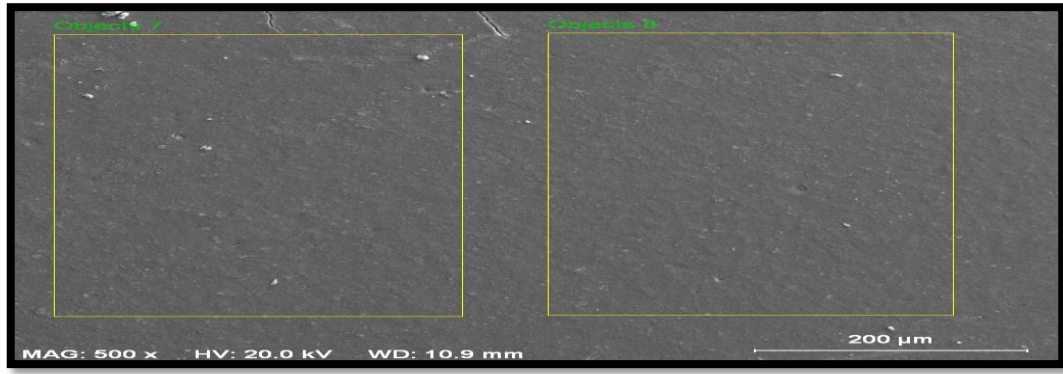
Spektrum: 1. Bölge			Spektrum: 2. Bölge		
	C Atom	C Error		C Atom	C Error
	[at.-%]	[%]		[at.-%]	[%]
Ca	22.51	± 0.7	Ca	23.16	± 0.7
C	69.60	± 4.6	C	67.95	± 4.7
Si	6.76	± 0.2	Si	7.62	± 0.2
Bi	0.39	± 0.1	Bi	0.42	± 0.1
Fe	0.28	± 0.0	Fe	0.30	± 0.0
Al	0.37	± 0.0	Al	0.39	± 0.0
Na	0.09	± 0.0	Na	0.15	± 0.0
K	0.00	± 0.0	Mg	0.01	± 0.0
Mg	0.00	± 0.0	K	0.00	± 0.0
S	0.00	± 0.0	S	0.00	± 0.0
Toplam:	100.00		Toplam:	100.00	

Veriler ortalama ± standart sapma ile verilmiştir.

Angelus MTA +%0.3 GNP EDX analizine göre; 1.bölgede %22.51±0.7 Ca, %69.60±4.6 C, %6.76±0.2 Si, %0.39±0.1 Bi, %0.28±0.0 Fe, %0.37±0.0 Al, %0.09±0.0 Na bulunurken K, Mg ve S e rastlanmamıştır. 2. bölgede ise %23.26±0.7 Ca, %67.95±4.7 C, %7.62±0.2 Si, %0.42±0.1 Bi, %0.30±0.0 Fe, %0.39±0.0 Al, %0.15±0.0 Na bulunurken Mg, K ve S e rastlanmamıştır.

4.4.4. Dycal

Dycal'a ait EDX analizi sonuçları Şekil 4.12 ve Tablo 4.18'de gösterilmektedir.



Şekil 4.12. Dycal' ait SEM görüntülerinden elde edilen EDX grafiği

Tablo 4.18. Dycal'a ait EDX analizi sonuçları

Spektrum: 1. Bölge				Spektrum: 2. Bölge			
	C Atom		C Error		C Atom		C Error
	[at.-%]		[%]		[at.-%]		[%]
C	68.75	±	4.3	C	75.83	±	5.0
Ca	20.52	±	0.8	Ca	15.80	±	0.7
W	2.71	±	0.9	W	1.93	±	0.7
Zn	6.14	±	0.5	Zn	5.06	±	0.4
Ti	1.88	±	0.1	Ti	1.38	±	0.1
Total:	100.00			Total:	100.00		

Veriler ortalama ± standart sapma ile verilmiştir.

Dycal EDX analizine göre; 1.bölgede %68.75±4.3 C, %20.52±0.8 Ca, %2.71±0.9 W, %6.14±0.5 Zn,%1.88±0.1 Ti bulunmuştur. 2 bölgede ise % 75.83±5.0 C, %15.80 ±0.7Ca, %1.93±0.7 W, %5.06±0.4 Zn, %1.38±0.1 Ti bulunmuştur.

4.5. Tanecik Boyutu

Sem görüntülerinden elde edilen tanecik boyutu sonuçları için gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuş ($p = 0.001$) ve buna ilişkin tanımlayıcı istatistikler Tablo 4.19’da özetlenmiştir. Çoklu karşılaştırmalar ise Tablo 4.20 ‘de gösterilmiştir. Tane boyutları istatistiksel analizine göre bütün gruplar arasında çok yüksek oranda anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.001$). Angelus MTA’ya GNP ilavesi tane boyutunu küçültmüştür (Tablo 4.19). Dycal’ın ise SEM görüntülerinde tanecikler net görüntülenemediği için tanecik boyutu ölçülememiştir.

Tablo 4.19. Örneklerden elde edilen tanecik boyutu değerleri

Örnek	n	Tanecik Boyutu (μm)	p Değeri
Angelus MTA	164	0.93 ± 0.86	0.001*
Angelus MTA + %0.1 Gnp	154	0.52 ± 0.35	
Angelus MTA + %0.3 Gnp	153	0.39 ± 0.26	

Veriler ortalama \pm standart sapma ile verilmiştir.

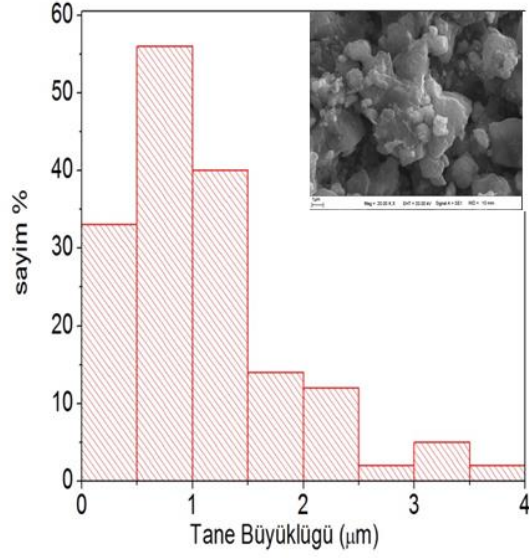
*Kruskal Wallis test

Tablo 4.20. Tane boyutları istatistiksel analizi

İkili Karşılaştırmalar	Conover test istatistiği	p değeri	İstatistiksel anlamlılık
Angelus MTA- Angelus MTA+%0.1 GNP	8.011	<0.001	Evet
Angelus MTA-Angelus MTA+%0.3 GNP	12.807	<0.001	Evet
Angelus MTA+%0.1 GNP- Angelus MTA+%0.3 GNP	4.749	<0.001	Evet

4.5.1. Angelus MTA Tanecik Boyutu

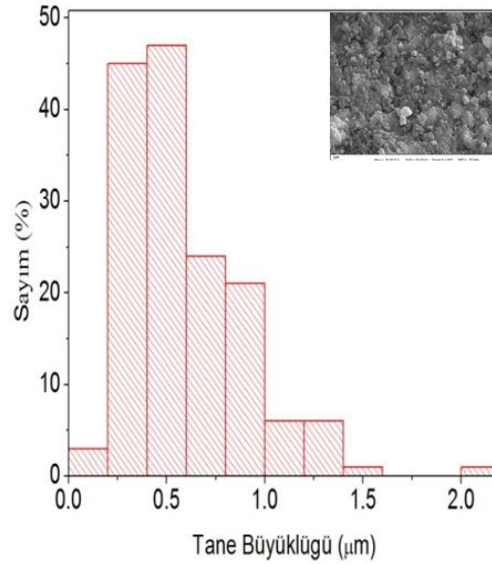
Angelus MTA ‘nın tane boyutu 0.93 ± 0.86 arasında değişmektedir. Ancak %34 civarında tanecik 0.5-1 mikrometre olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Angelus MTA'ya ait tanecik büyüklüğü grafiği ve SEM görüntüsü

4.5.2. Angelus MTA %0.1 GNP Tanecik Boyutu:

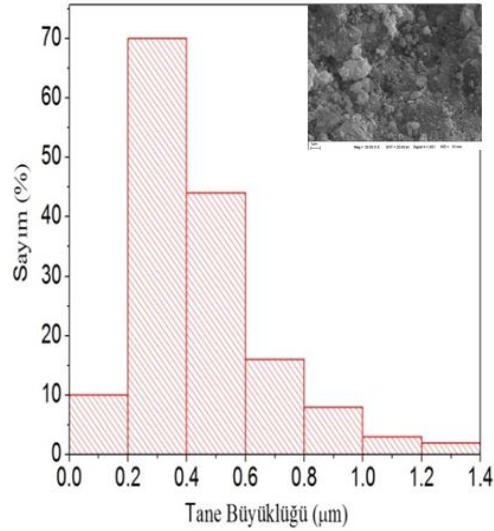
Angelus MTA+%0.1 GNP'nin tane boyutu ortalama 0.52 ± 0.35 mikrometre arasında değişmektedir. Ancak % 60 civarında tanecik 0.2-0.5 mikrometre olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Angelus MTA % 0.1 GNP'ye ait tanecik büyüklüğü grafiği ve SEM görüntüsü

4.5.3. Angelus MTA+%0.3 GNP Tanecik Boyutu

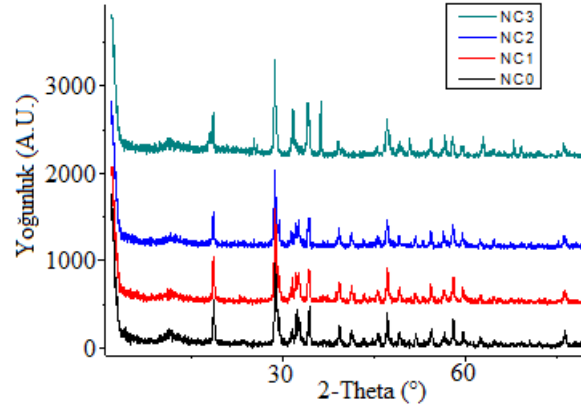
Angelus MTA+%0.3 GNP'nin tane boyutu 0.39 ± 0.26 mikrometre arasında değişmektedir. Ancak %46 civarında tane boyutu 0.2-0.4 mikrometre olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Angelus MTA+%0.3 GNP'ye ait tanecik boyutu ve SEM görüntüsü

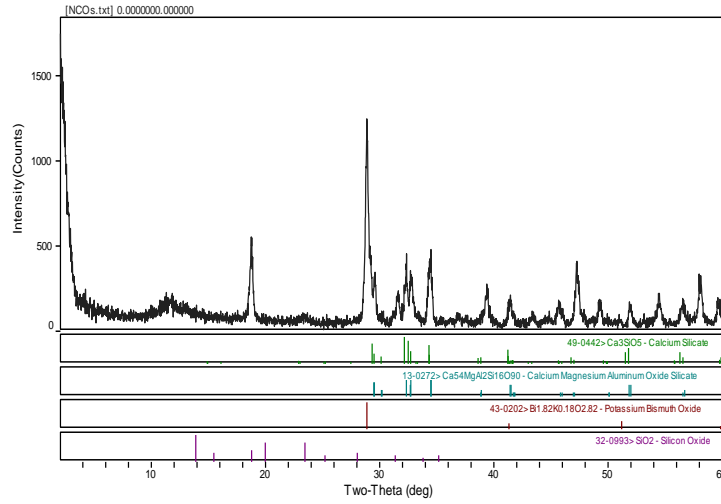
4.6. X Işını Kırınım Yöntemi (XRD) Analizi Sonuçları

XRD analizi sonuçları Şekil 4.16 te görülmektedir. Angelus MTA'ya ait faz analiz grafiği Şekil 4.15'te ve Dycal'a ait faz analiz grafiği ise Şekil 4.16'da gösterilmektedir. NC 0 Angelus MTA, NC 1 Angelus Mta+%0.1 GNP, NC 2 Angelus MTA+%0.3 GNP, NC 3 ise Dycal olarak kodlanmıştır. Şekil 4.16 incelendiğinde NC 1 olarak kodlanan Angelus MTA+%0.1 GNP ve NC 2 olarak kodlanan Angelus MTA+%0.3 GNP 'nin XRD analizinde vermiş olduğu piklerin NC 0 olarak kodlanan Angelus MTA ile benzer olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda GNP ilavesi XRD grafiğinde belirgin bir pik oluşturmamıştır.

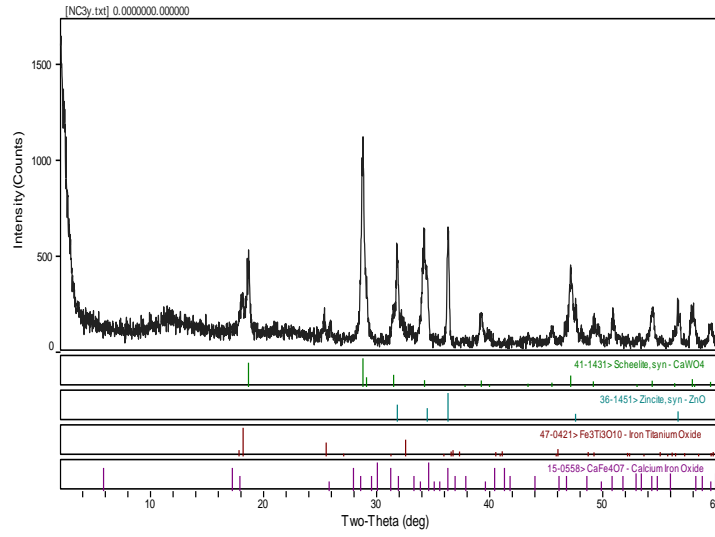


Şekil 4.16. Angelus MTA(NC 0), Angelus MTA +%0.1 GNP (NC 1), Angelus MTA +%0.3 GNP (NC 2),Dycal (NC 3) kırınım desenleri

Angelus MTA ve Dycal materyalleri bilinen materyallerdir. Angelus MTA'nın XRD kırınım deseni incelendiğinde piklerin trikalsiyum slika, kalsiyum magnezyum alimünyum oksit slika, potasyum bizmut oksit, slika oksitten kaynaklandığı bulunmuştur (Şekil 4.17). Dycal materyaline ait XRD kırınım deseni incelendiğinden ise piklerin kalsiyum tungstat, çinko oksit, demir titanyum oksit, kalsiyum demir oksitten kaynaklandığı görülmüştür (Şekil 4.18).



Şekil 4.17. NC 0 olarak kodlanan Angelus MTA faz analizi



Şekil 4.18. NC 3 olarak kodlanan Dycal materyalinin faz analizi

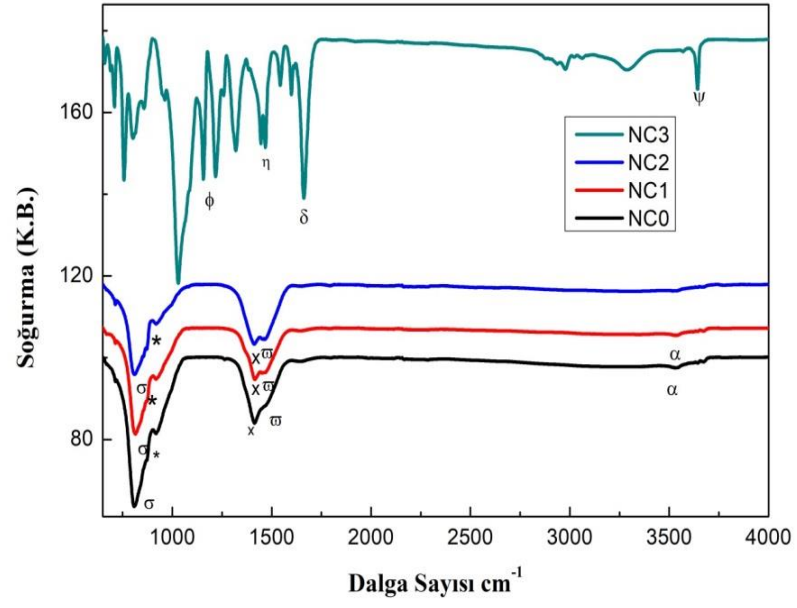
4.7. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektrofotometresi (FTIR) Analizi

Sonuçları

FTIR analizi grafiği Şekil 4.19'da gösterilmektedir. NC 0 Angelus MTA, NC 1 Angelus Mta+%0.1 GNP, NC 2 Angelus MTA+%0.3 GNP, NC 3 ise Dycal olarak kodlanmıştır. Grafik incelendiğinde NC 0 Angelus MTA, NC 1 Angelus Mta +%0.1 GNP, NC 2 Angelus MTA +%0.3 GNP 'nin FTIR analizinde benzer pikler yaptığı ve GNP ilavesinin belirgin bir fark yaratmadığı görülmüştür.

FTIR sonuçlarına göre Angelus MTA σ işareti ile gösterilen 810 cm^{-1} civarındaki pik Si-C (277) ,* işareti ile gösterilen 876cm^{-1} civarına denk gelen pik ise kalsiyum slika, x işareti ile gösterilen ve 1416cm^{-1} , ω işareti ile gösterilen ve 1460cm^{-1} civarına denk gelen gelen pikler ise kalsiyum karbonat, α işareti ile gösterilen 3543cm^{-1} civarı OH 'dan kaynaklanmaktadır (Şekil 4.19) (278).

NC3 kodlu örnek Dycal'a ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) karşılık gelmektedir ve ϕ işareti ile gösterilen ve 1156cm^{-1} civarına denk gelen pik CO-O, η işareti ile gösterilen ve 1464cm^{-1} civarındaki pik $\text{Ca}(\text{OH})_2$, δ işareti ile gösterilen ve 1654cm^{-1} civarındaki pik C=C, ψ işareti ile gösterilen 3648 cm^{-1} civarındaki pik OH'dan kaynaklanmaktadır (Şekil 4.19) (279).



Şekil 4.19. Örneklerin FTIR analizi sonuçları

5. TARTIŞMA

Direkt pulpa kuafajı, hem koruyucu bariyer (33, 280, 281) oluşumu hem de vital pulpanın korunmasını sağlamak için, bir diş materyalinin ekspoz alana yerleştirilmesini içeren bir tedavidir (282, 283). Pulpanın ölümünü önlemek için direkt pulpa kuafajı veya pulpotomi tedavisi uygulanır (284).

Klinik tedavide direkt pulpa kuafajı için en sık kullanılan materyal, 1921'de diş hekimliği mesleğine tanıtılan ve birkaç yıl boyunca direkt pulpa kuafajının “altın standardı” olarak kabul edilen Ca(OH)_2 'tir (5, 285). Bu ajanın kullanıldığı vakalarda pulpanın uzun yıllar sağlıklı kaldığı klinik olarak izlenebilir. Bununla birlikte, Ca(OH)_2 , pulpa kuafaj işleminden sonra pulpada yüzey iltihabı ve nekroz dahil bazı belirgin dezavantajlar sergiler. Bunlar; dentin köprüsünde tünel defektlerinin varlığı, mikrosızıntı nedeniyle tekrarlayan enfeksiyonlara karşı pulpaya hermetik bir sızdırmazlık sağlayamaması, oral sıvılarda yüksek çözünürlük, adezyon eksikliği ve zamanla bozulmadır (7, 19, 129, 286, 287). Ek olarak Ca(OH)_2 'in sadece kuru bir ortamda sertleşmesi ve zamanla çözünme göstermesi gibi dezavantajları da vardır (7). Ayrıca, tersiyer dentin oluşumu, materyalin biyoindükleyici kapasitesine bağlı olarak değil, Ca(OH)_2 'in irrite edici doğası ile indüklenen pulpa tarafından bir savunma mekanizması olarak ortaya çıkmaktadır (288, 289). Ca(OH)_2 'in yüksek pH (12.5)'i pulpada nekrotik bir tabaka oluşumu ile pulpada likefaksiyon (sıvılaşma) nekrozuna sebep olmaktadır (290).

Belirtilen dezavantajların bir sonucu olarak, son 20 yılda, Ca(OH)_2 'e alternatif olarak bir dizi yeni materyal test edilmiştir. Son zamanlarda, radyopasite için trikalsiyum silikat, dikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat ve bizmut oksitten oluşan mineral trioksit agregat (MTA), Ca(OH)_2 için popüler bir alternatif haline gelmiştir (291). Histolojik çalışmalar ve in vitro çalışmalar MTA'nın kimyasal ve fiziksel özellikleri, antibakteriyel etkinliği, biyouyumluluk ve sızdırmazlık özellikleri ile ilgili olumlu sonuçlar bildirmiştir (186, 292, 293).

Yapılan birçok çalışma MTA'nın Ca(OH)_2 'e göre kuafaj başarısını daha yüksek bulmuştur (294-296). Ancak iki materyalin benzer başarı gösterdiği çalışmalar da mevcuttur (297-299).

Günümüzde pulpanın fizyolojisi ile ilgili bilgilerin ilerlemesi ile pulpanın iyileşmesi için gerekli koşullar daha iyi anlaşılmaktadır. Başarılı bir direkt kuafaj özelliğini karakterize eden kriterler, araştırmalar arasında farklılık gösterir. Diş semptomlarından arınmışsa, duyarlılık testlerine yeterince tepki veriyorsa ve normal bir radyografik görünüme sahipse, pulpa kuafajının klinik olarak başarılı olduğu genellikle kabul edilir. Bununla birlikte, pulpa kuafajı ile tedavi edilen dişlerde uzun süreli prognozun değerlendirilmesi için klinik kriterler yetersizdir. İyileşmenin zorlaştığı dişlerde klinik olarak tanı koymak imkansızdır. Bu nedenle, pulpa kuafajı sonuçlarının kritik değerlendirmesi ancak histolojik olarak yapılabilir (300).

Angelus MTA (Angelus, Londrina, PR, Brezilya) biyoaktif, biyouyumlu ve kendiliğinden sertleşen hidrofilik kalsiyum silikat simandır (186, 292, 301). Direkt pulpa kuafajında başarıyla kullanılmaktadır (10, 153). Bizim çalışmamızda da bu avantajlarından dolayı Angelus MTA kullanılmıştır.

Grafen bazlı materyaller, kök hücrelerin osteojenik kökenlere adezyonu, çoğalması ve farklılaşması için bir ortam sağlayabilen yeni nesil biyolojik olarak aktif nano-materyaller olarak önerilmiştir (302). Farklı karbon allotropları arasında grafen, biyomedikal bilimlerde ve biyoteknolojide uygulanmaya başlanan yeni ve potansiyel olarak faydalı bir nano-materyaldir. Grafen materyalleri, biyosensörler, doku mühendisliği gibi çeşitli biyomedikal uygulamalar için araştırılmıştır (303). Grafen, istisnai elektron taşınımı, fizikokimyasal ve mekanik özellikleri ve yüksek yüzey alanı nedeniyle muazzam bir bilimsel ilgi konusu olarak ortaya çıkmıştır. Test edilen hücre tiplerinden, hücrelerin, grafen filmlerde kültürlendiğinde, hücrelerin bir SiO₂ substratı üzerinde kültürlendiğinden daha iyi adezyon sağladığı ve çoğaldığı tespit edilmiştir (304).

Grafen ve kimyasal türevlerinin kemik rejenerasyonu için kullanılan materyallere dahil edilmesi, hem biyomineralizasyonu hem de hücresel osteojenik farklılaşmayı uyararak osteokondüktiviteyi artırabilir. Örneğin, grafen ve bir grafen türevi olan grafen oksitle karıştırılmış kalsiyum karbonat (CaCO)₃ gibi biyo-mineraller biyo-mineralizasyonu artırabilir (305).

Bazı çalışmalar, karbon bazlı materyallerin eklenmesiyle kalsiyum silikat simanların mekanik özelliklerinin ve hücre uyumluluğunun önemli ölçüde geliştiğini göstermiştir (306-308). Hem grafenin osteojenik farklılaşmayı indüklemesi hem de bir

kalsiyum slika siman olan Angelus MTA'nın özelliklerini geliştirebilmek amacıyla biz de kullandığımız Angelus MTA'ya %0.1 ve %0.3 oranlarında GNP ekleyerek deneysel olarak kuafaj materyalleri geliştirdik.

Grafen kullanımıyla ilgili diş hekimliğinde çok fazla araştırmaya rastlanmamaktadır. Ancak insan diş pulpası kök hücreleri (DPSC) kullanılarak yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Seonwoo ve ark. (309) DPSC'yi farklılaştırılarak nörojenik hastalıklarda kullanılabilme ihtimali üzerine bir çalışma yapmıştır. Elektropun nanofiberler (NF'ler) nörojenik farklılaşma yetenekleri olan materyallerdir. Bu çalışmada, rGO (indirgenmiş grafen oksit) polikaprolakton (PCL) hibrit elektropun NF'leri geliştirilmiş ve DPSC'lerin nörojenez için uygulanmıştır. Bulgulara göre, rGO-PCL-NF'leri DPSC nörojenezini arttırmış ve nörodejeneratif ve nörodefektif hastalıklarda rejenerasyona yardımcı olacak yararlı bir araç olabileceğini göstermiştir. Yapılan başka bir çalışmada (226) ise DPSC, grafen ve cam iyonmer üzerine ekilmiştir. Hücreler, 28 gün boyunca kültür ortamında tutulmuştur. DPSC'nin tüm substratlardaki mineralizasyonu ve farklılaşması 14 ve 28 gün sonra alizarin kırmızısı ile boyama, qPCR, immüno Floresan ve FACS yöntemleri ile değerlendirilmiştir. 14 ve 28 gün sonra grafen cam iyonmere kıyasla daha yüksek seviyelerde mineralizasyona neden olmuştur. Grafen, osteojenik olup, osteogenez için kimyasal indükleyici kullanılmadan DPSC'nin odontoblastik olmayan farklılaşmasını indüklemiştir. Bu iki çalışmada grafen türevi materyallerin dental pulpa kök hücrelerinin nörojenezini arttırdığı ve mineralizasyon kabiliyeti olduğunu göstermiş olup grafen türevlerinin potansiyel bir kuafaj ajanı olarak kullanılabilme ihtimalini düşündürmüştür. Bizim çalışmamızda GNP ile geliştirilmiş deneysel kuafaj ajanlarının sitotoksitesisi değerlendirilmiştir.

Günümüzde kullanılmakta olan kuafaj materyallerinin bazı dezavantajlarından dolayı kuafaj tedavilerinde başarı sağlanamayan durumlar meydana gelebilmektedir. İdeal bir pulpa kuafaj materyali dişe yeterli adezyon göstermeli, düşük sızdırmazlık sağlamalı, doku sıvılarında çözünmemeli, boyutsal olarak stabil kalmalı, toksik olmamalı, kanserojen olmamalı, biyolojik olarak uygunluk ve biyoaktivite sergilemelidir. Ne yazık ki şu anda mevcut olan biyomateryallerin hiçbiri ideal bir vital pulpa tedavisinin tüm gereksinimlerini karşılayamamıştır (310).

Araştırmamızda doku mühendisliğinde ve hayvan çalışmalarında sınırlı sayıda çalışmada denenmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiş olan grafen materyalinin bir türevi

olan GNP (grafen nanoplatelet), kuafaj tedavisinde kullanılan Angelus MTA ile karıştırılarak deneysel kuafaj materyali oluşturulmuştur. Elde edilen materyal örneklerinin biyolojik etkileri güncel deney yöntemlerinden olan hücre kültürü çalışmaları ile in vitro olarak test edilmiştir. Yapılan diğer in vitro deneylerle de MTA'ya ek materyaller katıldığında fiziksel ve mekaniksel olarak nasıl etkilendiği test edilmiştir. Çünkü pulpa kuafajında kullanılan materyallerin fiziksel ve mekaniksel olarak da uygunluğu kuafajın başarısını etkilemektedir.

5.1. MTT Bulgularının Tartışılması

Biyouyumluluk, belirli klinik prosedürler için materyal seçerken en önemli gereksinimlerden biridir. İn vitro biyouyumluluk testleri, belirli materyallere maruz kaldığında, dokunun biyolojik reaksiyonunu değerlendirir. İn vitro çalışmalardan beklenenler; düşük maliyetli olması, kontrollü deneysel koşullar sağlayarak ve hayvan veya klinik çalışmalar yaparken beklenmedik sonuçları önleyerek yeni materyallere dokununun verdiği tepkinin hızlı bir şekilde anlaşılmasını sağlamaktır (311, 312). Hücre kültürü, dental materyallerin biyouyumluluğunu gözden geçirmek için en çok kullanılan biyolojik sistemlerdir (313). Ancak in vitro ortamın, organizmada bulunan immün sistem, inflamatuvar sistem ve dolaşım sistemi gibi karmaşık koordinasyon mekanizmalarına sahip olamaması nedeniyle in vivo ortamı simüle edememe gibi dezavantajı vardır (312, 314).

Kök hücreler, insan vücudundaki çeşitli doku ve organların kendi kendine onarımı için özel türlere farklılaşma yetenekleri ile ayırt edilebilen benzersiz bir hücre sınıfıdır (315). Bazı çalışmalar, dişeti fibroblastlarının, odontoblast, endotel hücreleri ve immün hücreler ile aynı şekilde çeşitli uyarılara cevap olarak birçok tipte sitokin salgılayabileceğini göstermiştir (316, 317). Bizim çalışmamızda bu nedenle gingival fibroblast hücreleri kullanılmıştır.

Sitotoksiste, MTT bazlı bir kolorimetrik analiz kullanılarak belirlenebilir. Bu analiz, sadece sitotoksiste, proliferasyon veya aktivasyon ölçümüne izin veren canlı hücreleri tespit eder (318). Bizim çalışmamızda da Angelus MTA, Angelus MTA+%0.1 GNP, Angelus MTA+%0.3 GNP ve Dycal materyallerinin biyouyumluluğunun değerlendirilmesinde MTT analiz yöntemi kullanılmıştır.

Pulpa kuafaj materyalleri uzun süre pulpa dokusu ile doğrudan temas halinde olacağından, bu materyallerin biyouyumlulukları özel bir öneme sahiptir. Dental

materyallerin biyouyumluluğunun belirlenmesi için birkaç yöntem önerilmiştir; ancak in vitro hücrel reaksiyonların analizi genellikle ilk yaklaşım olarak kabul edilmektedir (312). Bu yaklaşım bir materyalin temel biyolojik karakterizasyonunun ve materyalin etkileşimde olduğu hücrel mekanizmanın analizine izin verir (319). Pulpa kuafaj materyalleri, ekspozite olan minimal dokuyu kaplayarak pulpa dokusu canlılığını koruyan bir bariyer görevi görmelidir. Bu nedenle, kullanılan materyal uygun bir konakçı tepkisi sağlamalıdır. Bu; materyallerle temas eden dokuların herhangi bir toksik, tahriş edici, enflamatuvar, alerjik, genotoksik veya kanserojen eylem göstermemesi anlamına gelmektedir (320).

Yaptığımız çalışmada MTT analizi 24 ve 72 saatlik olarak değerlendirilmiştir. Angelus MTA'ya % 0.1 ve % 0.3 oranlarda eklenen GNP materyali doza bağlı olarak artan sitotoksisite göstermiştir. 24 ve 72 saatlik MTT analizinde Angelus MTA ve Angelus MTA+%0.1 GNP grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gözlemlenmemiş; ancak hücre canlılığı azalmıştır ($p>0.05$). Angelus MTA+%0.3 GNP grubunda ise 24 saat ve 72 saatlik MTT analizinde kontrol grubu ile anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). Dycal grubunda ise 24 saatlik incelemede ($p=0.001$) ve 72 saatlik incelemede ($p=0.002$) kontrol grubuyla arasında yüksek düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur.

Dycal, materyalin yüksek alkali pH'ından dolayı toksisite göstermektedir. Daha önce yapılmış pek çok çalışmada da Dycal'ın topikal pulpa nekrozuna sebep olduğu belirtilmiştir (14, 321-323). Poggio ve ark (324) 'nın yaptıkları bir çalışmada MDPC-23 (fare odontoblast hücre hattı) üzerinde Dycal, Calcicur, Calcimol LC, Theracal LC, ProRoot MTA ve Angelus MTA'nın 72 saatlik MTT analizi değerlendirilmiştir. ProRoot MTA, Angelus MTA ve Biodentine'in kontrol grubuyla arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Diğer materyallerde ise canlılık yüzdesinde daha düşük değerler elde edilmiştir; özellikle Calcimol L ve TheraCal LC'nin canlılık oranı, Calcicur'dan daha düşük bulunmuş en toksik materyal ise Dycal olmuştur. Bu çalışmayla benzer şekilde bizim çalışmamızda da Dycal materyalinde canlılık oranı diğer çalışma gruplarına göre düşük düzeyde bulunurken Angelus MTA'nın canlılık oranı yüksek bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları Dycal materyalinin Angelus MTA'ya oranla daha toksik çıktığı bizim çalışmamızla benzerdir.

Hirschman ve ark (325)'nin yaptığı bir çalışmada; Angelus MTA, Endosequence (ERRM), Dycal, ve Ultra-blend Plus (UBP)'ın insan dermal fibroblastları üzerindeki

sitotoksitesini 2, 5 ve 8. günlerde MTT analizi ile değerlendirilmiştir. Dycal, test edilen tüm aralıklarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sitotoksitede istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. Angelus MTA, ERRM ve UBP'nin tüm dilüsyonlarına maruz kalan kültürlerin hücre canlılığı, 2 ve 5. günde negatif kontrol grubuyla istatistiksel olarak benzer bulunmuş; ancak tüm materyallerin 8 günlük çözünür ürünleri kontrol grubundan önemli ölçüde daha sitotoksik çıkmıştır. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde Dycal materyali Angelus MTA'ya oranla daha fazla toksisite göstermiştir.

Silva ve ark. (326) Ca(OH)_2 , EndoBinder ve Angelus MTA materyallerinin 3T3 fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkilerini incelemiş ve Ca(OH)_2 'in diğer materyallere göre daha fazla sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca Angelus MTA'nın sitotoksisite göstermediği belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları Dycal materyalinin Angelus MTA'ya oranla daha toksik çıktığı bizim çalışmamızla benzerdir.

Menezes ve ark. (327) Balb/c 3T3 fibroblast hücre hattını kullanarak yaptığı çalışmada Buckley's formokrezol, Ca(OH)_2 , % 15,5 ferrik sülfat ve Angelus MTA'nın sitotoksitesini değerlendirmiştir. Materyallerin gösterdiği toksisite değerleri Buckley's formokrezol > ferrik sülfat > Ca(OH)_2 > Angelus MTA şeklinde sıralanmış ve Ca(OH)_2 in, Angelus MTA'dan yaklaşık 10 kat daha toksik olduğu ortaya çıkmıştır. Bu çalışmanın sonuçları Dycal materyalinin Angelus MTA'ya oranla daha toksik çıktığı bizim çalışmamızla benzerdir.

Grafen ve grafen türevleriyle yapılmış çalışmalara bakıldığında, çalışmalardan bazılarında grafen biyouyumlu bulunurken bazılarında ise sitotoksik etki göstermiştir. Agarwal ve ark.'nın (328) yaptıkları bir çalışmada grafen türevlerinden olan rGO (indirgenmiş grafen oksit) kullanılmıştır. rGO'nun insan fetal osteoblast (hFOB) hücreleri, insan oligodendroglia hücreleri (HOG) ve sıçan feokromositoma (nöroendokrin hücre, PC12) hücreleri ile biyouyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Kalsiyum silikat (CaSiO_3 ,CS) osteoblast benzeri hücrelerin mükemmel şekilde bağlanmasını ve çoğalmasını sağlayan ve apatit oluşumunu destekleyen yeni bir biyomateryaldir ve sert doku onarımı için biyouyumludur (329). Mehrali ve ark. 'nın (307) yaptığı bir çalışmada kalsiyum silikat (CaSiO_3) materyaline rGO (indirgenmiş grafen oksit) %0.25, %0.5, %0.75, %1 ve % 1.5 oranlarında katılmıştır. İnsan osteoblast hücrelerinde 1, 3 ve 5. günlerde yapılan MTT testine göre hücre sayısı artan rGO

konsantrasyonu ile birlikte önemli ölçüde artmıştır. Özellikle %1 ve % 1.5 rGO ilave edilmiş örneklerde 3 ve 5. günlerde hücre sayısı diğer örneklere nazaran daha fazla artmıştır. Mehrli ve ark 'nın (330) yaptığı benzer başka bir çalışmada kalsiyum sükrate ağırlıkça % 0.5, 1, 1.5 ve 2 GNP katılmıştır ve insan fetal osteoblastik hücre hattında (hFOB) sitotoksikite (MTT) analizi yapılmıştır. MTT sonuçları, ağırlıkça %1 GNP üzerindeki hücrelerin sayısının, saf kalsiyum sükrate ve ağırlıkça % 0.5, %1.5 ve %2 GNP'ye göre daha yüksek olduğunu göstermiş; ancak tüm konsantrasyonlarda GNP, hFOB hücre hattında hücre çoğalması yönünde etki göstermiştir. Bizim çalışmamızda da kalsiyum sükrate esaslı bir materyal olan Angelus MTA'ya bir grafen türevi olan GNP katılmış ve kullanılan materyaller açısından Mehrli ve ark.'nın yaptığı iki çalışmayla da benzerlik göstermektedir. Ancak bizim çalışmamızda GNP miktarı arttıkça toksisite oranının arttığı gözlemlenmiştir. Bu yönüyle bizim çalışmamızla Mehrli ve ark.(307, 330)'nın yaptığı çalışmanın sonuçları çelişmektedir.

Biyoyumlu ve düşük sitotoksik nano-materyal olarak, grafen doku mühendisliği alanında büyük ilgi görmüştür. Bununla birlikte, dental kök hücrelerin grafen üzerindeki davranışı hakkında çok az şey bilinmektedir. Zhou ve ark (331). 'nın yaptığı bir çalışmada periodontal ligament kök hücreleri kullanılmıştır. NA-Ti (sodyum-titanyum) ve GO-Ti (grafen oksit-titanyum) örneklerinin periodontal ligament kök hücreleri (PDLSC) üzerindeki sitotoksik etkisi MTT testi ile değerlendirilmiştir. 1. günde, GO-Ti ve Na-Ti substratlarında kültürlenmiş PDLSC'ler arasında hücre çoğalmasında anlamlı bir farklılık bulunamamış; ancak 3, 5, 7 ve 10. günden sonra, GO-Ti üzerindeki PDLSC'lerin Na-Ti'dekilerden önemli ölçüde daha yüksek oranda çoğaldığı görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları da Angelus MTA'ya GNP ilavesinin hücre canlılığını azalttığı sonucuna ulaştığımız bizim çalışmamız ile çelişmektedir.

Son araştırmalar, grafen ve türevlerinin sitotoksikitesinin, şekilleri, büyüklükleri, dağılımları ve yüzey işlevselliği gibi birçok parametreden etkilendiğini bildirmiştir. Karbon bazlı nano-materyallerin sitotoksikitesi oksidatif stres ve hücre zarı hasarı ile açıklanır (332, 333). Spesifik olarak, yüzlerce nm büyüklüğüne ve yaklaşık 0.8 nm kalınlığa sahip olan grafen nanosheetlerin (GNP), hidrofobik ökaryotik hücresel plazma zarı ile güçlü hidrofobik etkileşimi nedeniyle konsantrasyona bağlı bir sitotoksikiteyi indükleyebildikleri gösterilmiştir (334). Ayrıca, hücresel plazma zarı üzerinde GNP'lerin birikmesi, hücre içi redoks dengesi de dahil olmak üzere çeşitli hücre içi olayların dengesinin bozulmasına yol açan iyon kanallarının ve besin

alımlarının bloke olmasına neden olabilir. Sonunda, programlanmış hücre ölümüyle sonuçlanan önemli hücre içi oksidatif stres ortaya çıkarabilir (335). Bizim çalışmamızda da GNP ilavesinin doza bağlı olarak sitotoksite oluşturduğu ve oksidatif stresi arttırdığı gözlemlenmiştir.

Park ve ark.'nın (336) in vivo ve in vitro olarak grafen nanoplateletlerin (GNP) toksisitesini araştırdıkları çalışmalarında; GNP'ler 2.5, 5, 10, ve 20 µg/mL'lik oranlarda in vitro olarak insan bronşial epitelyal hücre hattına uygulanmıştır. MTT sonuçlarına göre doza bağlı olarak 24 saat ve 72 saatlik değerlendirmede sitotoksitenin arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma Angelus MTA'ya GNP ilavesinin doza bağlı olarak toksik etki yarattığı bizim çalışmamızla benzer özellik göstermiştir.

GO'nun (grafen oksit) hMSC'ler (insan mezenkimal stromal hücreleri) üzerindeki konsantrasyona bağlı sitotoksitesinin değerlendirildiği bir çalışmada HMSC'lerin 0,1 mg/mL'den düşük bir konsantrasyonda GO'e maruz bırakıldığında, herhangi bir sitotoksite belirtisi göstermediği görülmüştür. Bununla birlikte, GO'nun hMSC'ler için 0.1 mg/mL'den daha yüksek bir konsantrasyonda sitotoksik olduğu gözlenmiştir (337). Bizim çalışmamızda da doza bağımlı olarak %0.3 GNP ilavesi %0.1 GNP ilavesine göre daha sitotoksik bulunmuştur.

Yapılan başka çalışmalarda ise, konsantrasyon etkisine ek olarak, grafen nano materyallerin kök hücreler üzerindeki maruz kalma süreleriyle birlikte, şekillerinin ve boyutlarının ortaya çıkardığı sitotoksik ve genotoksik etkiler incelenmiştir (338, 339). Akhavan ve ark.'nın yaptığı çalışmada bir saatten kısa bir maruz kalma süresinden sonra, 1,0 µg/mL'lik düşük konsantrasyonda bile, küçük rGO nanoplateletleri, hMSC'lerin (insan mezenkimal kök hücre) tahrip olmasına ve yüksek oksidatif stres ve hücre zarı hasarının da ortaya çıkarmasına neden olmuştur Aksine, büyük rGO tabakalarının sitotoksitesi sadece ≥ 100 µg/mL yüksek konsantrasyonlarda ve uzun süre maruz kaldıktan sonra ortaya çıkmıştır (338). İnsan kök hücreleri üzerindeki grafen nano-materyallerin şekline bağlı sitotoksitesi, tek katmanlı rGO nanoribbonların aynı koşullar altında rGO sheetten çok daha yüksek bir hücre tahribatına neden olduğu bir çalışmada gösterilmiştir (339). İlginç bir şekilde, 10-100 nm arasında değişen boyutlarda saf grafen nano-materyallerin, küçük boyutlarından ve etkileşimlerini takiben hücreler tarafından içselleştirilmesinden dolayı sitotoksiteyi indükledikleri rapor edilirken, 10-100 µm büyüklüğünde yeterince büyük grafen tabakalarının, hücrelerin çoğalması için substrat olarak kullanıldığında daha

biyoyumlu oldukları bildirilmektedir (335). Ek olarak, eğer hücreler uzun süre boyunca yüksek konsantrasyonlarda grafen bazlı nano-materyallere maruz kalmazlarsa, olumsuz sitotoksik etki beklenmez (340). Bizim çalışmamızda da 3 nm tane inceliği ve 1.5 µm büyüklüğe (çap) sahip oldukça küçük boyutlarda GNP kullanılmış ve sitotoksik etki gözlemlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda da olduğu gibi küçük boyutlu grafen kullanımı bizim çalışmamızda da sitotoksisiteyi arttırmış olabilir.

Bu tür çalışmalar, mevcut dental materyaller arasında en yüksek biyolojik uyumluluk derecesini gösterenleri bulmak için tasarlandıklarından dolayı önemlidir. Bu in vitro çalışma, test edilen dört materyalin biyoyumluluk etkilerinde önemli farklılıklar olduğunu bildirmiştir. Özellikle, Ca(OH)₂ bazlı olan Dycal en yüksek sitotoksik etkiyi gösterirken, GNP katkılanmış Angelus MTA'da katkılama miktarı arttıkça toksisite artmıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgular in vitro model sistemle sınırlı olduğundan in vivo çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

5.2. Total Oksidan Kapasite (TOS) ve Total Antioksidan Kapasite (TAS)

Bulgularının Tartışılması

Oksidatif stres, hücrel pro-oksidan/antioksidanlar dengede iken pro-oksidanlar lehine herhangi bir bozukluk olarak tanımlanmaktadır (341). Oksidasyon, hayati fonksiyonlar için enerji üreten hemen hemen tüm hücrelerde esastır. Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koyarak yapısal ve doku bütünlüğünü korur. Serbest radikallerin seviyeleri ile antioksidanların seviyeleri arasındaki dengesizliklerin, bazı enflamatuar oral hastalıkların başlangıcında ve gelişiminde önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür (342, 343). Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinden dolayı oluşan ve organ, doku ve hücrelerde oksidatif hasarı tanımlamak için kullanılan bir terimdir (344).

Oksidatif stresi indükleyen reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesinin karbon nanotüplerin ve bir grafen türevi olan grafen oksitin toksisitesine yol açan bir mekanizma olduğu bulunmuştur (345). Bu nedenle, hücrelerin içindeki oksidatif stresin kritik özelliği olan ROS üretimi, grafen bazlı materyaller için in vitro toksisitenin önemli bir nedeni gibi görünmektedir. ROS'un oluşumu ve yok edilmesinin, hücrelerin içinde dinamik olarak dengelenmiş olduğu ve bu denge bozulduğu takdirde, hücre içi protein inaktivasyonu, lipid peroksidasyonu, mitokondri fonksiyon bozukluğu ve nihayetinde apoptoz veya nekrozu tetikleyebileceği belirtilmiştir (345). Biz de bu nedenle çalışmamızda Angelus MTA, Angelus MTA+%0.1 GNP, Angelus MTA+%0.3

GNP ve Dycal materyallerinin gingival fibroblast hücreleri üzerinde oluşturduğu TAS ve TOS değerlerini inceledik.

Bizim çalışmamızda TAS ve TOS analizleri 24 saat ve 72 saat olarak değerlendirilmiştir. TOS analizinde en düşük total oksidan kapasite kontrol grubunda tespit edilmiştir. TOS 24 saatlik analizde ise Angelus MTA, Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+%0.3 GNP grubuyla kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamış ancak total oksidan kapasite artmıştır ($p>0.05$). En yüksek oksidan kapasite ise Dycal grubunda tespit edilmiş kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.001$). TOS 72 saatlik analizde ise Angelus MTA ve Angelus MTA+%0.1 GNP eklenen grupta total oksidan kapasite artmış ancak kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Angelus MTA+%0.3 GNP grubunda ve Dycal grubunda kontrol grubu ile istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.001$).

TAS 24 saatlik analiz incelendiğinde Angelus MTA ve Angelus MTA+%0.1 GNP ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamış; ancak antioksidan kapasitenin düştüğü görülmüştür ($p>0.05$). Angelus MTA+%0.3 GNP ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.013$). Dycal grubu ile kontrol grubu arasında ise yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.001$). TAS 72 saatlik analiz incelendiğinde ise Angelus MTA ve Angelus MTA+%0.1 GNP ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Angelus MTA+%0.3 GNP ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunurken ($p=0.028$); Dycal grubu ile kontrol grubu arasında ise yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.001$).

Kuafaj materyal gruplarına baktığımızda en yüksek antioksidan kapasite Angelus MTA grubunda ve en düşük antioksidan kapasite ise Dycal grubunda tespit edilmiştir. GNP eklenmiş olan gruplar incelendiğinde doza bağımlı olarak antioksidan kapasitede düşüş gözlemlenmektedir. TAS verileri MTT sonuçlarıyla korelasyon göstermekte olup; antioksidan kapasite Angelus MTA'ya GNP eklenme miktarı arttıkça düşmektedir. Böylece hücrel dayanıklılık azalmış, serbest radikallerin oluşumu önlenememiş ve hücrel harabiyetin gelişmesine ve dolayısıyla da hücrel ölüme yol açmıştır.

Pulpa kuafaj materyallerinin, TAS, TOS ve oksidatif stres ölçümü üzerine yapılmış çalışmalara literatürde çok sık rastlanmamaktadır. Daha çok periodontoloji alanında yapılmış çalışmalar mevcuttur. Örneğin Pendyala ve ark. (346) periodontal hastalığı olan ve olmayan Tip 2 diyabetik hastalarda tükürüğün TAS değerlendirmesi ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Diyabet grubundaki tükürük TAS değeri sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. İstatistiksel olarak, periodontitisli diyabetiklerin tükürük antioksidan kapasitelerinde ve periodontitisli sağlıklı bireylerde antioksidan kapasitelerinde anlamlı bir fark bulunamamıştır. Periodontal olarak sağlıklı bireyler, periodontitisli bireylere göre istatistiksel olarak oldukça anlamlı olan daha yüksek antioksidan seviyeleri ortaya koymuştur. Total antioksidan kapasite, periodontitisli diyabetik hastalarda periodontitisli sağlıklı bireylere ve periodontal hastalığı olmayan diyabetik hastalara göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Oksidatif stresin periodontal doku yıkımında ve birçok hastalığın patolojik mekanizmalarında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (347, 348). Oksidatif stresin kemik metabolizması ile de ilgisi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (348). Bu nedenle pulpa kuafaj uygulamalarından beklenen sert doku oluşumu ile de oksidatif stres arasında bağlantı kurulabilir. Pulpal hücrelerde oksidatif stresi arttıran materyal kullanımı sert doku oluşumunu inhibe edebilir. Pulpada hiperemi, inflamasyon ve nekroz gibi patolojik durumlar oluşturabilir.

Araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre Dycal'ın hücreler üzerindeki oksidatif stresi arttırdığı yani oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine kaydığı bulunmuştur. Angelus MTA'ya ise GNP katkılama miktarı arttıkça oksidatif stresin yükseldiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar MTT analizi ile de desteklenmekte olup GNP ilavesinde katkılama miktarı arttıkça hücre canlılığının ve TAS miktarının azaldığı, TOS miktarının ise arttığı görülmüş ve antioksidanlar-oksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine kaydığı anlaşılmıştır.

5.3. Mikrosertlik Bulgularının Tartışılması

Bir materyalin girinti veya penetrasyona direnci sertlik olarak adlandırılır. Sertliği ölçmek için kullanılan yöntemlerin çoğu, materyalin yüzeyinde belirlenmiş bir kuvvetle, kontrollü ve tekrar üretilebilir bir şekilde bir çentik oluşturmak ve bu çentiğin boyutunu ölçmekten ibarettir (349). Bizim çalışmamızda da Angelus MTA, Angelus

MTA+%0.1 GNP, Angelus MTA+%0.3 GNP ve Dycal materyallerinin mikrosertlik derecelerinin ölçülmesinde ve birbirleri ile karşılaştırılmasında Vickers sertlik testi kullanılmıştır.

Yüzey mikro sertliği, materyalin yüzey mukavemetinin bir göstergesidir (159). Materyallerin mikrosertliği basınç, çekme ve eğilme dayanımı ile ilgilidir (155). Ayrıca mikrosertlik, ortamın pH'ından, materyalin kalınlığından, uygulama sırasındaki kondansasyon basıncından, karışan hava miktarından, nemden, materyalin asitle pürüzlendirilmesinden ve ısı gibi faktörlerden etkilenebilmektedir (186). Çalışmamızda materyallerin karıştırma ve sertleştirme koşulları standardize edilmiştir. Angelus MTA ve GNP katkılanmış örnekler 4mm çap ve 2mm yüksekliğinde silindirik teflon kalıplara yerleştirilerek sertleşmesi tamamlanana kadar 48 saat 37 °C 90 ± 5% nemde (Nüve ES 110) etüvde tutulmuştur.

Elde edilen sonuçlarda mikrosertlik değerleri Dycal<Angelus MTA<Angelus MTA+%0.1GNP<Angelus MTA+%0.3GNP şeklinde sıralanmış ve bütün gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (p<0.05). Angelus MTA'ya GNP katılama miktarı arttıkça mikrosertlik değerinin de yükseldiği görülmüştür.

Sethuram ve ark.'nın (350) yaptığı bir çalışmada Al-Sn alaşımına ağırlıkça %1 ve %2 grafen ilave edilmiştir. Ağırlıkça % 1 ve % 2 grafen takviyeli Al-Sn nanokompozitin mikro sertliği, Al-Sn alaşımına göre sırasıyla % 27 ve % 48 oranında artış göstermiştir. Bizim çalışmamızda ise Angelus MTA'ya , GNP %0.1 ve %0.3 olarak eklenmiş ve Angelus MTA'ya göre her iki miktarda da mikrosertlik değeri artmıştır.

Du ve ark.'nın (351) yaptığı bir çalışmada PC'ye %1, %2, %4 oranlarında GNP eklenmiş ve PC'nin mikrosertliğinin arttığı gözlemlenmiştir. Xie ve ark.'nın (352) yaptığı başka bir çalışmada kalsiyum silikata ağırlıkça %1.5 grafen katılmış ve mikrosertliğin, saf kalsiyum silikata kıyasla % 12 oranında bir gelişme gösterdiği görülmüştür. Bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmamızla benzerdir. Bizim çalışmamızda da Angelus MTA'ya GNP katılmasında mikrosertliği arttırmıştır.

Mehrali ve ark 'nın (330) yaptığı bir çalışmada kalsiyum silikata ağırlıkça %0.5, %1, %1.5, %2 oranlarında GNP katılmıştır. Yapılan mikrosertlik testinde ağırlıkça % 0.5 ve %1, GNP katılmış gruplarda mikrosertliğin arttığı ancak ağırlıkça %1.5 ve %2 katılmış gruplarda ise mikrosertliğin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu da optimum GNP

miktarından daha fazlasının eklenmesinin daha az güçlü materyal oluşumuna yol açtığı şeklinde açıklanmıştır. Bizim çalışmamızda ise Angelus MTA'ya , GNP %0.1 ve %0.3 olarak eklenmiş ve Angelus MTA'ya göre her iki miktarda da mikrosertlik değeri artmıştır.

5.4. Taramalı Elektron Mikroskopisi–Enerji Dağılımlı X Işını Spektrometrisi (SEM-EDX), ve Tanecik Büyüklüğü Bulgularının Tartışılması

SEM yöntemi geniş bir yelpazedeki materyallerin mikro yapı ve kimyasını araştırmak için kullanılan bir analizdir. SEM analizinin avantajı, ayrıntılı üç boyutlu topografik görüntüleme sağlaması ve farklı dedektörlerden elde edilen çok yönlü bilgileri içermesidir (353). Elde edilen SEM görüntülerinde tanecik boyutu Angelus MTA>Angelus MTA+%0.1 GNP>Angelus MTA+%0.3 GNP şeklinde sıralanmış ve bütün gruplar arasında çok yüksek düzeyde anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.001$). Dycal'ın ise SEM görüntülerinde tanecikler net görüntülenemediği için tanecik boyutu ölçülemediği. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre GNP katkı miktarı arttıkça tanecik boyutu küçülmektedir. Angelus MTA 3 boyutlu bir materyal iken grafen 2 boyutlu bir materyaldir. 3 boyutlu bir materyalin içine 2 boyutlu bir materyalin katılması tane boyutunu küçültmüş olabilir.

Çalışmamızda Angelus MTA'ya GNP ilavesi havanda ezilerek yapılmıştır. Angelus MTA ise standart bir materyal olup havanda ezilmeye gerek duyulmamıştır. Angelus MTA'ya GNP ilavesi sırasında havan kullanımı tanecik boyutunu küçültmüş olabilir. Ancak Angelus MTA+%0.1 GNP ve Angelus MTA+%0.3 GNP arasında da yüksek oranda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.001$). Bu nedenle GNP katkı miktarı arttıkça tanecik boyutunun küçüldüğü düşünülebilir. He ve ark.'nın (354) yaptığı bir çalışmada da grafenle güçlendirilmiş alüminyumlarda, katkı miktarı yapılmamış alüminyumlara göre tane büyüklüğünün düştüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışma, Angelus MTA'ya GNP ilavesinin tanecik boyutunu düşürdüğü bizim çalışmamızla benzer özellik göstermektedir.

Morfolojik karakterizasyon göz önüne alındığında, kullanılan materyalin tanecik boyutunun fiziksel özelliklerinin karakterizasyonunda önemli bir faktör olduğu bulunmuştur (140). Çeşitli çalışmalar tanecik büyüklüğü, hidrasyon kinetiği ve materyalin mukavemet özellikleri arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Bazı çalışmalarda küçük tanecik boyutunun hidrasyon için uygun yüzey alanını arttırdığı ve daha erken

dayanım gibi erken özellikleri geliştirdiği gösterilmiştir (355, 356). Araştırmalar, daha küçük, daha ince tanecik boyutuna sahip materyallerin daha güçlü, daha az büzülme sergilediğini ve daha büyük tanecik boyutuna sahip diğer materyallerden daha düşük çatlama eğiliminde olduğunu göstermiştir (355, 357). Yapılan başka bir çalışma, büyük partiküllerden (~ 10 µm) oluşan materyallerin kil benzeri, yapışkan olmayan bir macun oluşturduğunu gösterirken, daha ince partiküllerden (3.4 µm) oluşan bileşiklerin güçlü ancak çok hızlı sertleşme gösterdiği ve klinik kullanım için viskoz olduğunu bildirmiştir (358). Ayrıca, daha küçük tanecik büyüklüğünün daha yüksek basınç dayanımı (CS) ve çap gerilim dayanımı (DTS) sağladığı görülmüştür (359). MTA ve PC'leri oluşturan kalsiyum silikatların partikül şekli ve büyüklüğü materyalin özelliklerini belirler. Küçük parçacıklar daha fazla yüzey alanına sahiptir ve böylece daha yüksek reaktivite sunarlar ve kalsiyum silikat hidratlar ve Ca(OH)₂ oluştururlar (360, 361). Bizim çalışmamızda da Angelus MTA'ya %0.1 ve % 0.3 GNP ilavesi Angelus MTA'nın tanecik boyutlarını küçülterek, mukavemetini arttırmış daha fazla yüzey alanı sağlamış ve fiziksel özelliklerine katkıda bulunmuştur.

Çalışmamızda bir karbon türevi olan GNP'nin Angelus MTA' ya ilavesi EDX analizinde karbon oranlarına bakılarak gözlemlenmiştir. Angelus MTA'da karbon oranı % 50.08 iken Angelus MTA+%0.1 'de %65.65 ve Angelus MTA+%0.3 GNP'de %69.60 oranında karbon bulunmuştur. GNP ilavesi arttıkça karbon oranının arttığı görülmektedir.

Sethuram ve ark'nın (350) yaptığı bir çalışmada Al-Sn alaşımına ağırlıkça %1 ve %2 grafen ilave edilmiştir. Bizim çalışmamızla benzer şekilde yapılan bu çalışmada da katkılanan grafen, EDX analizindeki karbon oranının artışı ile gözlemlenmiştir.

Dycal ve Angelus MTA bilinen materyaller olup EDX analiz sonuçlarının, üreticinin verdiği materyalin formülasyonu ile uyum gösterdiği görülmüştür.

5.5. X Işını Kırınım Yöntemi (XRD) Bulgularının Tartışılması

XRD, alaşımların yapısını araştırmak için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (362). Bir materyalin ana bileşenlerinin tanımlanması, fiziksel, kimyasal ve mekanik özelliklerinin daha iyi yorumlanabilmesini sağlayacağı için önemlidir (151). XRD; çimentoların incelenmesi için de faydalı bir analiz tekniği olarak bilinmektedir. Çimento numunesinde ana kristal ürünlerin tanımlanmasını sağlar. XRD analizi, çimentoların kristal fazlarını tanımlayabilir. Kırınım desenleri çimentoların, materyalin

performansının anlaşılmasıyla ilgili olan kimyasal karakterizasyonu hakkında bilgi sağlar (291). Bu nedenle çalışmamızda %80 oranında PC içeren Angelus MTA'nın ve GNP katkılanmış Angelus MTA gruplarının kimyasal karakterizasyonlarının değerlendirilmesinde XRD analiz yöntemi kullanılmıştır.

Trikalsiyum silikatın, hidratsız çimentolarda mevcut olan ana fazlardan biri olduğu, MTA'nın büyük bir kısmını oluşturduğu bildirilmiştir (151, 291). MTA'nın yapısında bulunan trikalsiyum silikat, (151, 291) çalışmamızda yapılan XRD analizinde de tespit edilmiştir. Ayrıca XRD analizinde, kalsiyum magnezyum alimünyum oksit silikat, potasyum bizmut oksit ve silikon oksitten kaynaklanan pikler Angelus MTA'da görülmüştür. Dycal materyalinin kırınım deseni incelendiğinde ise kalsiyum tungstat, çinko oksit, demir titanyum oksit, kalsiyum demir oksitten kaynaklanan pikler gözlemlenmiştir. Her iki materyal de bilinen materyaller olup XRD grafiğinde üreticinin verdiği materyalin formülasyonu ile uyum göstermektedir.

GNP katkılı örneklerin kırınım desenlerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. GNP tabakaları nano boyutlu olduğu için XRD analizinde bir pik vermemiş olabilir; dolayısıyla da katkılanan GNP ile birlikte kırınım desenleri değişmemiş olabilir. Nosrati ve ark'nın (363) yaptığı bir çalışmada da TiO₂ ye grafen katkılanması yapılmış ancak XRD analizinde grafenin bizim çalışmamıza benzer şekilde pik vermediği gözlemlenmiştir.

Mehrali ve ark. yaptığı bir çalışmada ise kalsiyum silikata ağırlıkça % 0.5, %1, % 1.5 ve % 2 oranlarında GNP katılmış ve XRD grafiğinde herhangi bir pik vermediği gözlemlenmiştir ve bu durum GNP'lerin küçük miktarda bulunması nedeniyle XRD'de tespit edilmesinin zor olduğu şeklinde açıklanmıştır (330). Bu çalışmanın sonuçları da Angelus MTA'ya GNP ilavesinin XRD grafiğinde belirgin bir pik vermediği bizim çalışmamızla benzerdir.

Ding ve ark'nın (364) yaptığı bir çalışmada LiFePO₄'a ağırlıkça %1.5 grafen katılmış; ancak grafen katkılanması yapılmış örneklerle katkılanması yapılmamış örneğin XRD grafiği benzer bulunmuştur. Bunun sebebi olarak da GNP'nin az miktarda katkılanması XRD grafiğinde herhangi bir değişime sebep olmamıştır şeklinde açıklanmıştır. Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla benzer şekilde GNP katkılanan Angelus MTA örnekleri XRD grafiğinde herhangi bir pik vermemiştir.

Çalışmamızda GNP, Angelus MTA'ya %0.1 ve %0.3 gibi küçük oranlarda eklenmiştir. Angelus MTA'ya GNP'nin düşük miktarda eklenmesi XRD grafiğinde GNP'nin herhangi bir pik vermemesine sebep olmuş olabilir.

5.6. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektrofotometresi (FTIR) Bulgularının Tartışılması

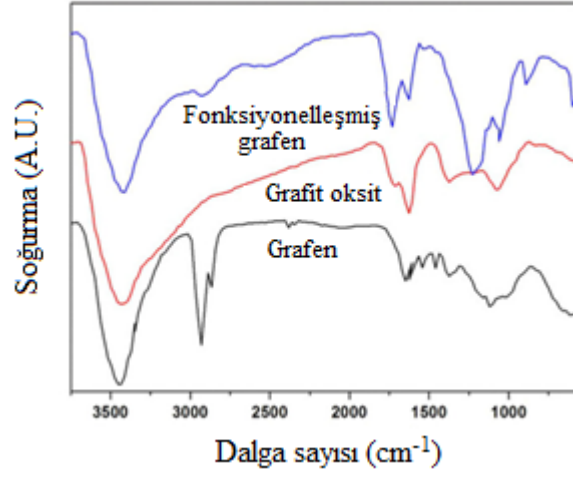
FTIR analizi kızılötesi (IR) radyasyonunun madde ile etkileşimine dayanan atomların bağlanma yapısını karakterize etmek için kullanılan analitik bir yöntemdir. Maddenin absorbe ettiği ve moleküllerde titreşimlerin üretimine neden olduğu radyasyonun frekanslarını ölçer. IR spektroskopisi, biyolojiden kompozit maddelere, sıvılardan gaz örnekler kadar bilgi edinmek için kimyasal yapıların tanımlanması ve karakterizasyonu için hızlı bir teknik sunar (365). Biz de kullandığımız materyallerin moleküler bağlarını tespit etmek için FTIR analizine çalışmamızda yer verdik. FTIR sonuçlarına göre Angelus MTA'da Si-C, kalsiyum slika, kalsiyum karbonat ve OH piklerine rastlanırken; Dycal materyalinde ise CO-O, Ca(OH)₂, C=C, OH'dan kaynaklanan pikler görülmüştür.

Gong ve ark. (366) yaptığı bir çalışmada ProRoot MTA, Dycal, Biodentin ve Theracal'ın FTIR analizlerin incelemiş ve Ca(OH)₂'in sadece Dycal materyalinde pik yaptığını görmüşlerdir. Bu durumu; Camilleri ve ark.'nın (142) yaptığı çalışmada gösterdiği gibi Ca(OH)₂'in MTA'nın hidrasyonu sonucu oluşan bir yan ürünü olduğunu ve hidrasyondan sonra Ca(OH)₂'in ortaya çıkması için gereken sürenin 1 gün ile 2 ay arasında değiştiğini ve bu nedenle de Ca(OH)₂'in MTA'nın FTIR analizinde görülmediği şeklinde açıklamışlardır. Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla benzer şekilde Angelus MTA ve Dycal'ın FTIR analizinde; Ca(OH)₂'in sadece Dycal materyalinde görülmüş olmasının sebebi; Ca(OH)₂'in MTA hidrasyonunun bir yan ürünü olmasından ve Ca (OH) ₂'in FTIR analizinde görülmesi için hidrasyondan sonra geçmesi gereken sürenin tamamlanmamış olmasından kaynaklı olabilir.

Angelus MTA'ya %0.1 ve %0.3 GNP katkılanmış örneklerin FTIR analiz sonuçları incelendiğinde; Angelus MTA ve GNP katkılanmış örneklerin benzer pikler yaptığı gözlenmektedir. Buradan yola çıkarak Angelus MTA'ya GNP katılmasının FTIR sonuçlarına yansıyan bir fark oluşturmadığını söyleyebiliriz.

Grafene ait FTIR çalışması M. Naebe (367) tarafından incelenmiş ve elde ettiği sonuçlar Şekil 5.1'de verilmiştir. Aslında Angelus MTA'nın FTIR analizi sonucu (Şekil

4.17) ve grafen saf örneklerinin FTIR analiz sonuçları birbirlerine benzemektedir. Şekil 5.1 incelendiğinde benzer piklerin GNP'den kaynaklanmış olabileceği de düşünülebilir.



Şekil 5.1. M Naebe ve ark. tarafından elde edilen grafen FTIR analizi sonuçları

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel olarak geliştirilmiş güncel diş pulpası kuafaj materyallerinin fiziksel, biyolojik ve mekaniksel özelliklerin in vitro şartlarda değerlendirildiği bu çalışmanın sonuçlarına göre ;

MTT, TAS ve TOS analizleri incelendiğinde ;

Yapılan daha önceki çalışmaları destekleyecek şekilde Ca(OH)₂ materyali hücre canlılığını azaltarak yüksek toksisite göstermiştir. Ancak tersiyer dentin oluşumunun, materyalin biyoindükleyici kapasitesine bağlı olarak değil, Ca(OH)₂'in irrite edici doğası ile indüklenen pulpa tarafından bir savunma mekanizması olarak ortaya çıkması sebebiyle günümüzde hala kuafaj materyali olarak sıklıkla kullanılmaktadır. MTA ise biyoyumlu bir materyal olup ideal kuafaj materyali olarak kullanılabilir.

GNP'nin doza bağımlı olarak toksisite gösterdiği tespit edilmiştir. MTA'ya düşük miktarda GNP eklenmesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir fark yaratacak toksik etki oluşturmadığı ancak hücre canlılığını azalttığı görülmüştür. Eklenen düşük miktarda grafen MTA'nın antioksidan ve oksidan kapasitesinde kontrol grubuyla anlamlı farklılık oluşturmamıştır. GNP miktarı yükseldiği zaman kontrol grubuyla anlamlı fark oluşturacak kadar toksisitenin ve oksidan miktarının arttığı antioksidan kapasitenin ise düştüğü gözlemlenmiştir.

24 saat ve 72 saatlik MTT, TAS ve TOS analizleri incelendiğinde ise zamana bağlı olarak gruplarda canlılık oranlarının azaldığı, TAS miktarlarının düştüğü ve TOS miktarlarının da arttığı gözlemlenmiştir.

Fiziksel ve mekaniksel testlerden elde ettiğimiz sonuçlar incelendiğinde ise;

GNP ilavesinin FTIR analizinde belirgin bir fark yaratmadığı, XRD analizinde ise GNP'nin kırınım grafiğinde herhangi bir pik vermediği ortaya çıkmıştır.

GNP katkılama miktarı arttıkça mikrosertliğin arttığı ve tanecik boyutunun küçüldüğü gözlemlenmiştir. Tanecik boyutunun küçüldüğü SEM görüntüsü ile desteklenmiştir. EDX analizinde ise bir karbon türevi olan GNP'nin etkisi karbon miktarındaki artış ile gözlemlenmiştir. MTA'ya GNP eklenmesinin sonucu olarak materyalin tanecik boyutunun küçülmesi ve mikrosertliğinin artması, GNP'nin materyalin mukavemetine katkıda bulunduğunu göstermektedir.

Yapılan fiziksel, mekaniksel ve biyolojik testler birlikte değerlendirildiğinde; MTA'ya dūşük miktarda GNP katkılananın istatistiksel olarak anlamlı toksik etki oluşturmamakla birlikte hücre canlılığını azalttığı ve bu katkılananın fiziksel ve mekaniksel özelliklere olumlu etki ettiği görülmüştür. Ancak in vitro yapılan bu çalışmanın in vivo çalışmalarla desteklenerek, GNP'nin canlı organizmalarda gerçekeştirilecek direkt pulpa kuafajı tedavilerinde pulpa dokusu üzerindeki etkisi ve sert doku oluşturma potansiyelinin araştırılması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

1. Saghiri MA, Asatourian A, Garcia-Godoy F, Sheibani N. Effect of biomaterials on angiogenesis during vital pulp therapy. *Dent Mater J* 2016, 35 (5): 701-9.
2. Miyashita H, Worthington HV, Qualtrough A, Plasschaert A. Pulp management for caries in adults: maintaining pulp vitality. *Cochrane Database Syst Rev* 2007, 18 (2).
3. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, O'Ryan F. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw—2014 update. *J Oral Maxillofac Surg* 2014, 72 (10): 1938-56.
4. Keçeci AD, Basa ŞE, Küçük Ö. Vital Pulpa Tedavilerinde Klinik Uygulama Teknikleri. *Turkiye Klinikleri J Endod-Special Topics* 2017, 3 (3): 165-80.
5. Baume LJ, Holz J. Long term clinical assessment of direct pulp capping. *Int Dent J* 1981, 31 (4): 251-60.
6. Liu Q, Ma Y, Wang J, Zhu X, Yang Y, Mei Y. Demineralized bone matrix used for direct pulp capping in rats. *PloS one* 2017, 12 (3): e0172693.
7. Hilton TJ. Keys to clinical success with pulp capping: a review of the literature. *Oper Dent*. 2009, 34 (5): 615-25.
8. Mori GG, Teixeira LM, de Oliveira DL, Jacomini LM, da Silva SR. Biocompatibility evaluation of biodentine in subcutaneous tissue of rats. *J Endod* 2014, 40 (9): 1485-8.
9. Raedel M, Hartmann A, Bohm S, Konstantinidis I, Priess H, Walter M. Outcomes of direct pulp capping: interrogating an insurance database. *Int Endod J* 2016, 49 (11): 1040-7.
10. Swarup S, Rao A, Boaz K, Srikant N, Shenoy R. Pulpal response to nano hydroxyapatite, mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide when used as a direct pulp capping agent: an in vivo study. *J Clin Pediatr Dent* 2014, 38 (3): 201-6.

11. de Souza Costa C, Vaerten M, Edwards C, Hanks C. Cytotoxic effects of current dental adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23. *Dent Mater J* 1999, 15 (6): 434-41.
12. Hermann B. Biologische Wurzelbehandlung. Frankfurt am Main. Kramer W Wurzelbehandlung Deutsche Zahnärztliches Wochenschrift 1936, 38: 461-5.
13. Stuart KG, Miller CH, Brown CE, Newton CW. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991, 72 (1): 101-4.
14. Cavalcanti B, Rode S, Marques M. Cytotoxicity of substances leached or dissolved from pulp capping materials. *Int Endod J* 2005, 38 (8): 505-9.
15. Komabayashi T, Zhu Q, Eberhart R, Imai Y. Current status of direct pulp-capping materials for permanent teeth. *Dent Mater* . 2016, 35 (1): 1-12.
16. Sawusch R. Dycal capping of exposed pulps in primary teeth. *J Dent Child* 1963, 30 (3): 141-9.
17. Schuurs A, Gruythuysen R, Wesselink P. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: a review. *Endod Dent Traumatol* 2000, 16 (6): 240-50.
18. Schröder U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *J Dent Res* 1985, 64 (4): 541-8.
19. Cox C, Sübay R, Ostro E, Suzuki S, Suzuki S. Tunnel defects in dentin bridges: their formation following direct pulp capping. *Oper Dent* 1996, 21 (1): 4-11.
20. Pariookh M, Torabinejad M, Dummer P. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview—part I: vital pulp therapy. *Int Endod J* 2018, 51 (2): 177-205.
21. Rasaratnam L. Review suggests direct pulp capping with MTA more effective than calcium hydroxide. *Evid Based Dent* 2016, 17 (3): 94.
22. Gurunathan S, Kim J-H. Synthesis, toxicity, biocompatibility, and biomedical applications of graphene and graphene-related materials. *Int J Nanomedicine* 2016, 11: 1927.

23. Goldberg M, Lasfargues J-J. Pulpo-dentinal complex revisited. *J Dent* 1995, 23 (1): 15-20.
24. Pashley DH. Potential treatment modalities for dentin hypersensitivity—in office products. In: Addy M, Embery G, Edgar WM, Embery G, Orchardson R (eds). *Tooth wear and sensitivity*, 1th ed. London, Martin-Dunitz Publishers, 2000: 351
25. Torneck CD. Dentin-pulp complex. In: Ten Cate AR (ed). *Oral histology: development, structure, and function*, 5th ed. St Louis, Mosby, 1998: 150
26. Heyeraas K, Berggreen E. Interstitial fluid pressure in normal and inflamed pulp. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999, 10 (3): 328-36.
27. Heyeraas K, Kvinnsland I. Tissue pressure and blood flow in pulpal inflammation. *Proc Finn Dent Soc* 1992, 88: 393-401.
28. Alaçam T. *Endodonti*, 1. baskı. Ankara, Özyurt Matbaacılık, 2012: 71.
29. Luukko K, Kettunen P, Fristad I, Berggreen E. Structure and functions of the dentin-pulp complex. In: Cohen S, Hargreaves KM, Berman LH (eds). *Cohen's Pathways of the Pulp*, 10th ed. China, Elsevier Health Sciences, 2011: 452-600
30. Bernick S, Nedelman C. Effect of aging on the human pulp. *J Endod* 1975, 1 (3): 88-94.
31. Nanci A, Ten Cate AR. In Structure of the oral tissues. *Ten Cate's oral histology: Development, Structure, and Function*, 7th ed. St. Lois, Elsevier Health Sciences; 2008: 4
32. Bjørndal L, Reit C. The annual frequency of root fillings, tooth extractions and pulp- related procedures in Danish adults during 1977–2003. *Int Endod J* 2004, 37 (11): 782-8.
33. Couve E. Ultrastructural changes during the life cycle of human odontoblasts. *Arch Oral Biol* 1986, 31 (10): 643-51.
34. Bishop M, Yoshida S. A permeability barrier to lanthanum and the presence of collagen between odontoblasts in pig molars. *J Anat* 1992, 181 (Pt 1): 29-38.
35. Holland G. Morphological features of dentine and pulp related to dentine sensitivity. *Arch Oral Biol* 1994, 39: 3-11.

36. George CH, Kendall JM, Evans WH. Intracellular trafficking pathways in the assembly of connexins into gap junctions. *J Biol Chem* 1999, 274 (13): 8678-85.
37. Marion D, Jean A, Hamel H, Kerebel L-M, Kerebel B. Scanning electron microscopic study of odontoblasts and circumpulpal dentin in a human tooth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991, 72 (4): 473-8.
38. Tanaka T. The origin and localization of dentinal fluid in developing rat molar teeth studied with lanthanum as a tracer. *Arch Oral Biol* 1980, 25 (3): 153-62.
39. Turner D. Immediate physiological response of odontoblasts. *Proc Finn Dent Soc* 1992, 88: 55-63.
40. Turner D, Marfurt C, Sattelberg C. Demonstration of physiological barrier between pulpal odontoblasts and its perturbation following routine restorative procedures: a horseradish peroxidase tracing study in the rat. *J Dent Res* 1989, 68 (8): 1262-8.
41. Gotjamanos T. Cellular organization in the subodontoblastic zone of the dental pulp—I: A study of cell-free and cell-rich layers in pulps of adult rat and deciduous monkey teeth. *Arch Oral Biol* 1969, 14 (9): 1007-1010
42. Zhang J, Kawashima N, Suda H, Nakano Y, Takano Y, Azuma M. The existence of CD11c+ sentinel and F4/80+ interstitial dendritic cells in dental pulp and their dynamics and functional properties. *Int Immunol* 2006, 18 (9): 1375-84.
43. Fitzgerald M, Chiego Jr D, Heys D. Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. *Arch Oral Biol* 1990, 35 (9): 707-15.
44. Diamon RD, Stanley HR, Swerdlow H. Reparative dentin formation resulting from cavity preparation. *J Prosthet Dent* 1966, 16 (6): 1127-34.
45. Murray PE, About I, Lumley P, Franquin JC, Remusat M, Smith A. Human odontoblast cell numbers after dental injury. *J Dent* 2000, 28 (4): 277-85.
46. Murray P, Hafez A, Windsor L, Smith A, Cox C. Comparison of pulp responses following restoration of exposed and non-exposed cavities. *J Dent* 2002, 30 (5-6): 213-22.

47. Murray PE, Lumley PJ, Ross HF, Smith AJ. Tooth slice organ culture for cytotoxicity assessment of dental materials. *Biomaterials* 2000, 21 (16): 1711-21
48. Smith AJ, Sloan AJ, Matthews JB, Murray PE, Lumley P. Reparative processes in dentine and pulp. In: Addy M, Embery G, Edger WM, Orchardson R (eds). *Tooth wear and sensitivity*, 1th ed. London, Martin-Dunitz Publishers, 2000:
49. Tokita Y, Sunakawa M, Suda H. Pulsed Nd: YAG laser irradiation of the tooth pulp in the cat: I. Effect of spot lasing. *Lasers Surg Med* 2000, 26 (4): 398-404.
50. Sasaki T, Garant PR. Structure and organization of odontoblasts. *Anat Rec* 1996, 245 (2): 235-49.
51. Holland GR, Torabinejad M. The dental pulp and periradicular tissues. In: Torabinejad M, Walton RE (eds). *Endodontics. Principles and Practice*, 4th ed. China, Elsevier, 2009:8
52. Kaye H, Herold R. Structure of human dentine—I: Phase contrast, polarization, interference and bright field microscopic observations on the lateral branch system. *Arch Oral Biol* 1966, 11 (3): 355-368.
53. Mjör I, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biol* 1996, 41 (5): 401-12.
54. Lesot H, Osman M, Ruch JV. Immunofluorescent localization of collagens, fibronectin, and laminin during terminal differentiation of odontoblasts. *Dev Biol* 1981, 82 (2): 371-81.
55. Weinstock M, Leblond C. Synthesis, migration, and release of precursor collagen by odontoblasts as visualized by radioautography after [3H] proline administration. *J Cell Biol* 1974, 60 (1): 92-127.
56. Breschi L, Lopes M, Gobbi P, Mazzotti G, Falconi M, Perdigão J. Dentine proteoglycans: an immunocytochemical FEISEM study. *J Biomed Mater Res* 2002, 61 (1): 40-6.
57. Embery G. Glycosaminoglycans of human dental pulp. *J Biol Buccale* 1976, 4 (3): 229-36.
58. Goldberg M, Takagi M. Dentine proteoglycans: composition, ultrastructure and functions. *Histochem J* 1993, 25 (11): 781-806.

59. Linde A. Session II: Cells and Extracellular Matrices of the Dental Pulp—CT Hanks, Chairman: The Extracellular Matrix of the Dental Pulp and Dentin. *J Dent Res* 1985, 64 (4): 523-9.
60. Butler W, D'Souza R, Bronckers A, Happonen R, Somerman M. Recent investigations on dentin specific proteins. *Proc Finn Dent Soc* 1992, 88: 369-76.
61. Dahl T, Sabsay B, Veis A. Type I collagen–phosphoryn interactions: specificity of the monomer–monomer binding. *J Struct Biol* 1998, 123 (2): 162-8.
62. D'souza R, Bachman T, Baumgardner K, Butler W, Litz M. Characterization of cellular responses involved in reparative dentinogenesis in rat molars. *J Dent Res* 1995, 74 (2): 702-9.
63. Engström C, Linde A, Persliden B. Acid hydrolases in the odontoblast- predentin region of dentinogenically active teeth. *Eur J Oral Sci.* 1976, 84 (2): 76-81.
64. Avery J. *Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach*, 3th ed. St. Louis, Mosby Elsevier, 2006: 108-26.
65. Han SS. The fine structure of cells and intercellular substances. In: Finn SB (ed). *Biology of the Dental Pulp Organ*. Birmingham, University of Alabama Press, 1968: 103
66. Baume LJ. The Biology of Pulp and Dentine. In: Myers HM (ed). *Monographs in oral science* (vol 8). Basel, Karger Publishers, 1980.
67. Bongenhielm U, Haegerstrand A, Theodorsson E, Fried K. Effects of neuropeptides on growth of cultivated rat molar pulp fibroblasts. *Regul Pept* 1995, 60 (2-3): 91-8.
68. Woodnutt D, Wager-Miller J, O'Neill P, Bothwell M, Byers M. Neurotrophin receptors and nerve growth factor are differentially expressed in adjacent nonneuronal cells of normal and injured tooth pulp. *Cell Tissue Res* 2000, 299 (2): 225-36.
69. Yamaguchi M, Kojima T, Kanekawa M, Aihara N, Nogimura A, Kasai K. Neuropeptides stimulate production of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α in human dental pulp cells. *Inflamm Res* 2004, 53 (5): 199-204.

70. Jontell M, Okiji T, Dahlgren U, Bergenholtz G. Immune defense mechanisms of the dental pulp. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998, 9 (2):179-200.
71. Okiji T, Kawashima N, Kosaka T, Matsumoto A, Kobayashi C, Suda H. An immunohistochemical study of the distribution of immunocompetent cells, especially macrophages and Ia antigen-expressing cells of heterogeneous populations, in normal rat molar pulp. *J Dent Res* 1992, 71 (5): 1196-202.
72. Hahn CL, Falkler WA, Siegel MA. A study of T and B cells in pulpal pathosis. *J Endod* 1989, 15 (1): 20-6.
73. Langeland K, Langeland L. Histologic study of 155 impacted teeth. *Odontol Tidskr* 1965, 73 (5): 527-49.
74. Sakurai K, Okiji T, Suda H. Co-increase of Nerve Fibers and HLA-DR and/or Factor-XIIIa-expressing Dendritic Cells in Dentinal Caries-affected Regions of the Human Dental Pulp: An Immunohistochemical Study. *J Dent Res* 1999, 78 (10): 1596-608.
75. Kumar G. *Orban's oral histology & embryology*, 13th ed. India, Elsevier Health Sciences, 2011: 93-100
76. Hand AR, Frank ME. Oral structures and tissues. In: Hand AR, Frank ME (eds). *Fundamentals of oral histology and physiology*, 1th ed. Pondicherry, John Wiley & sons, 2014: 5
77. Schwartz RS, Summitt JB, Robbins JW. *Fundamentals of Operative Dentistry: a Contemporary Approach*. Chicago, Quintessence Pub Co, 1996.
78. Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993, 4 (5): 679-728.
79. Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Begue-Kirn C, Ruch J-V, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Bio* 2003, 39 (1): 273-80.
80. Seltzer S, Bender I, Hargreaves K, Goodis H. *Seltzer and Benders Dental Pulp*, 1th ed. China, Quintessence, 2002: 50-316

81. Mente J, Geletneky B, Ohle M, Koch MJ, Ding PGF, Wolff D, Dreyhaupt J, Martin N, Staehle HJ, Pfefferle T. Mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide direct pulp capping: an analysis of the clinical treatment outcome. *J Endod* 2010, 36 (5): 806-13.
82. Li Z, Cao L, Fan M, Xu Q. Direct pulp capping with calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate: a meta-analysis. *J Endod* 2015, 41 (9): 1412-7.
83. Roberson T, Heymann HO, Swift Jr EJ. *Sturdevant's art and science of operative dentistry*, 5th ed. St. Louis, Elsevier Health Sciences, 2006.
84. Dawood AE, Parashos P, Wong RH, Reynolds EC, Manton DJ. Calcium silicate-based cements: composition, properties, and clinical applications. *J Investig Clin Dent* 2017, 8 (2): e12195.
85. Parolia A, Kundabala M, Rao N, Acharya S, Agrawal P, Mohan M, Thomas M. A comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with Propolis, mineral trioxide aggregate and Dycal. *Aust Dent J* 2010, 55 (1): 59-64.
86. Yoshimine Y, Maeda K. Histologic evaluation of tetracalcium phosphate-based cement as a direct pulp-capping agent. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995, 79 (3): 351-8.
87. Oguntebi B, Clark A, Wilson J. Pulp capping with Bioglass® and autologous demineralized dentin in miniature swine. *J Dent Res* 1993, 72 (2): 484-9.
88. Jaber L, Mascres C, Donohue WB. Electron microscope characteristics of dentin repair after hydroxylapatite direct pulp capping in rats. *J Oral Pathol Med* 1991, 20 (10): 502-8.
89. Ishizaki NT, Matsumoto K, Kimura Y, Wang X, Yamashita A. Histopathological study of dental pulp tissue capped with enamel matrix derivative. *J Endod* 2003, 29 (3): 176-9.
90. Decup F, Six N, Palmier B, Buch D, Lasfargues J, Salih E, Goldberg M. Bone sialoprotein-induced reparative dentinogenesis in the pulp of rat's molar. *Clin Oral Investig* 2000, 4 (2): 110-9.

91. Sasaki T, Kawamata-Kido H. Providing an environment for reparative dentine induction in amputated rat molar pulp by high molecular-weight hyaluronic acid. *Arch Oral Biol* 1995, 40 (3): 209-19.
92. Hu CC, Zhang C, Qian Q, Tatum NB. Reparative dentin formation in rat molars after direct pulp capping with growth factors. *J Endod* 1998, 24 (11): 744-51.
93. Schwartz RS, Mauger M, Clement DJ, WALKER III WA. Mineral trioxide aggregate: a new material for endodontics. *J Am Dent Assoc* 1999, 130 (7): 967-75.
94. Kanca III J. Replacement of a fractured incisor fragment over pulpal exposure: A long-term case report. *Quintessence Int (Berl)* 1996, 27: 829-832
95. About I, Camps J, Mitsiadis TA, Bottero MJ, Butler W, Franquin JC. Influence of resinous monomers on the differentiation in vitro of human pulp cells into odontoblasts. *J Biomed Mater Res* 2002, 63 (4): 418-23.
96. Goldberg M. *In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review.* *Clin Oral Investig* 2008, 12 (1): 1-8.
97. Silva GAB, Gava E, Lanza LD, Estrela C, Alves JB. Subclinical failures of direct pulp capping of human teeth by using a dentin bonding system. *J Endod* 2013, 39 (2): 182-9.
98. Tsuneda Y, Hayakawa T, Yamamoto H, Ikemi T, Nemoto K. A histopathological study of direct pulp capping with adhesive resins. *Oper Dent* 1995, 20: 223-229
99. Ölmez A, Öztaş N, Başak F, Sabuncuoğlu B. A histopathologic study of direct pulp-capping with adhesive resins. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998, 86 (1): 98-103.
100. Trope M, McDougal R, Levin L, May Jr KN, Swift Jr EJ. Capping the inflamed pulp under different clinical conditions. *J Esthet Restor Dent* 2002, 14 (6): 349-57.
101. Mestrener SR, Holland R, Dezan Jr E. Influence of age on the behavior of dental pulp of dog teeth after capping with an adhesive system or calcium hydroxide. *Dent Traumatol* 2003, 19 (5): 255-61.

102. de Souza Costa C, Hebling J, Hanks C. Current status of pulp capping with dentin adhesive systems: a review. *Dent Mater J* 2000, 16 (3): 188-97.
103. Olsson H, Petersson K, Rohlin M. Formation of a hard tissue barrier after pulp cappings in humans. A systematic review. *Int Endod J* 2006, 39 (6): 429-42.
104. Cui C, Zhou XN, Chen WM. Self-etching adhesives: possible new pulp capping agents to vital pulp therapy. *Front Med* 2011, 5 (1): 77-9.
105. Imazato S, Kuramoto A, Takahashi Y, Ebisu S, Peters MC. In vitro antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond. *Dent Mater J* 2006, 22 (6): 527-32.
106. Parthasarathy A, Kamat SB, Kamat M, Kidiyoor KH. Histological response of human pulps capped with calcium hydroxide and a self-etch adhesive containing an antibacterial component. *J Conserv Dent* 2016, 19 (3): 274.
107. Hilton T, Ferracane J, Mancl L, Dentistry NP-bRCiE-b. Comparison of CaOH with MTA for direct pulp capping: a PBRN randomized clinical trial. *J Dent Res* 2013, 92 (7): 16-22.
108. Hermann B. *Calciumhydroxyd als mittel zum behandein und fullen von zahnwurzelkanalen*. Univ Wurzburg Med Dissertation, 1920.
109. Tziafas D, Smith A, Lesot H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *J Dent* 2000, 28 (2): 77-92.
110. McWalter GM, El-Kafrawy AH, Mitchell DF. Long-term study of pulp capping in monkeys with three agents. *J Am Dent Assoc* 1976, 93 (1): 105-10.
111. Pitt Ford T. Pulpal response to Procal for capping exposures in dog's teeth. *Int Endod J* 1979, 12 (2): 67-72.
112. Isermann GT, Kaminski EJ. Pulpal response to minimal exposure in presence of bacteria and Dycal. *J Endod* 1979, 5 (11): 322-7.
113. Ford TP. Pulpal response to a calcium hydroxide material for capping exposures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985, 59 (2): 194-7.
114. Brännström M, Nyborg H, Strömberg T. Experiments with pulp capping. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979, 48 (4): 347-52.

115. Haskell E, Stanley HR, Chellemi J, Stringfellow H. Direct pulp capping treatment: a long-term follow-up. *J Am Dent Assoc* 1978, 97 (4): 607-12.
116. Heys D, Cox C, Heys R, Avery J. Histological considerations of direct pulp capping agents. *J Dent Res* 1981, 60 (7): 1371-9.
117. Cox CF, Bergenholtz G, Heys DR, Syed SA, Fitzgerald M, Heys RJ. Pulp capping of dental pulp mechanically exposed to oral microflora: a 1–2 year observation of wound healing in the monkey. *J Oral Pathol* 1985, 14 (2): 156-68.
118. Estrela C, Holland R. Calcium hydroxide: study based on scientific evidences. *J Appl Oral Sci* 2003, 11 (4): 269-82.
119. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Jr O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J.* 1995, 6 (2): 85-90.
120. Holland R, Nery M, Bernabe P, Otoboni JF. Permeability of the hard tissue bridge formed after pulpotomy with calcium hydroxide: a histologic study. *J Am Dent Assoc* 1979, 99 (3): 472-5
121. Franz F, Holz J, Baume L. Ultrastructure (SEM) of dentine bridging in the human dental pulp. *J Biol Buccale* 1984, 12 (3): 239-46
122. Cvek M, Granath L, Cleaton-Jones P, Austin J. Hard tissue barrier formation in pulpotomized monkey teeth capped with cyanoacrylate or calcium hydroxide for 10 and 60 minutes. *J Dent Res* 1987, 66 (6): 1166-74.
123. Kirk E, Meyer M. Morphology of the mineralizing front and observations of reparative dentine following induction and inhibition of dentinogenesis in the rat incisor. *Dent Traumatol* 1992, 8(5): 195-201.
124. Walton RE, Langeland K. Migration of materials in the dental pulp of monkeys. *J Endod* 1978, 4 (6): 167-77.
125. Mickenautsch S, Yengopal V, Banerjee A. Pulp response to resin-modified glass ionomer and calcium hydroxide cements in deep cavities: A quantitative systematic review. *Dent Mater J* 2010, 26 (8): 761-70.

126. Al-Sabri FA, El-Marakby AM, Qaid NM. Role of Mineral Trioxide Aggregate (MTA) and Calcium Hydroxide in Conservative Dentistry as Pulp Capping Material: A Review. *Am J Health Res* 2017, 5 (1): 1-6.
127. Graham L, Cooper PR, Cassidy N, Nor JE, Sloan AJ, Smith AJ. The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials* 2006, 27 (14): 2865-73.
128. Masterton J. The healing of wounds of the dental pulp. An investigation of the nature of the scar tissue and of the phenomena leading to its formation. *Dent Pract Dent Rec* 1966, 16 (9): 325-39.
129. Prosser H, Groffman D, Wilson A. The effect of composition on the erosion properties of calcium hydroxide cements. *J Dent Res* 1982, 61 (12): 1431-5.
130. Fava L, Saunders W. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. *Int Endod J* 1999, 32 (4): 257-82.
131. Goldberg M, Lacerda-Pinheiro S, Jegat N, Six N, Septier D, Priam F, Bonnefoix M, Tompkins K, Chardin H, Chardin H, Veis A, Poliard A. The impact of bioactive molecules to stimulate tooth repair and regeneration as part of restorative dentistry. *Dent Clin North Am* 2006, 50 (2): 277-98.
132. Murray PE, About I, Franquin JC, Remusat M, Smith AJ. Restorative pulpal and repair responses. *J Am Dent Assoc* 2001, 132 (4): 482-91.
133. Çalışkan M. Root canal instruments and root canal preparation methods. Endodontide tanı ve tedaviler İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. 2006:273-313.
134. Stanley HR, White CL, McCray L. The rate of tertiary (reparative) dentine formation in the human tooth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966, 21 (2): 180-9.
135. Snuggs HM, Cox CF, Powell CS, White KC. Pulpal healing and dentinal bridge formation in an acidic environment. *Quintessence Int* 1993, 24 (7): 501-10.
136. 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.
137. Torabinejad M, Hong C, McDonald F, Ford TP. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995, 21 (7): 349-53.

138. Asgary S, Parirokh M, Eghbal MJ, Brink F. A comparative study of white mineral trioxide aggregate and white Portland cements using X- ray microanalysis. *Aust Endod J* 2004, 30 (3): 89-92.
139. Asgary S, Parirokh M, Eghbal MJ, Brink F. Chemical differences between white and gray mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2005, 31 (2): 101-3
140. Dammaschke T, Gerth HU, Züchner H, Schäfer E. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. *Dent Mater J*. 2005, 21 (8): 731-8.
141. Camilleri J, Montesin F, Di Silvio L, Pitt Ford T. The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. *Int Endod J* 2005, 38 (11): 834-42.
142. Camilleri J, Montesin FE, Brady K, Sweeney R, Curtis RV, Ford TRP. The constitution of mineral trioxide aggregate. *Dent Mater J* 2005, 21 (4): 297-303.
143. 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.
144. Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2007, 40 (6): 462-70.
145. Oliveira MGd, Xavier CB, Demarco FF, Pinheiro ALB, Costa AT, Pozza DH. Comparative chemical study of MTA and Portland cements. *Braz Dent J* 2007, 18 (1): 3-7
146. Torabinejad M, White DJ. Tooth filling material and method of use. U.S. Patent No 5, 415, 547,1995.
147. Asgary S, Parirokh M, Eghbal MJ, Stowe S, Brink F. A qualitative X-ray analysis of white and grey mineral trioxide aggregate using compositional imaging. *J Mater Sci Mater Med* 2006, 17 (2): 187-91.
148. Belío-Reyes IA, Bucio L, Cruz-Chavez E. Phase composition of ProRoot mineral trioxide aggregate by X-ray powder diffraction. *J Endod* 2009, 35 (6): 875-8.

149. Kratchman SI. Perforation repair and one-step apexification procedures. *Dent Clin North Am* 2004, 48 (1): 291-307.
150. Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghoddusi 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.
151. Islam I, Chng H, Yap A. X- ray diffraction analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Int Endod J* 2006, 39 (3): 220-5.
152. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999, 25 (3): 197-205.
153. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J Endod* 2010, 36 (3): 400-13
154. Lessa FCR, Aranha AMF, Hebling J, Costa CADS. Cytotoxic effects of White-MTA and MTA-Bio cements on odontoblast-like cells (MDPC-23). *Braz Dent J* 2010, 21 (1): 24-31.
155. Parirokh M, Torabinejad M. Calcium silicate based cements. In: Torabinejad M (ed) *Mineral Trioxide Aggregate: Properties and Clinical Applications*, 1st ed. John Wiley & Sons, 2014: 291
156. Allahem Z. Physical Properties of Two Improved Experimental Root End-Filling Materials, MTA and Biodentine. Department of Oral Sciences. Master of science, Buffalo: State University of New York at Buffalo; 2013.
157. Watts JD, Holt DM, Beeson TJ, Kirkpatrick TC, Rutledge RE. Effects of pH and mixing agents on the temporal setting of tooth-colored and gray mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2007, 33 (8): 970-3.
158. Coomaraswamy KS, Lumley PJ, Hofmann MP. Effect of bismuth oxide radioopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA-like) system. *J Endod* 2007, 33 (3): 295-8.
159. Lee YL, Lee B-S, Lin FH, Lin AY, Lan WH, Lin CP. Effects of physiological environments on the hydration behavior of mineral trioxide aggregate. *Biomaterials*. 2004, 25 (5): 787-93

160. Storm B, Eichmiller FC, Tordik PA, Goodell GG. Setting expansion of gray and white mineral trioxide aggregate and Portland cement. *J Endod* 2008, 34 (1): 80-2.
161. 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.
162. Torabinejad M, Watson T, Ford TP. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod* 1993, 19 (12): 591-5.
163. Sluyk S, Moon P, Hartwell G. 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.
164. Hachmeister DR, Schindler WG, Walker III WA, Thomas DD. The sealing ability and retention characteristics of mineral trioxide aggregate in a model of apexification. *J Endod* 2002, 28 (5): 386-90.
165. Fridland M, Rosado R. Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. *J Endod* 2003, 29 (12): 814-7.
166. Aminoshariae A, Hartwell GR, Moon PC. Placement of mineral trioxide aggregate using two different techniques. *J Endod* 2003, 29 (10): 679-82.
167. Matt GD, Thorpe JR, Strother JM, McClanahan SB. Comparative study of white and gray mineral trioxide aggregate (MTA) simulating a one-or two-step apical barrier technique. *J Endod* 2004, 30 (12): 876-9.
168. Chng HK, Islam I, Yap AUJ, Tong YW, Koh ET. Properties of a new root-end filling material. *J Endod* 2005, 31 (9): 665-8.
169. Islam I, Chng HK, Yap AUJ. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and Portland cement. *J Endod* 2006, 32 (3): 193-7.
170. Walker MP, Diliberto A, Lee C. Effect of setting conditions on mineral trioxide aggregate flexural strength. *J Endod* 2006, 32 (4): 334-6.
171. Gancedo-Caravia L, Garcia-Barbero E. Influence of humidity and setting time on the push-out strength of mineral trioxide aggregate obturations. *J Endod* 2006, 32 (9): 894-6.

172. Danesh G, Dammaschke T, Gerth H, Zandbiglari T, Schäfer E. A comparative study of selected properties of ProRoot mineral trioxide aggregate and two Portland cements. *Int Endod J* 2006, 39 (3): 213-9.
173. Chogle S, Mickel A, Chan D, Huffaker K, Jones J. Intracanal assessment of mineral trioxide aggregate setting and sealing properties. *Gen Dent.* 2007, 55 (4): 306-11.
174. Nekoofar M, Adusei G, Sheykhrezae M, Hayes S, Bryant S, Dummer P. The effect of condensation pressure on selected physical properties of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2007, 40 (6): 453-61.
175. Holt DM, Watts JD, Beeson TJ, Kirkpatrick TC, Rutledge RE. The anti-microbial effect against enterococcus faecalis and the compressive strength of two types of mineral trioxide aggregate mixed with sterile water or 2% chlorhexidine liquid. *J Endod* 2007, 33 (7): 844-7.
176. Smith JB, Loushine RJ, Weller RN, Rueggeberg FA, Whitford GM, Pashley DH, Tay FR, Metrologic evaluation of the surface of white MTA after the use of two endodontic irrigants. *J Endod* 2007, 33 (4): 463-7.
177. Namazikhah M, Nekoofar MH, Sheykhrezae M, Salariyeh S, Hayes SJ, Bryant ST, Mohammadi MM, Dummer PMH. The effect of pH on surface hardness and microstructure of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2008, 41 (2): 108-16.
178. Saghiri MA, Lotfi M, Saghiri AM, Vosoughhosseini S, Fatemi A, Shiezadeh V, Ranjkesh B. Effect of pH on sealing ability of white mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 2008, 34 (10): 1226-9.
179. Wiltbank KB, Schwartz SA, Schindler WG. Effect of selected accelerants on the physical properties of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *J Endod* 2007, 33 (10): 1235-8.
180. Ber BS, Hatton JF, Stewart GP. Chemical modification of ProRoot MTA to improve handling characteristics and decrease setting time. *J Endod* 2007, 33 (10): 1231-4.
181. Huang T-H, Shie M-Y, Kao C-T, Ding S-J. The effect of setting accelerator on properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2008, 34 (5): 590-3.

182. Ding SJ, Kao CT, Shie MY, Hung Jr C, Huang TH. The physical and cytological properties of white MTA mixed with Na₂HPO₄ as an accelerant. *J Endod* 2008, 34 (6): 748-51.
183. Poggio C, Lombardini M, Alessandro C, Simonetta R. Solubility of Root-end-Filling Materials: A Comparative Study. *J Endod* 2007, 33 (9): 1094-7.
184. Shie M-Y, Huang T-H, Kao C-T, Huang C-H, Ding S-J. The effect of a physiologic solution pH on properties of white mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2009, 35 (1): 98-101.
185. Fridland M, Rosado R. MTA solubility: a long term study. *J Endod* 2005, 31 (5): 376-9.
186. 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.
187. Kayahan M, Nekoofar MH, Kazandağ M, Canpolat C, Malkondu O, Kaptan F, Dummer PMH. Effect of acid-etching procedure on selected physical properties of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2009, 42 (11): 1004-14.
188. Lee YL, Lin F-H, Wang W-H, Ritchie H, Lan W-H, Lin C-P. Effects of EDTA on the hydration mechanism of mineral trioxide aggregate. *J Dent Res* 2007, 86 (6): 534-8.
189. Rajasekharan S, Martens L, Cauwels R, Verbeeck R. Biodentine™ material characteristics and clinical applications: a review of the literature. *Eur Arch Paediatr Dent* 2014, 15 (3): 147-58.
190. Park JW, Hong SH, Kim JH, Lee SJ, Shin SJ. X-Ray diffraction analysis of white ProRoot MTA and Diadent BioAggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;109(1):155-8.
191. Yuan Z, Peng B, Jiang H, Bian Z, Yan P. Effect of bioaggregate on mineral-associated gene expression in osteoblast cells. *J Endod* 2010, 36 (7): 1145-8.
192. A Lewis B, O Burgess J, E Gray S. Mechanical properties of dental base materials. *Am J Dent* 1992, 5 (2): 69-72

193. Gandolfi M, Siboni F, Prati C. Chemical–physical properties of TheraCal, a novel light-curable MTA-like material for pulp capping. *Int Endod J* 2012, 45 (6): 571-9.
194. Camilleri J. Hydration characteristics of Biodentine and Theracal used as pulp capping materials. *Dent Mater J* 2014, 30 (7): 709-15.
195. Qureshi A, Soujanya E, Nandakumar P. Recent advances in pulp capping materials: an overview. *J Clin Diagn Res* 2014, 8 (1): 316.
196. Sarkar N, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2005, 31 (2): 97-100.
197. Madfa AA, Al-Sanabani FA, Al-Kudami NHA-Q. Endodontic repair filling materials: A review article. *Br J Med Med Res* 2014, 4 (16): 3059.
198. Novoselov KS, Geim AK, Morozov SV, Jiang D, Zhang Y, Dubonos SV, Grigorieva IV, Firsov AA. Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science* 2004, 306 (5696): 666-9.
199. Li D, Kaner RB. Graphene-based materials. *Nat Nanotechnol.* 2008, 3: 101.
200. Kudin KN, Ozbas B, Schniepp HC, Prud'Homme RK, Aksay IA, Car R. Raman spectra of graphite oxide and functionalized graphene sheets. *Nano Lett* 2008, 8 (1): 36-41.
201. Elias DC, Nair RR, Mohiuddin TMG, Morozov SV, Blake P, Halsall MP, Ferrari AC, Boukhalov DW, Katsnelson MI, Geim AK, Novoselov KS. Control of graphene's properties by reversible hydrogenation: evidence for graphane. *Science* 2009, 323 (5914): 610-3.
202. Morozov S, Novoselov K, Katsnelson M, Schedin F, Elias D, Jaszczak JA, Geim A.K. Giant intrinsic carrier mobilities in graphene and its bilayer. *Phys Rev Lett* 2008, 100 (1): 016602.
203. Zhou SY, Gweon G-H, Fedorov A, First P, de, De Heer W, Lee DH, Guinea F, Castro Neto AH, Lanzara A. Substrate-induced bandgap opening in epitaxial graphene. *Nat mater* 2007, 6 (10): 770-5.

204. Balandin AA, Ghosh S, Bao W, Calizo I, Teweldebrhan D, Miao F, Miao F, Lau CN. Superior thermal conductivity of single-layer graphene. *Nano Lett* 2008 8 (3): 902-7.
205. Jung I, Dikin DA, Piner RD, Ruoff RS. Tunable electrical conductivity of individual graphene oxide sheets reduced at “low” temperatures. *Nano Lett* 2008, 8 (12): 4283-7.
206. Li X, Wang X, Zhang L, Lee S, Dai H. Chemically derived, ultrasmooth graphene nanoribbon semiconductors. *Science* 2008, 319 (5867): 1229-32.
207. Geim AK. Graphene: status and prospects. *Science* 2009, 324 (5934): 1530-4.
208. Novoselov KS, Geim A. The rise of graphene. *Nat Mater.* 2007, 6 (3): 183-91.
209. Kakran M, Li L. Carbon nanomaterials for drug delivery. *Key Eng Mater* 2012, 508: 76-80
210. Mao HY, Laurent S, Chen W, Akhavan O, Imani M, Ashkarran AA, Mahmoudi M. Graphene: promises, facts, opportunities, and challenges in nanomedicine. *Chem Rev* 2013, 113 (5): 3407-24.
211. Pelin M, Sosa S, Prato M, Tubaro A. Occupational exposure to graphene based nanomaterials: risk assessment. *Nanoscale* 2018, 10 (34): 15894-903.
212. Ray SC. Application and uses of graphene oxide and reduced graphene oxide. In: Ray SC (ed). *Applications of Graphene and Graphene-Oxide Based Nanomaterials*, 1th ed. Elsevier, 2015: 39-55.
213. Papageorgiou DG, Kinloch IA, Young RJ. Graphene/elastomer nanocomposites. *Carbon NY* 2015, 95: 460-84.
214. Laurenzi S, Santonicola M.G. Impact response of advanced composite structures reinforced by carbon nanoparticles. In: Lopresto V, Langella A, Abrate S (eds). *Dynamic Response and Failure of Composite Materials and Structures*, 1th ed. Elsevier, 2017: 217-35.
215. Meng Q, Araby S, Ma J. Toughening mechanisms in epoxy/graphene platelets composites. In: Qin Q, Ye J (eds). *Toughening Mechanisms in Composite Materials*, 1th ed. Elsevier, 2015: 73-112.

216. Eizenberg M, Blakely J. Carbon monolayer phase condensation on Ni (111). *Surf Sci* 1979, 82 (1): 228-36.
217. Berger C, Song Z, Li T, Li X, Ogbazghi AY, Feng R, Dai Z, Marchenkov AN, Conrad EH, First PN, De Heer WA. Ultrathin epitaxial graphite: 2D electron gas properties and a route toward graphene-based nanoelectronics. *J Phys Chem B* 2004, 108 (52): 19912-6.
218. Boehm H, Eckel M, Scholz W. Untersuchungen am Graphitoxid V. Über den Bildungsmechanismus des Graphitoxids. *Z Anorg Allg Chem* 1967, 353 (5- 6): 236-42.
219. Stankovich S, Piner RD, Chen X, Wu N, Nguyen ST, Ruoff RS. Stable aqueous dispersions of graphitic nanoplatelets via the reduction of exfoliated graphite oxide in the presence of poly (sodium 4-styrenesulfonate). *J Mater Chem* 2006, 16 (2): 155-8.
220. Boehm HP, Clauss A, Fischer G, Hofmann U. Das adsorptionsverhalten sehr dünner kohlenstoff- folien. *J Mater Chem* 1962, 316 (3- 4): 119-27.
221. Brodie B. Sur le poids atomique du graphite. *Ann Chim Phys* 1860, 59(466): e472.
222. LI L, LI G, LI Y, GAO J, XU C. Preparation of graphene from graphite by supercritical CO₂ exfoliation assisted with fluid shear. *Chin Sci Bull* 2015, 60 (26): 2561-6.
223. Hummers Jr WS, Offeman RE. Preparation of graphitic oxide. *J Am Chem Soc* 1958, 80 (6): 1339
224. McAllister MJ, Li JL, Adamson DH, Schniepp HC, Abdala AA, Liu J, et al. Single sheet functionalized graphene by oxidation and thermal expansion of graphite. *Chem Mater*. 2007, 19 (18): 4396-404.
225. Stankovich S, Dikin DA, Dommett GH, Kohlhaas KM, Zimney EJ, Stach EA, Piner RD, Nguyen ST, Ruoff RS. Graphene-based composite materials. *Nature* 2006, 442 (7100): 282-6.
226. Xie H, Chua M, Islam I, Bentini R, Cao T, Viana-Gomes JC, Neto AHC, Rosa V. CVD-grown monolayer graphene induces osteogenic but not odontoblastic differentiation of dental pulp stem cells. *Dent Mater J* 2017, 33 (1): 13-21

227. Lee WC, Lim CHY, Shi H, Tang LA, Wang Y, Lim CT, Loh KP. Origin of enhanced stem cell growth and differentiation on graphene and graphene oxide. *ACS nano* 2011, 5 (9): 7334-41.
228. Xie H, Cao T, Gomes JV, Neto AnHC, Rosa V. Two and three-dimensional graphene substrates to magnify osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells. *Carbon NY* 2015, 93: 266-75.
229. Xie H, Cao T, Rodríguez-Lozano FJ, Luong-Van EK, Rosa V. Graphene for the development of the next-generation of biocomposites for dental and medical applications. *Dent Mater J* 2017, 33 (7): 765-74.
230. Li J, Wang G, Geng H, Zhu H, Zhang M, Di Z, Liu X, Chu PK, Wang X. CVD growth of graphene on NiTi alloy for enhanced biological activity. *ACS Appl Mater Interfaces* 2015, 7 (36): 19876-81.
231. Dubey N, Ellepola K, Decroix FE, Morin JL, Castro Neto A, Seneviratne CJ, Rosa V. Graphene onto medical grade titanium: an atom-thick multimodal coating that promotes osteoblast maturation and inhibits biofilm formation from distinct species. *Nanotoxicology* 2018, 12 (4): 274-89.
232. Nayak TR, Andersen H, Makam VS, Khaw C, Bae S, Xu X, Ee PL, Ahn JH, Hong BH, Pastorin G, Özyilmaz B. Graphene for controlled and accelerated osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *ACS nano* 2011, 5 (6): 4670-8.
233. Dubey N, Bentini R, Islam I, Cao T, Castro Neto AH, Rosa V. Graphene: a versatile carbon-based material for bone tissue engineering. *Stem Cells Int* 2015: 2015.
234. Kusuma GD, Carthew J, Lim R, Frith JE. Effect of the microenvironment on mesenchymal stem cell paracrine signaling: opportunities to engineer the therapeutic effect. *Stem Cells Dev* 2017, 26 (9): 617-31.
235. Crowder SW, Prasai D, Rath R, Balikov DA, Bae H, Bolotin KI, Sung HJ. Three-dimensional graphene foams promote osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Nanoscale* 2013, 5 (10): 4171-6.
236. Reid IR. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2000, 14(2): 279-98.

237. Yang K, Feng L, Liu Z. Stimuli responsive drug delivery systems based on nano-graphene for cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2016, 105: 228-41.
238. Patel SC, Lee S, Lalwani G, Suhrland C, Chowdhury SM, Sitharaman B. Graphene-based platforms for cancer therapeutics. *Ther deliv* 2016, 7 (2): 101-16.
239. Tonelli FM, Goulart VA, Gomes KN, Ladeira MS, Santos AK, Lorençon E, Ladeira LO, Resende RR. Graphene-based nanomaterials: biological and medical applications and toxicity. *Nanomedicine(Lond)* 2015, 10 (15): 2423-50.
240. Yang Y, Asiri AM, Tang Z, Du D, Lin Y. Graphene based materials for biomedical applications. *Mater Today* 2013, 16 (10): 365-73.
241. Abdelhamid HN, Wu HF. A method to detect metal–drug complexes and their interactions with pathogenic bacteria via graphene nanosheet assist laser desorption/ionization mass spectrometry and biosensors. *Anal Chim Acta* 2012, 751: 94-104.
242. Manikandan M, Abdelhamid HN, Talib A, Wu HF. Facile synthesis of gold nano-hexagons on graphene templates in Raman spectroscopy for biosensing cancer and cancer stem cells. *Biosens Bioelectron* 2014, 55: 180-6.
243. Gong P, Guo L, Pang M, Wang D, Sun L, Tian Z, Li J, Zhang Y, Liu Z. Nano-sized paramagnetic and fluorescent fluorinated carbon fiber with high NIR absorbance for cancer chemo-photothermal therapy. *J Mater Chem B*. 2018, 6 (19): 3068-77
244. Gong P, Ji S, Wang J, Dai D, Wang F, Tian M, Zhang L, Guo F, Liu Z. Fluorescence-switchable ultrasmall fluorinated graphene oxide with high near-infrared absorption for controlled and targeted drug delivery. *Chem Eng J* 2018, 348: 438-46.
245. Gong P, Zhao Q, Dai D, Zhang S, Tian Z, Sun L, Ren J, Liu Z. Functionalized ultrasmall fluorinated graphene with high NIR absorbance for controlled delivery of mixed anticancer drugs. *Chemistry* 2017, 23 (69): 17531-41.
246. Jaidev L, Kumar S, Chatterjee K. Multi-biofunctional polymer graphene composite for bone tissue regeneration that elutes copper ions to impart angiogenic, osteogenic and bactericidal properties. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2017, 159: 293-302.

247. Wang Q, Chu Y, He J, Shao W, Zhou Y, Qi K, Wang L, Cui S. A graded graphene oxide-hydroxyapatite/silk fibroin biomimetic scaffold for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2017, 80: 232-42.
248. Feng L, Wu L, Qu X. New horizons for diagnostics and therapeutic applications of graphene and graphene oxide. *Adv Mater* 2013, 25 (2): 168-86.
249. Abdelhamid HN, Wu HF. Multifunctional graphene magnetic nanosheet decorated with chitosan for highly sensitive detection of pathogenic bacteria. *J Mater Chem B* 2013, 1 (32): 3950-61.
250. Khan MS, Abdelhamid HN, Wu H-F. Near infrared (NIR) laser mediated surface activation of graphene oxide nanoflakes for efficient antibacterial, antifungal and wound healing treatment. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2015, 127: 281-91.
251. Wu BS, Abdelhamid HN, Wu HF. Synthesis and antibacterial activities of graphene decorated with stannous dioxide. *RSC adv* 2014, 4 (8): 3722-31.
252. Abdelhamid HN, Wu BS, Wu HF. Graphene coated silica applied for high ionization matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry: A novel approach for environmental and biomolecule analysis. *Talanta* 2014, 126: 27-37.
253. Georgakilas V, Tiwari JN, Kemp KC, Perman JA, Bourlinos AB, Kim KS, Zboril R. Noncovalent functionalization of graphene and graphene oxide for energy materials, biosensing, catalytic, and biomedical applications. *Chem Rev* 2016, 116 (9): 5464-519.
254. Abdelhamid HN, Wu HF. Ultrasensitive, rapid, and selective detection of mercury using graphene assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2014, 25 (5): 861-8.
255. Abdelhamid HN, Wu HF. Synthesis of a highly dispersive sinapinic acid@ graphene oxide (SA@ GO) and its applications as a novel surface assisted laser desorption/ionization mass spectrometry for proteomics and pathogenic bacteria biosensing. *Analyst* 2015, 140 (5): 1555-65.
256. Wu X, Ding S-J, Lin K, Su J. A review on the biocompatibility and potential applications of graphene in inducing cell differentiation and tissue regeneration. *J Phys Chem B* 2017, 5 (17): 3084-102.

257. Holt BD, Wright ZM, Arnold AM, Sydlik SA. Graphene oxide as a scaffold for bone regeneration. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2017, 9 (3):e1437.
258. He J, Zhu X, Qi Z, Wang C, Mao X, Zhu C, He Z, Li M, Tang Z. Killing dental pathogens using antibacterial graphene oxide. *ACS Appl Mater Interfaces* 2015, 7 (9): 5605-11.
259. Kulshrestha S, Khan S, Meena R, Singh BR, Khan AU. A graphene/zinc oxide nanocomposite film protects dental implant surfaces against cariogenic *Streptococcus mutans*. *Biofouling* 2014, 30 (10): 1281-94.
260. Breckta A, Greenstock C, Tambo M. Advances on oxygen radicals, and radioprotectors. Mavelli I, Ratalio G *Enzymatic Protection Against Intracellular Oxidative Processes*. Bologna, 1984: 65-80
261. Proctor PH, Reynolds ES. Free radicals and disease in man. *Physiol Chem Phys Med NMR* 1984, 16(3): 175-95.
262. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991, 11 (1): 81-128.
263. Halliwell B. Drug antioxidant effects. *Drugs* 1991, 42 (4): 569-605.
264. Akkuş İ. *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, 1. baskı. Konya, Mimoza Yayınları, 1995: 32.
265. Burtis CA, Ashwood ER, Tietz W. *Tietz textbook of clinical chemistry*, 3rd ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1999.
266. Loughrey C, Young I, Lightbody J, McMaster D, McNamee P, Trimble E. Oxidative stress in haemodialysis. *QJM* 1994, 87 (11): 679-83.
267. MacKinnon KL, Molnar Z, Lowe D, Watson ID, Shearer E. Measures of total free radical activity in critically ill patients. *Clin Biochem* 1999, 32(4): 263-8.
268. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004, 37 (2): 112-9.

269. Shen Y, Peng B, Yang Y, Ma J, Haapasalo M. What do different tests tell about the mechanical and biological properties of bioceramic materials?. *Endod Topics* 2015, 32 (1): 47-85.
270. Rueggeberg F, Craig R. Correlation of parameters used to estimate monomer conversion in a light-cured composite. *J Dent Res* 1988, 67 (6): 932-7.
271. Zhou X, Li Y. *Atlas of Oral Microbiology: From Healthy Microflora to Disease* 1th ed. USA, Academic Press, 2015: 29
272. Hafner B. Energy dispersive spectroscopy on the SEM: a primer. Characterization Facility, University of Minnesota, http://www.charfac.umn.edu/instruments/eds_on_sem_primer.pdf 14 Mayıs 2019
273. Polini A, Yang F. Physicochemical characterization of nanofiber composites. In: Ramalingam M, Ramakrishna S (eds). *Nanofiber Composites for Biomedical Applications*, 1th ed. Elsevier, 2017: 97-115.
274. Kohli R. Methods for monitoring and measuring cleanliness of surfaces. In: Kohli R, Mittal KL (eds) . *Developments in Surface Contamination and Cleaning*, 1th ed. Elsevier, 2012: 107-78.
275. Kümmerle M, Scherer S, Seiler H. Rapid and reliable identification of food-borne yeasts by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Appl Environ Microbiol* 1998, 64 (6): 2207-14.
276. Akçayöz D, Köken K, Kunt G, Müldür İB, Saykal SG. Elektron mikroskobun tipta kullanım alanlari, http://tip.baskent.edu.tr/kw/upload/464/dosyalar/_cg/sempozyum/ogrsmpzsnm12/11.2.pdf 20 Mayıs 2019
277. Kebukawa Y, Nakashima S, Otsuka T, Nakamura- Messenger K, Zolensky ME. Rapid contamination during storage of carbonaceous chondrites prepared for micro FTIR measurements. *Meteorit Planet Sci* 2009, 44 (4): 545-57.
278. Hosseinzade M, Soflou RK, Valian A, Nojehdehian H. Physicochemical properties of MTA, CEM, hydroxyapatite and nano hydroxyapatite-chitosan dental cements. *Biomed Res* 2016, 27 (2): 442-8.
279. Priyadarshini BM , Selvan ST, Narayanan K, Fawzy AS. Characterization of Chlorhexidine-Loaded Calcium-Hydroxide Microparticles as a Potential Dental Pulp-Capping Material. *Bioengineering (Basel)* 2017, 4 (3): 59.

280. Bergenholtz G, Mjör I, Cotton W, Hanks C, Kim S, Torneck C, et al. Consensus report. *J Dent Res* 1985, 64 (4): 631-3.
281. Pashley DH. Dynamics of the pulpo-dentin complex. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996, 7 (2): 104-33.
282. Zander HA, Glass RL. The healing of phenolized pulp exposures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005, 100: 97-101.
283. Bergenholtz G. Advances since the paper by Zander and Glass (1949) on the pursuit of healing methods for pulpal exposures: historical perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005, 100 (2): 102-8.
284. Morotomi T, Washio A, Kitamura C. Current and future options for dental pulp therapy. *Jpn Dent Sci Rev* 2019, 55 (1): 5-11.
285. Pereira JC, Segala AD, Costa C. Human pulpal response to direct pulp capping with an adhesive system. *Am J Dent* 2000, 13 (3): 139-47.
286. Cox CF, Tarim B, Kopel H, Gürel G, Hafez A. Technique sensitivity: biological factors contributing to clinical success with various restorative materials. *Adv Dent Res* 2001, 15 (1): 85-90.
287. Kitasako Y, Ikeda M, Tagami J. Pulpal responses to bacterial contamination following dentin bridging beneath hard- setting calcium hydroxide and self-etching adhesive resin system. *Dent Traumatol* 2008, 24 (2): 201-6.
288. Almushayt A, Narayanan K, Zaki A, George A. Dentin matrix protein 1 induces cytodifferentiation of dental pulp stem cells into odontoblasts. *Gene ther* 2006, 13 (7): 611-20.
289. Goldberg M, Six N, Decup F, Lasfargues JJ, Salih E, Tompkins K, Veis A. Bioactive molecules and the future of pulp therapy. *Am J Dent* 2003, 16 (1): 66-76.
290. Duda S, Dammaschke T. Maßnahmen zur Vitalerhaltung der Pulpa. Gibt es Alternativen zum Kalziumhydroxid bei der direkten Überkappung. *Quintessenz* 2008, 59 (12): 1327-34.
291. Camilleri J. Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2008, 41 (5): 408-17.

292. Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod* 2010, 36 (2): 190-202.
293. Camilleri J, Pitt Ford T. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. *Int Endod J* 2006, 39 (10): 747-54.
294. Faraco IM, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol* 2001, 17 (4): 163-6.
295. Eskandarizadeh A, Shahpasandzadeh MH, Shahpasandzadeh M, Torabi M, Parirokh M. A comparative study on dental pulp response to calcium hydroxide, white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents. *J Conserv Dent* 2011, 14 (4): 351.
296. Min KS, Park HJ, Lee SK, Park SH, Hong CU, Kim HW, Lee HH, Kim EC. Effect of mineral trioxide aggregate on dentin bridge formation and expression of dentin sialoprotein and heme oxygenase-1 in human dental pulp. *J Endod* 2008, 34 (6): 666-70.
297. Colceriu L, Cimpean S, Pop A, Moldovan M, Colceriu A. Using mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide as pulp-capping materials. *Eur Cells Mater* 2005, 10 (Suppl 1):1473-2262.
298. Iwamoto CE, Adachi E, Pameijer CH, Barnes D, Romberg E, Jefferies S. Clinical and histological evaluation of white ProRoot MTA in direct pulp capping. *Am J Dent* 2006, 19 (2): 85.
299. Accorinte ML, Loguercio AD, Reis A, Carneiro E, Grande RH, Murata SS, Holland R. Response of human dental pulp capped with MTA and calcium hydroxide powder. *Oper dent* 2008, 33 (5): 488-95.
300. Woehrlen AE. Evaluation of techniques and materials used in pulpal therapy based on a review of the literature: part I. *J Am Dent Assoc* 1977, 95 (6): 1154-8.
301. Gandolfi MG, Shah SN, Feng R, Prati C, Akintoye SO. Biomimetic calcium-silicate cements support differentiation of human orofacial mesenchymal stem cells. *J Endod* 2011, 37 (8): 1102-8.

302. Gu M, Liu Y, Chen T, Du F, Zhao X, Xiong C, Zhou Y. Is graphene a promising nano-material for promoting surface modification of implants or scaffold materials in bone tissue engineering? *Tissue Eng Part B Rev* 2014, 20 (5): 477-91.
303. Hasanzadeh M, Pournaghi-Azar MH, Shadjou N, Jouyban A. A new mechanistic approach to elucidate furosemide electrooxidation on magnetic nanoparticles loaded on graphene oxide modified glassy carbon electrode. *RSC Adv* 2014, 4 (13): 6580-90.
304. Kalbacova M, Broz A, Kong J, Kalbac M. Graphene substrates promote adherence of human osteoblasts and mesenchymal stromal cells. *Carbon N Y*. 2010, 48 (15): 4323-9.
305. Kim S, Ku SH, Lim SY, Kim JH, Park CB. Graphene–biomineral hybrid materials. *Adv Mater* 2011, 23 (17): 2009-14.
306. Liu CH, Huang TH, Hung CJ, Lai WY, Kao CT, Shie MY. The synergistic effects of fibroblast growth factor- 2 and mineral trioxide aggregate on an osteogenic accelerator in vitro. *Int Endod J* 2014, 47 (9): 843-53.
307. Mehrali M, Moghaddam E, Shirazi SFS, Baradaran S, Mehrali M, Latibari ST, Metselaar HNC, Kadri NA, Zandi K, Osman NAA. Synthesis, mechanical properties, and in vitro biocompatibility with osteoblasts of calcium silicate–reduced graphene oxide composites. *ACS Appl Mater Interfaces* 2014, 6 (6): 3947-62.
308. Zancanela DC, de Faria AN, Simão AMS, Gonçalves RR, Ramos AP, Ciancaglini P. Multi and single walled carbon nanotubes: effects on cell responses and biomineralization of osteoblasts cultures. *J Mater Sci Mater Med* 2016, 27 (3): 62.
309. Seonwoo H, Jang KJ, Lee D, Park S, Lee M, Park S, Lim KT7, Kim J8, Chung JH. Neurogenic Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells on Graphene-Polycaprolactone Hybrid Nanofibers. *Nanomaterials (Basel)* 2018, 8 (7): 554.
310. da Rosa WL, Cocco AR, Silva TMD, Mesquita LC, Galarca AD, Silva AFd, Piva E. Current trends and future perspectives of dental pulp capping materials: A systematic review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2018, 106 (3): 1358-68.
311. Hanks CT, Wataha JC, Sun Z. In vitro models of biocompatibility: a review. *Dent Mater J* 1996, 12 (3): 186-93.

312. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials—advantages and limitations. *J Dent* 1994, 22: 6-11.
313. Polyzois GL. In vitro evaluation of dental materials. *Clin Mater* 1994, 16 (1): 21-60.
314. Uzun İH, Bayındır F. *Dental materyallerin biyouyumluluk test yöntemleri. Gazi Üniv Diş Hek. Fak. Derg.* 2011, 28 (2): 115-22.
315. Hall PA, Watt FM. Stem cells: the generation and maintenance of cellular diversity. *Development* 1989, 106 (4): 619-33.
316. Gutiérrez-Venegas G, Maldonado-Frías S, Ontiveros-Granados A, Kawasaki-Cárdenas P. Role of p38 in nitric oxide synthase and cyclooxygenase expression, and nitric oxide and PGE2 synthesis in human gingival fibroblasts stimulated with lipopolysaccharides. *Life Sci* 2005, 77 (1): 60-73.
317. Letzelter C, Croute F, Pianezzi B, Roques C, Soleilhavoup JP. Supernatant cytotoxicity and proteolytic activity of selected oral bacteria against human gingival fibroblasts in vitro. *Arch Oral Biol* 1998, 43 (1): 15-23.
318. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983, 65 (1-2): 55-63.
319. Poggio C, Ceci M, Beltrami R, Dagna A, Colombo M, Chiesa M. Biocompatibility of a new pulp capping cement. *Ann Stomatol (Roma)* 2014, 5 (2): 69-76.
320. Vahey JW, Simonian PT. Carcinogenicity and metallic implants. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)* 1995, 24 (4): 319-24.
321. Pereira J, Bramante CM, Berbert A, Mondelli J. Effect of calcium hydroxide in powder or in paste form on pulp-capping procedures: histopathologic and radiographic analysis in dog's pulp. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980, 50 (2): 176-86.
322. Lombardi T, Di Felice R, Muhlhauser J. Analysis of pH variation of various calcium hydroxide compounds in vitro. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol* 1991, 34 (2): 73-8.

323. De Freitas J. Characterization and aqueous extraction of calcium hydroxide materials. *Aust Dent J* 1982, 27 (6): 352-6.
324. Poggio C, Ceci M, Dagna A, Beltrami R, Colombo M, Chiesa M.. *Arh Hig Rada Toksikol* 2015, 66 (3): 181-7.
325. Hirschman WR, Wheeler MA, Bringas JS, Hoen MM. Cytotoxicity comparison of three current direct pulp-capping agents with a new bioceramic root repair putty. *J Endod* 2012, 38 (3): 385-8.
326. Silva E, Herrera D, Almeida J, Ferraz C, Gomes B, Zaia A. Evaluation of cytotoxicity and up- regulation of gelatinases in fibroblast cells by three root repair materials. *Int Endod J* 2012, 45 (9): 815-20.
327. Borges de Menezes JVN, Takamori ER, Borro Bijella MFT, Granjeiro JM. In vitro toxicity of MTA compared with other primary teeth pulpotomy agents. *J Clin Pediatr Dent* 2009, 33 (3): 217-22.
328. Agarwal S, Zhou X, Ye F, He Q, Chen GC, Soo J, Boey F, Zhang H, Chen P. Interfacing live cells with nanocarbon substrates. *Langmuir* 2010, 26 (4): 2244-7.
329. Gandolfi MG, Ciapetti G, Taddei P, Perut F, Tinti A, Cardoso MV, Meerbeek BV, Prati C. Apatite formation on bioactive calcium-silicate cements for dentistry affects surface topography and human marrow stromal cells proliferation. *Dent Mater J* 2010, 26 (10): 974-92.
330. Mehrali M, Moghaddam E, Shirazi SFS, Baradaran S, Mehrali M, Latibari ST, Metselar HSC, Kadri NA, Zhandi K, Osman NAA. Mechanical and in vitro biological performance of graphene nanoplatelets reinforced calcium silicate composite. *PLoS One*. 2014 9 (9): e106802.
331. Zhou Q, Yang P, Li X, Liu H, Ge S. Bioactivity of periodontal ligament stem cells on sodium titanate coated with graphene oxide. *Sci Rep* 2016, 6: 19343.
332. Zhang Y, Ali SF, Dervishi E, Xu Y, Li Z, Casciano D, Bris AS. Cytotoxicity effects of graphene and single-wall carbon nanotubes in neural pheochromocytoma-derived PC12 cells. *ACS nano*. 2010, 4 (6): 3181-6.
333. Chang Y, Yang ST, Liu JH, Dong E, Wang Y, Cao A, Liu Y, Wang H. In vitro toxicity evaluation of graphene oxide on A549 cells. *Toxicol Lett* 2011, 200 (3): 201-10.

334. Sasidharan A, Panchakarla LS, Chandran P, Menon D, Nair S, Rao CN, Koyakutty M. Differential nano-bio interactions and toxicity effects of pristine versus functionalized graphene. *Nanoscale* 2011, 3 (6): 2461-4.
335. Kenry LW, Loh KP, Lim CT. When stem cells meet graphene: opportunities and challenges in regenerative medicine. *Biomaterials* 2018, 155: 236-50.
336. Park EJ, Lee G-H, Han BS, Lee BS, Lee S, Cho MH, Kim JH, Kim DW. Toxic response of graphene nanoplatelets in vivo and in vitro. *Arch Toxicol* 2015, 89 (9): 1557-68.
337. Kim J, Kim YR, Kim Y, Lim KT, Seonwoo H, Park S, Cho SP, Hong BH, Choung PH, Chung TD, Choung YH, Chung JH. Graphene-incorporated chitosan substrata for adhesion and differentiation of human mesenchymal stem cells. *J Mater Chem B* 2013, 1 (7): 933-8.
338. Akhavan O, Ghaderi E, Akhavan A. Size-dependent genotoxicity of graphene nanoplatelets in human stem cells. *Biomaterials* 2012, 33 (32): 8017-25.
339. Akhavan O, Ghaderi E, Emamy H, Akhavan F. Genotoxicity of graphene nanoribbons in human mesenchymal stem cells. *Carbon N Y* 2013, 54: 419-31.
340. Pelin M, Fusco L, León V, Martín C, Criado A, Sosa S, Vasquez E, Tubaro A, Prato M. Differential cytotoxic effects of graphene and graphene oxide on skin keratinocytes. *Sci Rep* 2017, 7: 40572.
341. Maridonneau I, Braquet P, Garay RP. Na⁺ and K⁺ transport damage induced by oxygen free radicals in human red cell membranes. *J Biol Chem* 1983, 258 (5): 3107-13.
342. Chapple I. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol* 1997, 24 (5): 287-96.
343. Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999, 10 (4): 458-76.
344. Kotan D, Deniz O, Aygül R, Erel Ö, Akçay F. Relationship between serum and cerebrospinal fluid oxidative stress index and the infarct volume in patients with acute ischemic stroke. *Turkiye Klinikleri J Med Sci.* 2013, 33 (3): 630-4.

345. Yang K, Li Y, Tan X, Peng R, Liu Z. Behavior and toxicity of graphene and its functionalized derivatives in biological systems. *Small* 2013, 9 (9- 10): 1492-503.
346. Pendyala G, Thomas B, Joshi SR. Evaluation of total antioxidant capacity of saliva in type 2 diabetic patients with and without periodontal disease: a case-control study. *N Am J Med Sci* 2013, 5 (1): 51
347. Zeidán- Chuliá F, Neves de Oliveira BH, Gursoy M, Könönen E, Fonseca Moreira JC, Gursoy UK, Uitto VJ. MMP- REDOX/NO Interplay in Periodontitis and Its Inhibition with *Satureja hortensis* L. Essential Oil. *Chem Biodivers* 2013, 10 (4): 507-23.
348. Baltacıoğlu E, Kehribar MA, Yuva P, Alver A, Atagün ÖS, Karabulut E, Akalın FE. Total oxidant status and bone resorption biomarkers in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Periodontol* 2014, 85 (2): 317-26.
349. William J, O'Brien W. *Dental materials and their selection*, 2nd ed. Chicago, Quintessence book, 1997:16.
350. Sethuram D, Koppad PG, Shetty H, Alipour M, Kord S. Characterization of graphene reinforced Al-Sn nanocomposite produced by mechanical alloying and vacuum hot pressing. *Mater Today Proc* 2018, 5 (11): 24505-14.
351. Du H, Dai Pang S. Dispersion and stability of graphene nanoplatelet in water and its influence on cement composites. *Constr Build Mater* 2018, 167: 403-13.
352. Xie Y, Li H, Ding C, Zheng X, Li K. Effects of graphene plates' adoption on the microstructure, mechanical properties, and in vivo biocompatibility of calcium silicate coating. *Int J Nanomedicine* 2015, 10: 3855.
353. Singh AK. *Engineered Nanoparticles: Structure, Properties and Mechanisms of Toxicity*, 1th ed. Boston, Elsevier 2016 :140-1.
354. He T, Li J, Wang L, Zhu J, Jiang W. Preparation and consolidation of alumina/graphene composite powders. *Mater Trans* 2009, 50 (4): 749-51
355. Bentz DP, Garboczi EJ, Haecker CJ, Jensen OM. Effects of cement particle size distribution on performance properties of Portland cement-based materials. *Cem Concr Res* 1999, 29 (10): 1663-71.

356. Frigione G, Marra S. Relationship between particle size distribution and compressive strength in Portland cement. *Cem Concr Res* 1976, 6 (1): 113-27.
357. Shane JD, Mason TO, Jennings HM, Garboczi EJ, Bentz DP. Effect of the interfacial transition zone on the conductivity of Portland cement mortars. *J Am Ceram Soc.* 2000, 83 (5): 1137-44.
358. Prentice LH, Tyas MJ, Burrow MF. The effect of particle size distribution on an experimental glass-ionomer cement. *Dent Mater J* 2005, 21 (6): 505-10.
359. Xie D, Brantley W, Culbertson B, Wang G. Mechanical properties and microstructures of glass-ionomer cements. *Dent Mater J* 2000, 16 (2): 129-38.
360. Komabayashi T, Spångberg LS. Comparative analysis of the particle size and shape of commercially available mineral trioxide aggregates and Portland cement: a study with a flow particle image analyzer. *J Endod* 2008, 34 (1): 94-8.
361. Komabayashi T, Spångberg LS. Particle size and shape analysis of MTA finer fractions using Portland cement. *J Endod* 2008, 34 (6): 709-11.
362. Brantley WA, Cai Z, Foreman DW, Mitchell JC, Papazoglou E, Carr AB. X-ray diffraction studies of as-cast high-palladium alloys. *Dent Mater J* 1995, 11 (3): 154-60.
363. Nosrati R, Olad A, Shakoory S. Preparation of an antibacterial, hydrophilic and photocatalytically active polyacrylic coating using TiO₂ nanoparticles sensitized by graphene oxide. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2017, 80: 642-51.
364. Ding Y, Jiang Y, Xu F, Yin J, Ren H, Zhuo Q, Long Z, Zhang P. Preparation of nano-structured LiFePO₄/graphene composites by co-precipitation method. *Electrochem commun* 2010, 12 (1): 10-3.
365. Kim I, Yeom T, Jeong D, Lim A, Choh S, Hong K, et al. J. Kor. Phys. Soc. J. Kor. Phys. Soc. 23, 162, 1990. *J Physical Soc Japan* 2002, 71 (10): 2546-9.
366. Gong V, Franca R. Nanoscale chemical surface characterization of four different types of dental pulp-capping materials. *J Dent* 2017, 58: 11-8.
367. Naebe M, Wang J, Amini A, Khayyam H, Hameed N, Li LH, Chen Y, Fox B. Mechanical property and structure of covalent functionalised graphene/epoxy nanocomposites. *Sci Rep* 2014,4:4375.

EKLER

EK 1. Özgeçmiş Formu

27.01.1989 tarihinde Kastamonu'da doğdum. Lise öğrenimimi 2007 yılında Mustafakemalpaşa/Bursa İbrahim Önal Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamladım. 2012 yılında İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden mezun oldum. 2013-2015 yılları arasında Taşköprü/Kastamonu Devlet Hastanesi'nde görev yaptım. 2016 yılında İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.

İletişim Bilgileri

Telefon : 0539 639 34 14

Mail : elifnihan@hotmail.com