

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**SAĞLIKLI VE AKUT GERİ DÖNÜŞÜMSÜZ PULPİTİS TANISI
KONMUŞ DİŞLERİN PULPA DOKU VE DOS ÖRNEKLERİNDE
NKA, SP, IL-8, MMP-8 DEĞİŞİMLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Arş. Gör. Dt. Gözde AKBAL DİNÇER

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali ERDEMİR

2019-KIRIKKALE

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**SAĞLIKLI VE AKUT GERİ DÖNÜŞÜMSÜZ PULPİTİS TANISI
KONMUŞ DİŞLERİN PULPA DOKU VE DOS ÖRNEKLERİNDE
NKA, SP, IL-8, MMP-8 DEĞİŞİMLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Arş. Gör. Dt. Gözde AKBAL DİNÇER

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali ERDEMİR

**Bu Tez Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2018/030 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

2019-KIRIKKALE

Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Endodonti Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21 / 06 / 2019



İmza

Prof. Dr. Ayşe Diljin KEÇECİ
Süleyman Demirel Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Jüri Başkanı



İmza

Prof. Dr. Ali ERDEMİR
Kırıkkale Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Üye



İmza

Prof. Dr. Çiğdem ÇELİK
Kırıkkale Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Üye



İmza

Dr. Öğr. Üyesi Ali TÜRKYILMAZ
Kırıkkale Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Üye



İmza

Dr. Öğr. Üyesi Ezgi DOĞANAY YILDIZ
Kırıkkale Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Üye

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
ÖNSÖZ	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
SUMMARY	x
1.GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	5
1.1 Endodontide Kullanılan Diagnostik Testler.....	6
1.1.1 Palpasyon Testi	7
1.1.2 Perküsyon Testi.....	7
1.1.3 Pulpa Testleri	8
1.1.3.1 Elektrikli Pulpa Testi (EPT).....	8
1.1.3.2 Termal Testler	9
1.1.4 Laser Doppler Flowmetre (LDF)	10
1.1.5 Puls Oksimetre	10
1.2 Diş Pulpasının Enflamasyonu	11
1.2.1 Pulpitislerin Etyolojisi.....	11
1.2.2 Pulpitislerin Histopatolojisi.....	12
1.2.3 Pulpa Hastalıklarının Sınıflandırılması	14
1.2.3.1.Geri Dönüşümlü Pulpitis.....	14
1.2.3.2 Geri Dönüşümsüz Pulpitis	15
1.2.3.3 Pulpa Nekrozu.....	16
1.3 Pulpa İnnervasyonu ve Endodontide Ağrı	17
1.4 Pulpa Enflamasyonunda Görülen Enflamatuvar Meydatörler	19
1.4.1 Nöropeptitler	19
1.4.1.1 Substance P (SP)	21
1.4.1.2 Nörokinin A (NKA)	22
1.4.2 Sitokinler.....	22
1.4.2.1 İnterlökinler.....	23
1.4.3 Enzimler	24
1.4.3.1 Matriks Metalloproteinazlar.....	25

1.5	Enflamatuar Medyator Analizi.....	27
1.5.1	Dentin Kaynaklı Sıvı.....	27
1.5.2	Periapikal Sıvı.....	29
1.5.3	Pulpa Dokusu ve/veya Pulpa Kaynaklı Kan	32
1.5.4	Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS)	35
2.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
2.1	Hasta Seçimi ve Çalışma Planı	39
2.2	Pulpa ve DOS Örneklerinin Alınması.....	41
3.	BULGULAR.....	54
3.1	Klinik Bulgular	54
3.2	Nörokinin-A bulguları	57
3.3	Substance P Bulguları	60
3.5	Interleukin-8 Bulguları.....	62
3.2	Matriks Metalloproteinaz-8 bulguları	64
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ	67
5.	KAYNAKLAR	82
	ÖZGEÇMİŞ.....	97
	EKLER.....	98

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösterip destekleyen ve yardımını esirgemeyen değerli danışman hocam, ana bilim dalı başkanımız ve dekanımız Prof. Dr. Ali ERDEMİR'e,

Mali desteği için K.K.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne,

Biyokimyasal değerlendirmenin tüm aşamalarında teorik ve pratik destekleri için Prof. Dr. Üçler KISA'ya,

İstatistiksel analizler konusundaki değerli yardımları için Doç. Dr. Serkan ARAT'a,

Uzmanlık eğitimime katkıda bulunan Dr. Öğr. Üyesi Ali TÜRKYILMAZ ve Dr. Öğr. Üyesi Ezgi DOĞANAY YILDIZ'a,

Yakında uzakta farketmeden sorularıma cevap vermekten usanmayan, kıdemlim Uzman Dt. Yağız ÖZBAY'a,

Bir arada çalışmaktan mutluluk duyduğum K.K.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Ana Bilim Dalı'ndaki çalışma arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca sonsuz sevgilerini ve özverilerini bir an bile eksik etmeden, maddi ve manevi destekleriyle bana her zaman güç verdikleri için; annem Ender AKBAL ve babam Cahit AKBAL'a

Uzmanlık eğitimim boyunca bana gösterdiği anlayış ve her türlü destek için eşim Erdinç DİNÇER'e

Saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

CGRP:	Kalsitonin gen kaynaklı protein
DBPS:	Dulbecco fosfat tamponlu salin
DMP-1:	Dentin matriks protein-1
DSP:	Dentin sialoprotein
DOS:	Dişeti oluğu sıvısı
ECM:	Ekstrasellüler matriks
ELİSA:	Enzime bağlı immunosorban yöntem
EPT:	Elektrikli pulpa testi
HMGB1:	High mobility group box 1
IFMA:	İmmunoflorometrik assay
IFN-γ:	İnterferon-gama
IgA:	İmmünglobulin A
IgG:	İmmünglobulin G
IgM:	İmmünglobulin M
IL-1:	İnterlökin-1
IL-1β:	İnterlökin-1beta
IL-2:	İnterlökin-2
IL-4:	İnterlökin-4
IL-6:	İnterlökin-6
IL-8:	İnterlökin-8
IL-10:	İnterlökin-10
IL-12:	İnterlökin-12
IL-13:	İnterlökin-13
IL-17A:	İnterlökin-17A
L:	Litre
LDF:	Laser doppler flowmetre
LPS:	Lipopolisakkarit

μA:	Mikroamper
μl:	Mikrolitre
ml:	Mililitre
MCP-1:	Monosit kemotaktik protein
MMP-1:	Matriks metalloproteinaz-1
MMP-8:	Matriks metalloproteinaz-8
MMP-9:	Matriks metalloproteinaz-9
MPO:	Myeloperoksidaz
ng:	Nanogram
nm:	Nanometre
NE:	Nötrofil elastaz
NKA:	Nörokinin A
OLC-1:	Odontoblast benzeri hücreler
OPG:	Osteoprotegerin
PGE₂:	Prostaglandin E ₂
PMNL:	Polimorfonükleer lökosit
PVDF:	Polyvinylidene difloride
RANKL:	NF- κ B ligandı reseptör aktivatörü
RIA:	Radyoimmün assay
SP:	Substance P
TIMP:	Metalloproteinaz doku inhibitörü
TNF-α:	Tümör nekroz faktör-alfa
VAS:	Görsel analog skalası
°C :	Santigrad derece

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1. Ağrı seviyesininin tespit edilmesinde kullanılan visüel analog skalası (görsel analog skalası, VAS	40
Şekil 2.2. DOS örneklerinin periopaper şeritler ile alınması	41
Şekil 2.3. DOS miktarının Periotron 8000 cihazı ile ölçülmesi.....	42
Şekil 2.4. Örneklerin saklandığı -80°C buzdolabı	42
Şekil 2.5. Pulpa tavanı kaldırıldıktan sonra pulpa odasının görünümü.....	43
Şekil 2.6. Pulpa dokusu çıkarıldıktan sonraki pulpa odasının görünümü	44
Şekil 2.7. Pulpa odası ve kök kanallarından toplanan pulpa doku örnekleri	44
Şekil 2.8. Pulpa doku örneklerinin eppendorf tüplerde saklanması.....	45
Şekil 2.9. Çalışmamızda kullanılan malzemeler	46
Şekil 2.10. DPBS'in pH'ının belirlenmesi.....	47
Şekil 2.11. Örneklere DPBS eklenmesi	47
Şekil 2.12. Çalışmada kullanılan vorteks cihazı	48
Şekil 2.13. Sonics Vibra-cell ultrasonik homojenizatör.....	48
Şekil 2.14. Çalışmada kullanılan Hettich Micro 22R santrifüj cihazı	49
Şekil 2.15. ELİSA kitleri.....	50
Şekil 2.16. ELİSA BioTek EL×50 otomatik yıkayıcısı	50
Şekil 2.17. ELİSA kitlerinde inkübasyondan sonraki renk değişimi	51
Şekil 2.18. ELİSA kitlerine stop solüsyonu eklendikten sonraki renk değişimi.....	51
Şekil 2.19. BioTek Uquant MQ×200 ELİSA okuyucusu	52
Şekil 3.1. Örneklerdeki NKA miktarlarının gruplara göre dağılımı	58
Şekil 3.2. Örneklerdeki SP miktarlarının gruplara göre dağılımı	60
Şekil 3.3. Örneklerdeki IL-8 miktarlarının gruplara göre dağılımı.....	63
Şekil 3.4. Örneklerdeki MMP-8 miktarlarının gruplara göre dağılımı	65

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1.1 Pulpa Hastalıklarının Klasik Sınıflandırılması	14
Tablo 1.2 Fibril tipleri ve özellikleri	18
Tablo 1.3. Pulpadaki Fibriller ve Özellikleri	18
Tablo 1.4 Pulpada Bulunan Nöropeptitler	21
Tablo 1.5 MMP'ların sınıflandırılması	26
Tablo 2.1. Çalışma gruplarının oluşturulması.....	40
Tablo 3.1 Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyet, yaş, diş numarası ve ağrı ile ilgili bilgileri	54
Tablo 3.2. Cinsiyete göre tüm örneklerde medyatör miktarındaki değişim.....	55
Tablo 3.3. Yaşa göre tüm örneklerde medyatör miktarındaki değişim.....	56
Tablo 3.4. Ağrı skorlarına göre pulpa örneklerinde medyatör miktarındaki değişim	57
Tablo 3.5. Yaş aralığına göre ağrı miktarındaki değişim.....	57
Tablo 3.6. Cinsiyete göre ağrı miktarındaki değişim.....	57
Tablo 3.7. Sağlıklı ve pulpitisli hastaların NKA ortalama ve standart sapmaları.....	58
Tablo 3.8 Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin NKA seviyeleri arasındaki korelasyon	59
Tablo 3.9. Sağlıklı ve pulpitisli hastaların SP ortalama ve standart sapmaları	60
Tablo 3.10. Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin SP seviyeleri arasındaki korelasyon.....	62
Tablo 3.11. Sağlıklı ve pulpitisli hastaların SP ortalama ve standart sapmaları	62
Tablo 3.12 Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin IL-8 seviyeleri arasındaki korelasyon	64
Tablo 3.13. Sağlıklı ve pulpitisli hastaların MMP-8 ortalama ve standart sapmaları	64
Tablo 3.14. Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin MMP-8 seviyeleri arasındaki korelasyon.....	66

ÖZET

Sağlıklı Ve Akut Geri Dönüşümsüz Pulpitis Tanısı Konmuş Dişlerin Pulpa Doku Ve DOS Örneklerinde NKA, SP, IL-8, MMP-8 Değişimlerinin Karşılaştırılması

Günümüzde endodontik diagnoz klinik semptomlar, pulpa testleri ve periapikal radyografiler ile konulmaktadır. Bu yöntemler faydalı olsa da kendi limitasyonları bulunmakta, dahası klinik bulgular ile pulpanın histolojik durumu her zaman korelasyon göstermemektedir. Hastanın subjektif yanıtları ve geleneksel pulpa testlerinin ötesine geçmek için araştırmalar başlamış, günümüze kadar çeşitli diş dokularında pek çok medyatörün enflamasyonla artışına bakılan çalışmalar yapılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpal doku örnekleri ve DOS örneklerinde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 düzeyleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığını değerlendirmesidir.

Sağlıklı ve geri dönüşümsüz akut pulpitis tanısı konmuş dişlerden kontralateralindeki dişlerden pulpa ve DOS örnekleri alındıktan sonra örneklerde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 düzeyleri ELİSA testi ile ölçülmüştür. İstatistiksel analizler SPSS 15.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL) bilgisayar programı ile gerçekleştirilmiştir. Parametrik veriler için bağımsız örneklem t testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA), non-parametrik veriler için Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanılmıştır. 1. DOS ve 1 hafta sonra alınan 2. DOS örneklerinin karşılaştırılmasında bağımlı örneklem t testi kullanılmıştır. Son olarak Pearson korelasyon analizi kullanılarak sağlıklı ve geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerin pulpa doku ve DOS örneklerinde moleküler belirteçlerdeki değişimin korelasyonuna bakılmıştır.

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, sağlıklı gruba göre tüm medyatör seviyeleri pulpitis grubundaki pulpa örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (NKA: $p<0.001$, SP: $p=0.005$ IL-8: 0.001 , MMP-8: $p<0.001$). Aynı şekilde pulpitis grubunda 1. DOS örneklerinde tüm medyatör seviyeleri sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek belirlenmiştir (NKA: $p=0.01$, SP: $p<0.001$, IL-8: $p=0.001$, MMP-8: $p<0.001$).

Pulpitis grubunda grup içi karşılaştırmada, pulpa ile 1. DOS örnekleri NKA, SP ve IL-8 seviyeleri arasında (NKA: $p<0.001$, SP: $p=0.04$, IL-8: $p<0.001$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunurken; pulpa ve 1. DOS örnekleri MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0,31$). Pulpitis grubunda 1. DOS ile kontralateral sağlıklı dişten alınan DOS tüm medyatör seviyeleri arasında (NKA: $p=0.002$, SP: $p<0.001$, IL-8: $p=0.01$, MMP-8: $p=0.01$) ve 1. DOS örnekleri ile 1 hafta sonra alınan 2. DOS örnekleri tüm medyatör seviyeleri arasında (NKA: $p<0.001$, SP: $p<0.001$, IL-8: $p<0.001$, MMP-8: $p=0.001$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

Çalışmamızın sınırları içerisinde; akut pulpitisli dişlerin pulpa doku ve DOS örneklerinde sağlıklı dişlerin pulpa doku ve DOS örneklerine göre belirgin bir şekilde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 artışı meydana geldiği gözlemlenmiştir. İkinci olarak akut pulpitisli dişlerde, enflame pulpa çıkarıldıktan 1 hafta sonra DOS örneklerinde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 seviyelerinde belirgin bir şekilde azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Son olarak ağrı skorları yüksek olan akut pulpitisli dişlerin pulpa doku örneklerinde SP, IL-8 ve MMP-8 seviyelerinin, ağrı skoru düşük olan dişlere göre daha yüksek bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Interlökin-8, Matriks Metalloproteinaz-8, moleküler diaagnoz, Nörokinin A, P maddesi

SUMMARY

Comparison of NKA, SP, IL-8, MMP-8 Changes in Pulp tissue and DOS Samples of Healthy and Acute Irreversible Pulpitis-diagnosed Teeth.

Today, endodontic diagnosis is made by clinical symptoms, pulp tests and periapical radiographs. Although these methods are useful, they have their own limitations and moreover, the clinical findings do not always correlate with the histological status of the pulp. Investigations have begun to go beyond the patient's subjective responses and traditional pulp tests, and to date, studies have been conducted to investigate the increase of many mediators with inflammation in various dental tissues.

The aim of this study was to evaluate whether there was a significant difference between NKA, SP, IL-8 and MMP-8 levels in pulpal tissue samples and DOS samples of healthy and acute irreversible pulpitis.

NKA, SP, IL-8 and MMP-8 levels were measured by ELISA test after pulp and DOS samples were obtained from irreversible acute pulpitis-diagnosed teeth and contralateral healthy teeth. Statistical analysis was performed using SPSS 15.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL). Independent sample t test and one way analysis of variance (ANOVA) were used for parametric data and Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests were used for non-parametric data. In the comparison of the 1st DOS and the 2nd DOS samples taken after 1 week, dependent sample t test was used. Finally, Pearson correlation analysis was used to determine the correlation between the change in molecular markers in pulp tissue and DOS samples of healthy and irreversible pulpitis-diagnosed teeth.

Comparing the groups, all mediator levels were significantly higher in pulp samples in the pulpitis group compared to the healthy group (NKA: $p < 0.001$, SP: $p = 0.005$ IL-8: 0.001, MMP-8: $p < 0.001$). Likewise, in the pulpitis group, all mediator levels were significantly higher in the 1st DOS samples compared to the healthy group (NKA: $p = 0.01$, SP: $p < 0.001$, IL-8: $p = 0.001$, MMP-8: $p < 0.001$). In the intra-group comparison in the pulpitis group, a statistically significant difference was found between pulp and 1st DOS samples NKA, SP and IL-8 levels (NKA: $p < 0.001$, SP: $p = 0.04$, IL-8: $p < 0.001$). There was no statistically significant difference

between pulpa and 1st DOS samples MMP-8 levels ($p = 0.31$). In the pulpitis group, there was a statistically significant difference at all mediator levels between 1st DOS and DOS obtained from contralateral healthy teeth (NKA: $p = 0.002$, SP: $p < 0.001$, IL-8: $p = 0.01$, MMP-8: $p = 0.01$), and between 1st DOS samples and 2nd DOS samples (NKA: $p < 0.001$, SP: $p < 0.001$, IL-8: $p < 0.001$, MMP-8: $p = 0.001$).

Within the limitations of our study, it was observed that NKA, SP, IL-8 and MMP-8 increased significantly in pulp tissue and DOS specimens of acute pulpitis-diagnosed teeth compared to pulp tissue and DOS specimens of healthy teeth. Secondly, it was determined that NKA, SP, IL-8 and MMP-8 levels decreased significantly in DOS samples in acute pulpitis-diagnosed teeth 1 week after the removal of inflamed pulp. Finally, SP, IL-8 and MMP-8 levels were found to be higher in pulp tissue samples of the patients with acute pulpitis with higher pain scores than those with low pain scores.

Keywords: Interleukin-8, Matrix Metalloproteinase-8, molecular diagnosis, Neurokinin A, substance P

1.GİRİŞ

Diagnoz; hastalık belirtilerine ve hastalıkla ilgili her türlü muayene bulgularına dayandırılarak hastalığın niteliğinin ortaya konması, spesifik bir hastalıkta sebep-etki ilişkisinin anlaşılmasıdır. Günümüzde endodontik diaagnoz klinik semptomlar, pulpa testleri ve periapikal radyografiler ile konulmaktadır. Bu yöntemler faydalı olsa da kendi limitasyonları bulunmaktadır, dahası klinik bulgular ile pulpanın histolojik durumu her zaman korelasyon göstermemektedir (Seltzer ve ark. 1963). Yanlış teşhis ve tedavilere neden olabilecek bu durum, daha spesifik yöntemlerin araştırılmasına yol açmıştır. Klinik endodontide hastalığın sebebi, ağız florasında bulunan ya da normalde bulunmayıp geçici olarak sayısı artmış mikroorganizmaların, diş sert dokularında oluşturduğu fırsatçı bir enfeksiyondur (Kakehashi ve ark. 1965, Bergenholtz 1974). Pulpa ve periradiküler hastalıklar fırsatçı enfeksiyon kaynaklı olduğundan, mikroorganizmalar ya da konakçı yanıtı sonucu ortaya çıkan moleküller tanıda hedef olabilir.

Dental anamnez tedavinin kararlaştırılmasında çok etkili olsa da pulpanın durumunu doğru teşhis etmek açısından sadece katkıda bulunabilir. Çalışmalar göstermiştir ki; bir dişin ağrı öyküsü olup olmaması, o dişin durumuyla ilgili gerekli bilgiyi vermez (Dummer ve ark. 1980, Michaelson ve Holland 2002). Bu nedenle pulpanın vitalitesini sürdürmeyi amaçlayan tedavilerden sonra ve rutin kontrollerde pulpa testleri yapılması önerilmektedir. Fakat bu testlerin, travma sonrası, pulpa kanal obliterasyonu ya da dişte koronal restorasyon olması durumunda doğruluğu şüphelidir.

Pulpa testine negatif cevap alınan dişler apikal periodontitis varlığı açısından radyografik olarak kontrol edilir. Periapikal radyolusensi bulunması pulpa nekrozu ve periapektteki enflamasyonun histolojik belirtisi ile ilişkilendirilir (Brynolf 1967). Oysa ki kökün apikal üçlüsünde kalan pulpada histolojik olarak sinir lifleri dahil olmak üzere bir çok zarar görmemiş doku gözlenmiştir (Langeland 1987). Ayrıca, periapektteki bir değişikliğin radyografide görülmesi, bir yılı alabilmektedir (Orstavik 1996). İki boyutlu görüntülemenin bir diğer problemi ise anatomik

süperpozisyon meydana gelmesidir. Örneğin, süngerimsi kemikteki bir apikal periodontitis, çok geniş bir lezyon mevcut olsa bile, radyografik olarak görülemeyebilir (Bender ve Seltzer 2003a, Bender ve Seltzer 2003b). Teoride 3 boyutlu görüntüleme bu problemi çözebilir (Patel 2009); ancak bu yöntemler sonucu oral dokuların maruz kaldığı radyasyon standartlara göre kabul edilemezdir (Pauwels ve ark. 2012). Periapikal dokuların histolojisi ile radyografik görüntüsü arasındaki ilişki, konvansiyonel radyografilerin aksine 3 boyutlu görüntülemede henüz ispatlanamamıştır. Örneğin; dental volumetrik tomografide skar dokusu ile iyileşmenin nasıl görüneceği bilinmemektedir (Rud ve ark. 1972). Sağlıklı bir diş ise dental volumetrik tomografide periodontal aralığı genişlemiş gözükabilmektedir (Pope ve ark. 2014).

Pulpal enflamasyonun büyük bir çoğunluğu mikroorganizmalar tarafından tetiklenir. Belirli bakteriyel virülans faktörleri konakçı dokusuna zarar verirken, diğerleri doku hasarına neden olan uzamış non-spesifik immün yanıtı stimüle ederler. Enfeksiyon ilerledikçe konakçı immün yanıt yoğunluğu artar. T yardımcı lenfositler, B lenfositler, nötrofil ve makrofajların titresini, lezyonun derinliği ile direkt orantılıdır (Izumi ve ark. 1995). Enfeksiyonun en ileri fazında, humoral immün yanıt, pulpa dokularının immünopatolojik yıkımı ile seyreder.

İritanlara karşı pulpal yanıtta nörojenik medyatörler de rol alır ve immün komponentler gibi patoloji oluşumuna aracılık edebilir. Dentinin dış iritanlar ile uyarımı sonucu, pulpanın afferent sinirlerinden proinflamatuvar nöropeptidler salınır (Byers ve Narhi 1999). Substance P (SP) ve kalsitonin gen kaynaklı protein (CGRP) vazodilatasyon ve damar geçirgenliğinin artması gibi vasküler olayları etkilerler. Bu durum doku basıncının artışı ile sonuçlanır ve bu basınç fazla ve kalıcı ise ileri aşamalarda nekroz meydana gelebilir. Fibroblast, odontoblast ve schwann hücreleri gibi diğer pulpal hücrelerin bir iritanla karşı karşıya gelmesiyle, büyüme faktörleri ve kemokinler ortaya çıkar. Bunlar patojenleri etkisizleştirmek için dizayn edilmişlerse de sekonder olarak pulpa harabiyetine katkıda bulunur. Bakteri ve yan ürünlerine maruz kalan odontoblastlar, interlökin-8 (IL-8) mRNA ve proteini üretirler (Huang ve ark. 1999, Levin ve ark. 1999). IL-8; enflame pulpada gözlenmiş baskın enflamasyon etkili hücre olan nötrofil için güçlü bir kemotaktik faktördür. Nötrofil degranülasyonu ise lizozomal enzim serbestleşmesine, sonuçta hem konakçı hem mikrobiyal hücrelerin sindirilmesine neden olur.

Hastanın subjektif yanıtları ve geleneksel pulpa testlerinin ötesine geçmek için araştırmalar başlamıştır. Araştırılan diagnostik metodlar bölgeye özgü olmalı ve şimdiki testlerden daha kesin sonuçlar vermelidir. Bu şekilde ileri tedavilerden kaçınmak ve vital dokuları korumak mümkün olur. Moleküler metodlar belirli bir klinik vakada gerekli tedavinin boyutunu belirleyebilir. Örneğin restoratif diş hekimliğinde, restorasyon öncesi pulpanın bir tedaviye ihtiyaç duyup duymadığı belirlenebilir. Kanal tedavisi sınırları içinde bile, pulpa bütünlüğünün korunup korunamayacağı, ya da, pulpanın çıkarılması veya amputasyon yapılacaksa bu prosedürlerin hangi seviyede gerçekleştirilmesi gerektiği öğrenilebilir. Ayrıca, apikal periodontitisli bir dişte pulpa tamamen çıkarılacaksa, kanal dolumundan önce periapektteki enflamasyonun iyileşmeye başlayıp başlamadığı ortaya çıkarılabilir.

Bütün bu yukarda sayılan bilgilere erişmek için, etkilenen bölgenin moleküler analizi diagnostik bir değere sahip olabilir. Fırsatçı bir enfeksiyon ile mücadele ettiğimizden, bu konu çerçevesinde ilk araştırılması gereken soru ise, bakteriyel varlığı işaret eden moleküllerin mi yoksa etkilenen dokuların enflamasyon durumunu işaret eden moleküllerin mi belirlenmesi gerektiğidir.

Bakteriyi hedef almak hastalığın sebebine direkt erişime izin verir. Geçmişte, kanal dolumu öncesi bakteri miktarının azaldığını ya da bakterilerin yok olduğunu belirlemek için kanal içeriğinden kültür yapılmıştır. Sonra bu işlem klinisyen uygun antibiyotik terapisini seçebilsin diye antibiyogram oluşturmak için uygulanmıştır (Lane ve Grossman 1971). Oysa ki, endodontik enfeksiyonlar non-spesifik karma bakterilerden meydana gelmektedir (Sundqvist 1994). Endodontik enfeksiyonlar istilacı türlerin özgünlüğünden çok ekolojik faktörlerin değişmesinden ileri gelmektedir. Bu nedenle 'ekolojik plak hipotezi' (Marsh 1991) periodontal hastalıklar ile sınırlı kalmayıp endodontik hastalıklar için de geçerli olmaktadır (Chavez de Paz 2007). Bütünüyle düşünüldüğünde, bu şartlar altında üstün diagnostik değeri olan anahtar bir mikroorganizma ya da spesifik bir mikroorganizma grubu belirlemek pek te mümkün değildir.

Moleküler diaagnoz bağlamında, bakteri varlığındansa konakçı yanıtına ulaşmanın bazı net avantajları vardır. Bu sebeple bu yöndeki araştırmalar daha yoğundur. Her bölge ve doku sıvısı kendine has konakçı faktörleri bulundurmaktadır (Kuo ve ark. 1998). Bakteri varlığına bakmaktansa konakçı yanıtına bakmak, kendiliğinden, kontaminasyon (örneğin tükürük ile) sorununu önlemektedir. Analiz

edilen molekülün bileşimi enflamasyon süreci içerisinde değişmektedir. Bu nedenle hastalıkla ilişkili faktörler, sağlıklı ilişkili olanlar ile kontrol edilebilir ya da karşılaştırılabilir.

Konuyla ilgili yapılan diğer çalışmalarda genel olarak farklı klinik durumdaki dişlerin aynı bölgesinden alınan örneklerde (örneğin pulpa doku örnekleri veya diş eti oluşu sıvısı (DOS) örnekleri) moleküler belirteçlerin farklı ekspresyonları araştırılmıştır. Literatürde sağlıklı dişler ile akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin DOS örnekleri ve pulpa doku örnekleri arasında moleküler belirteçlerdeki değişim arasında bir korelasyon olup olmadığının araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın sonucu dişin histolojik durumunun invaziv bir işlem yapılmadan saptanabilmesini sağlayacak yeni araştırmaların yapılmasına yol açabilir. DOS örnekleri ile pulpa doku örnekleri arasında pozitif bir korelasyon görülürse pulpanın durumu pulpa örneği alınmaksızın sadece DOS örnekleri ile öğrenilebilecektir.

Bu çalışmanın amacı, sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpa doku örnekleri ve DOS örneklerinde moleküler belirteçlerdeki değişim ve varsa bu değişim arasında bir korelasyon olup olmadığının araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

Diş pulpası, nöral krest hücrelerinden (ektomezenşimal) kaynaklanır. Bu hücrelerin çoğalması ve yoğunlaşması, gelecekte olgun pulpayı oluşturacak dental papillanın gelişimine öncülük eder. Olgun pulpa, iyi farklılaşmış odontoblast hücreleri ile embriyonik bağ dokusuna güçlü bir benzerlik gösterir. Pulpa, vücuttaki diğer bağ dokularında olduğu gibi, sinir lifleri, kan ve lenf damarları, kollagen lifler ve hücrelerin içerisinde dağılmış olarak bulunan ana maddeden oluşur. Dental pulpanın fiziksel olarak sınırlandırılması, duyuusal sinir inervasyonunun yüksek insidansı ve zengin mikro dolaşım bileşenleri dental pulpayı benzersiz bir doku yapmaktadır (Yu ve Abbott 2007).

Diş sert dokularının, mikroorganizmalar, fiziksel ve kimyasal iritasyon ve iyatrojenik faktörlerle etkilenmesi durumunda, pulpada değişik safhalarda iltihabi değişimler meydana geldiği bilinmektedir (Aşçı 2014b). İltihap sonucunda oluşan birtakım subjektif semptomlarla başvuran hastalara öncelikle ayrıntılı bir muayene uygulanır.

Medikal ve dental hikayesi alındıktan sonra inspeksiyon ve palpasyon ile hastanın genel görünümü, fasiyal asimetri, şişlik, renk değişikliği, ekstraoral skar veya fistül varlığı belirlenerek ekstraoral muayene yapılır. Servikal ve submandibuler lenf nodlarının palpasyonu, ekstraoral muayene protokolünün ayrılmaz bir parçasıdır. Eğer lenf nodları yüzde şişlik ve ateş ile birlikte sert ve hassas ise, bir enfeksiyonun bulunma olasılığı yüksektir (Hargreaves ve Berman 2016b).

İntraoral muayenede yumuşak dokular ve dişlerin muayenesi yapılır. İnspeksiyon ve palpasyon ile dudaklar, oral mukoza, yanaklar, dil, damak ve kaslar muayene edilerek anormallikler, renk ve şekil değişiklikleri kaydedilir. Mukozada sinüs yolu varlığı kronik endodontik enfeksiyonu gösterebilir; sinüs yoluna güta-perka yerleştirilerek alınan bir periapikal radyografi lezyonun kaynağının lokalizasyonunu belirleyebilir. Dişler renklenme, kırık, abrazyon, erozyon, çürük, geniş restorasyonlar ve diğer anomaliler yönünden incelenir; kromda renklenme

pulpal patoloji açısından patognomoniktir veya önceki kanal tedavisini takiben meydana gelebilir (Hargreaves ve Berman 2016b).

Hastada, çiğneme sırasında ağrı şikayeti varsa, bu cevap perküsyon testi ile yinelenabilir ve semptomlar belirli bir dişe indirgenebilir. Perküsyona ağrı, dişin vital olup olmadığını göstermez, daha çok periodontal ligamentteki iltihabın belirtisidir. Bu iltihap, fiziksel travmaya, oklüzal prematür kontakta, periodontal hastalığa veya pulpal hastalığın sekonder olarak periodontal ligament boşluğuna yayılmasına bağlı olarak meydana gelebilir. Isırmada ağrı ya da perküsyon hassasiyeti çatlak ya da kırık dişlerde de görülebilir (Hargreaves ve Berman 2016b).

Dişin kronu, kökü ve periradiküler bölgenin görüntülenmesini sağlayan periapikal radyografilerde gözle görülmesi mümkün olmayan bölgeler hakkında önemli bilgiler verir. Diş ve periradiküler bölgedeki sert doku değişiklikleri, dişteki kırık, çürük, restorasyonların pulpaya yakınlıkları ve kök rezorpsiyonları gibi doğru teşhis ve tedavi planlaması açısından önem taşıyan bilgiler radyografiler ile elde edilir (Çalışkan 2006b).

Hastanın medikal ve dental hikayesi alınıp, ekstraoral ve intraoral genel muayenesi yapıldıktan sonra hastanın şikayetleri doğrultusunda doğru endikasyonun konulup, doğru tedavinin gerçekleştirilebilmesi için daha spesifik testlerin yapılması gerekmektedir.

1.1 Endodontide Kullanılan Diagnostik Testler

Pulpa durumunu değerlendirmenin en doğru yolu, enflamasyonun yayılımını veya nekroz varlığını değerlendirmek için etkilenen doku örneğinin histolojik olarak incelenmesidir. Ne yazık ki klinik şartlarda, histolojik değerlendirme pratik ve mümkün değildir; bu nedenle klinisyenler ek tanısal bilgi sağlamak için hastanın dental öyküsü, klinik muayene ve radyografilerin yanında elektrikli pulpa testi (EPT), termal testler gibi diagnostik testlerden yararlanmaktadır.

1.1.1 Palpasyon Testi

Palpasyon testi, kökleri ve apeksleri saran mukozaya basınç uygulanarak yapılır. İşaret parmağı, dişin apeksi civarındaki yumuşak dokuyu bukkal ve lingual mukozayı kemiğe doğru bastırmak için kullanılır. Bir elin baş ve işaret parmakları kullanılarak yapılan muayeneye bidigital palpasyon, iki el kullanılarak yapılan muayeneye bimanuel palpasyon denir (Aşçı 2014a).

Karşılaştırma yapmak için komşu ve simetrik dokular da palpe edilerek dokudaki duyarlılık, şişlik, sertlik, fluktuasyon ve krepitasyon ayırt edilebilir. Bu test, periradiküler anormallikleri veya basınca cevap veren spesifik alanları tespit edecektir. Palpasyona pozitif cevap, henüz başlamakta olan bir periapikal enflamasyonu veya aktif bir periradiküler enflamatuar süreci gösterebilir. Ancak bu test enflamatuar sürecin kökenini (endodontik ya da periodontal kaynaklı olduğunu) göstermez (Hargreaves ve Berman 2016b).

1.1.2 Perküsyon Testi

Perküsyon testi, dişlerin insizal veya oklüzal yüzeylerine parmakla veya künt bir aletle hafifçe vurularak yapılır. Perküsyon testi yapılırken ilk olarak kontralateral ve komşu dişler test edilmelidir.

Perküsyona hassasiyet, dişin vital ya da devital olduğunu göstermez, ancak periodontal ligamentteki enflamasyonun bir göstergesidir. Enflamasyonun nedeni, travma, oklüzal erken temas, periodontal hastalık veya pulpal hastalığın periodontal ligamente yayılması olabilir. Diş pulpası içerisinde nispeten az sayıda proprioseptif sinir uçları varken; periodontal ligamentte yaygındır (Chiego JR ve ark. 1980). Bu yüzden hastalığın erken evrelerinde hasta için diş ağrısının konumunu lokalize etmek zordur. Enflamasyon periodontal ligamente uzandığında, ağrı lokalize edilebilir; etkilenen diş perküsyon ve çiğneme testi ile belirlenebilir.

1.1.3 Pulpa Testleri

Pulpa testleri, pulpal duysal nöronların yanıt verebilirliğini belirler (Jafarzadeh ve Abbott 2010b, Jafarzadeh ve Abbott 2010a). Testler, hastadan subjektif bir yanıt alarak, pulpal sinirlerin işlevsel olup olmadığını belirlemek için bir dişin termal veya elektriksel olarak uyarılmasını ya da pulpal damarların bütünlüğünü tespit eden cihazları kullanan daha objektif bir yaklaşımı içerebilir. Ne yazık ki, pulpanın durumunun kantitatif değerlendirmesi yalnızca histolojik olarak belirlenebilir. Objektif klinik belirti ve semptomlar ile pulpal histoloji arasında mutlaka iyi bir korelasyonun olmayabileceği gösterilmiştir (Seltzer ve ark. 1963).

1.1.3.1 Elektrikli Pulpa Testi (EPT)

EPT, pulpa dokusunun sinir fibrillerini uyararak ağrı yanıtı oluşturur. EPT, elektriksel stimülasyonun nöral membran boyunca iyonik bir değişikliğe neden olduğu öncülüğünde çalışır, böylece miyelinli sinirlerin Ranvier düğümlerinde hızlı bir sıçrama hareketi ile bir aksiyon potansiyeli yaratır (Bender 2000). EPT, miyelinsiz C lifinde bir yanıt oluşturamaz. A-delta sinir liflerini uyanan düşük dereceli bir akım üretir (Narhi ve ark. 1979).

Elektrik akım yolunun, test cihazının prob ucundan dişe, mine prizmaları ve dentin tübülleri boyunca ve daha sonra pulpa dokusuna doğru olduğu düşünülmektedir (Mumford 1967). “Devre” hastanın dudak klipsi takmasıyla veya prob koluna eliyle dokunarak tamamlanır; alternatif olarak klinisyen, eldivensiz eliyle hastanın cildine dokunabilir (Cailleateau ve Ludington 1989, Penna ve Sadoff 1995). Artan voltaj ağrı eşiğine ulaştığında, hasta bir "karıncalanma" hissi (Kleier ve ark. 1982) duyar; ancak bu eşik seviyesi hastalar ve dişler arasında değişmektedir ve yaş, ağrı algısı, diş yüzeyi iletimi ve direnç gibi faktörlerden etkilenir (Mumford 1967).

EPT'nin devital dişleri belirlemede vital dişleri belirlemeye göre daha doğru sonuçlar verdiği görülmüştür (Seltzer ve ark. 1963). EPT'den elde edilen bilgiler, pulpada canlı sinir liflerinin varlığını ya da yokluğunu belirlerken, yanlış negatif ve yanlış pozitif cevaplar da alınabilir. EPT pulpanın sağlık durumu hakkında hiçbir bilgi vermez, aynı zamanda geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz pulpitis ayırt etmede kullanılamaz.

1.1.3.2 Termal Testler

Pulpanın termal uyarılara tepkisini test etmek için çeşitli yöntemler ve materyaller kullanılmıştır. Termal testler dentin sıvı hareketi ile hidrodinamik mekanizmayı aktive ederek pulpadaki duyuşal reseptörleri uyarır ve ağrı oluşturur (Çalışkan 2006b).

Soğuk testler, bugün birçok klinisyen tarafından kullanılan birincil pulpa testi yöntemidir. Soğuk, dentin tübülleri içerisindeki sıvının hidrodinamik hareketine neden olarak keskin lokalize ağrı üreten hızlı iletken A-delta liflerini uyarır (Ingle ve Bakland 2002).

Soğuk bir uyarı, test edilen dişin dişetine yakın (fakat dişetiyle temas etmeyecek şekilde) bukkal veya labial yüzey üzerine karbon dioksit karı (kuru buz) veya pamuk pelet üzerine püskürtülen kloroflorokarbonların teması ile uygulanabilir. Doğal diş yüzeyine erişilemeyen kron veya büyük restorasyonlarla başvuran hastalar için özellikle yararlıdır. Soğuk testi buz çubukları ile yapılacaksa, rubber-dam kullanılması tavsiye edilir, çünkü eriyen buz bitişik dişlere ve diş etlerine temas ederek potansiyel olarak yanlış pozitif cevap verebilir. Sıcak uygulaması için ısıtılmış güta-perka kullanılır. Sıcak testine reaksiyon alınması dişte iltihabi bir durumun varlığını gösterir (Aşçı 2014a).

Bir çalışmada, vital pulpa dokusunun varlığını belirlemek için termal ve elektrikli pulpa test yöntemleri karşılaştırılmıştır (Peterson ve ark. 1999). Soğuk testinin nekrotik dişlerin %83'ünü doğru tanımladığını, sıcak testinin % 86 ve elektrikli pulpa testinin %72 doğru sonuç verdiği belirlenmiştir. Aynı çalışma, bu üç testin özgüllüğünü değerlendirmiştir. Özgüllük, bir testin, vital dişleri teşhis etme

yeteneğidir. Vital dişlerin %93'ü hem soğuk hem de elektrikli pulpa testlerinde doğru olarak tanımlanırken, sadece% 41'i sıcak testi ile doğru bir şekilde tespit edilmiştir. Test sonuçlarına göre, soğuk testinin % 86, elektrikli pulpa testinin % 81 ve sıcak testinin % 71 kesinliğe sahip olduğu bulunmuştur.

1.1.4 Laser Doppler Flowmetre (LDF)

LDF, mikrovasküler sistemlerde kan akışını değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir. Dişin kronu ve pulpa odasından kızılötesi ışık demeti yansıtmak için bir diyot kullanılır. Kızılötesi ışık demeti, pulpa dokusundan geçerken dağılır. Doppler prensibi, hareket eden kırmızı kan hücrelerine çarparken ışık ışınının frekansının kayacağını ancak statik dokudan geçerken değişmeden kalacağını belirtir. Ortalama Doppler frekans kayması kırmızı kan hücrelerinin hareket hızını belirlemektedir (Roeykens ve ark. 1999). Bu değerler monitörize edilerek pulpadaki kan akımı belirlenir ve pulpanın canlı olduğu sonucuna varılır.

LDF yöntemi, hastanın subjektif cevaplarındansa objektif sonuçlara dayanan, güvenilir ve invaziv olmayan bir yöntemdir. LDF'nin ana dezavantajı, çevredeki dokulardan arkaplan etkileşimleridir. Bazı çalışmalarda dişlerden tespit edilen sinyalin büyük bir kısmının periodonsiyumdan geldiği bulunmuştur (Hartmann ve ark. 1996, Akpınar ve ark. 2004). Ayrıca mine ve dentin kalınlığının fazla olduğu arka grup dişlerde gönderilen lazer ışınının yansıması sonucu elde edilen veriler doğru sonuçlar vermeyebilir (Çalışkan 2006b).

1.1.5 Puls Oksimetre

Medikal alanda onlarca yıldır kullanılmaktadır ve son zamanlarda diş vitalitesinin değerlendirilmesinde uygulanabilirlik bulmuştur. Puls oksimetre, bir dokudaki arteriyel kanın oksijen saturasyonunu ölçmektedir. Puls oksimetre, oksijence zengin hemoglobine karşı oksijence zayıf hemoglobinin diferansiyel ışık

emilimini kayıt altına alarak dolaşımdaki oksijenli kan miktarını tespit eder (Levin 2013).

Pulpanın vitalitesini değerlendirmede güvenilir ve umut veren bir yöntem olarak değerlendirilse de, araştırmacılar cihazların diş hekimliğinde rutin olarak kullanılmayacak kadar hantal ve karmaşık olduğu sonucuna varmışlardır (Kahan ve ark. 1996).

1.2 Diş Pulpasının Enflamasyonu

1.2.1 Pulpitislerin Etyolojisi

Klinik olarak normal pulpa, soğuk ve elektrikli uyarılara cevap verebilen ancak bu cevabın birkaç saniyeden fazla sürmediği; perküsyon palpasyon ve ısırma testlerine hiçbir yanıtın alınmadığı ve radyografik görünümün normal olduğu asemptomatik ve sağlıklı pulpayı tanımlar (Aşçı 2014b).

Diş pulpası, pulpa için zararlı olan ve pulpa fonksiyonlarını tehlikeye atan birtakım iritanlara maruz kalabilir. Bu iritanlar mikrobiyal, mekanik ve kimyasal olmak üzere üçe ayrılır (Çalışkan 2006a, Alaçam 2011a, Torabinejad ve ark. 2014).

Mikrobiyal İritanlar: Mikroorganizmalar abrazyon, erozyon, atrisyon, çatlak, kırık, çürük gibi nedenlerle; dens in dente gibi anomaliler ya da dental uygulamaların oluşturduğu basınç sonucu; periodontal ceplerle ilişkili lateral, apikal ve furkal kanallardan pulpaya ulaşabilirler. Yeterli sayı ve virülansa sahip mikroorganizmalar, hiperemik bir cevabın başlamasına neden olurlar. Sayı ve virülans yetersizse mikroorganizmalar lokal savunma hücreleri tarafından fagosite edilirler.

Mekanik İritanlar: Derin kavite preparasyonu, preparasyonun su soğutması altında yapılmaması, travma, yüksek restorasyonlar, ortodontik diş hareketleri termal ve fiziksel iritanlardır. Pulpada mekanik etkenlere bağlı oluşabilecek vazodilatasyon miktarı; iritanların şiddeti ve süresine bağlıdır (Çalışkan 2006a, Alaçam 2011a).

Dışlerin yer değiştirmesine (lüksasyon veya avülsiyon) neden olan travmalar, apikal kan damarlarının kesilmesine yol açacaktır. Kök gelişimi tamamlanmış dişlerde, bu kan damarları genellikle iyileşemez ve pulpanın revaskularizasyonu gerçekleşemez (Yu ve Abbott 2007).

Kimyasal İritanlar: Daimi-geçici restorasyon maddeleri, dentin temizleyici, sterilize edici ve hassasiyet gidericilerin içeriğindeki gümüş nitrat, fenol, ojenol, alkol, kloroform, hidrojen peroksit gibi ajanlar ve asitler pulpada iltihapsal değişikliklere sebebiyet verebilmektedir. Bunlar dentin tübüleri ile pulpaya ulaşırken; vücuda dışarıdan alınan kurşun, civa gibi maddeler direkt kan yoluyla pulpayı etkilemektedir (Çalışkan 2006a). Ancak restorasyon marjinlerinden penetre olan bakterilerin, genellikle kimyasalların kendisinden daha çok iritasyona neden olduğu belirtilmiştir (Yu ve Abbott 2007).

1.2.2 Pulpitislerin Histopatolojisi

Çeşitli iritanlar sonucu pulpada oluşan enflamasyonda diğer bağ dokularında olduğu gibi iki önemli değişim rol oynar. Bunlar kapiller çeperlerdeki permeabilite artışı ve hücreler arası bağlantı sağlayan dokulardaki metabolik değişikliklerdir. Pulpada meydana gelen değişimler 5 fazda incelenir. Bunlar latent faz, hiperemik faz, seröz faz, pürülan faz ve tamir fazıdır (Çalışkan 2006a, Alaçam 2011a)

Latent Faz: Patojenin konak dokuyu etkilemesi ile ilk gözlenebilir belirtilerin ortaya çıkması arasında geçen süreyi belirtir. Uyarıcı bağ dokusu hücreleri, kapiller endotel ve kan hücrelerini etkileyerek vazoaktif medyatörlerin salınmasına neden olur. Histamin, kinin ve prostaglandin grubu vazoaktif medyatörler uyarıcının doğrudan etki edemediği hücre ve dokuları etkileyerek, daha geniş bir alanda reaksiyon oluşmasına neden olurlar (Torabinejad ve ark. 2014).

Kinin ve histamin, kapiller damarların dilatasyonuna ve permeabilitelerinin yükselmesine sebebiyet verirler. Histaminin etkisi antihistaminikler ile inhibe edilebilirken; kinin grubu medyatörlerin etkisi engellenemez (Çalışkan 2006a).

Hiperemik Faz: İlk gözlenebilir belirtiler vazoaaktif maddelerin kapillerler üzerindeki dilatasyon etkisiyle ortaya çıkar; bunlar kapillerlerdeki kan miktarı artışı ile bölgesel sıcaklığın yükselmesi, ağrı ve kızarıklıktır. Bu fazın sonunda dilate olmuş kapillerlerde kan akımı yavaşlar (staz), hatta durabilir. Bu durumda hipoksi veya anoksi görülür. Hiperemi fazında görülen bütün olaylar geri dönüşümlüdür.

Seröz Faz: Bu fazda kapillerlerden interkapiller bölgeye sıvı akışı meydana gelir ve ödeme neden olur. Sıvının damar dışına çıkışında; damar çeperinin iki tarafındaki basınç farkı ve çeperin geçirgenliği olmak üzere 2 faktör rol oynar.

Sağlıklı durumda eşit ve birbirine zıt yönlerde olan kapillerlerin içerisindeki hidrostatik basınç ile damar dışındaki dokuların osmotik basıncı arasındaki eşitlik; iltihabi durumda hidrostatik basınç yönünde artış gösterir ve kapiller içindeki sıvı damar dışına çıkar (Çalışkan 2006a).

Kapiller çeperlerin geçirgenliği sağlıklı şartlarda azdır; su ve sodyum klorür gibi küçük moleküllerin geçişine izin verir. Vazoaaktif medyatörler salgılandığında kapiller geçirgenlik artar ve büyük moleküllerin, hatta kanın hücresel elemanlarının bile geçtiği gözlenir (Çalışkan 2006a).

Pürülan Faz: Ayırıcı özelliği diyapedez diye adlandırılan kanın hücresel elemanlarının damar dışına çıkması olan bu fazda kapiller dışına çıkan ilk hücreler polimorfonükleer lökositlerdir (PMNL). PMNL damar dışında proteolize uğrar ve kısa sürede ölürlür (Çalışkan 2006a, Alaçam 2011a).

Dokuyu etkileyen uyaran ortadan kalkarsa burada tamir fazına geçilir; enflamasyona neden olan uyaran devam ediyorsa damar dışına sürekli PMNL çıkışı olacaktır. Bunun sonucunda bir nekroz ve apse odağı meydana gelecektir. Sürekli bir proteoliz ile apse odağı genişleme eğilimindedir.

Tamir Fazı: Tamir fazının ilk adımı ölü PMNL'in ve doku kalıntılarının lenfatik direnaja ortamdan uzaklaştırılmasıdır. Ortama gelen mononükleer lenfositler PMNL ile yer değiştirirler ve zamanla perihistiyosit, histiyosit, makrofaj ve fibroblastlara değişim gösterirler. Sonuçta apse odağı ve sağlıklı dokular arasında granülasyon dokusu olarak adlandırılan damar ve hücreden zengin bir bağ dokusu oluşur (Çalışkan 2006a, Alaçam 2011a, Torabinejad ve ark. 2014).

1.2.3 Pulpa Hastalıklarının Sınıflandırılması

Pulpitis, klinik olarak geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz; histolojik olarak akut, kronik veya hiperplastik olarak tanımlanan diş pulpası iltihabını gösteren klinik ve histolojik bir terimdir (Albini Riccioli 1973).

Pulpa hastalıklarının klasik sınıflandırması iltihabın fazlarının sırasına göre düzenlenmiştir (Tablo 1.1).

Tablo 1.1 Pulpa Hastalıklarının Klasik Sınıflandırılması (Çalışkan 2006b)

Kapalı ve Akut Pulpitis	Açık ve Kronik Pulpitis
Hiperemik Pulpitis	Ülseröz Pulpitis
Seröz Pulpitis	Hiperplastik Pulpitis
Pürülan Pulpitis	

Günümüzdeki sınıflama geri dönüşümlü pulpitis, geri dönüşümsüz pulpitis, ve nekroz şeklindedir (Hargreaves ve Berman 2016b).

1.2.3.1. Geri Dönüşümlü Pulpitis

Geri dönüşümlü pulpitis, enflamasyon giderildiğinde pulpanın normale döneceğini ifade eden, subjektif ve objektif bulgulara dayanan klinik bir tanıdır (Albini Riccioli 1973). Geri dönüşümlü pulpitis pulpanın şiddetli olmayan iltihabıdır (Alaçam 2011a). Pulpa iritanlara (soğuk, sıcak sıvılar ya da hava) maruz kaldığında, stimülasyon keskin ve kısa süreli ağrıya neden olsa da iritasyon ortadan kalktığında

semptomların direkt düzeldiği klinik durum geri dönüşümlü pulpitis olarak sınıflandırılır.

Başlangıç çürüğü, açığa çıkmış dentin, yeni uygulanmış operatif işlemler ve kusurlu restorasyonlar geri dönüşümlü pulpitis sebepleri olabilir. Çürük ve travmaya bağlı olarak hiperemik fazdaki pulpa vazodilatasyon, kan hacminde ve pulpa içi basınçta artış görülür. Vazodilatasyon sonrası kapiller çeperlerinden sınırlı sayıda hücre çıkışı olur. Hücre çıkışı az olduğundan basınca bağlı olarak spontan ağrı semptomu gözlenmez. İritanların konservatif bir şekilde ortadan kaldırılması semptomları iyileştirecektir (Çalışkan 2006a, Alaçam 2011a, Torabinejad ve ark. 2014, Hargreaves ve Berman 2016a).

1.2.3.2 Geri Dönüşümsüz Pulpitis

Pulpa iltihabı devam ettikçe, pulpanın enflamatuar durumu geri dönüşümsüz pulpitis ilerleyebilir. Geri dönüşümsüz pulpitis, vital enflame pulpanın iyileşme yeteneğine sahip olmadığını gösteren subjektif ve objektif bulgulara dayanan klinik bir tanıdır (Albini Riccioli 1973). Klinik olarak seröz veya pürülan, pulpanın hangi fazda olduğunu belirlemek mümkün değildir. Bu durum semptomatik ve asemptomatik geri dönüşümsüz pulpitis alt kategorilerine ayrılabilir.

Semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis olarak sınıflandırılan dişlerde pulpa içi basıncın artmasıyla ağrı oluşur. Belirgin sıcaklık değişiklikleri (özellikle soğuk uyaranlar), termal uyaran ortadan kalktıktan sonra bile artan ve uzun süre devam eden ağrıya neden olur. Bu durumlarda ağrı keskin veya donuk, lokalize, yaygın veya yansıyan olabilir (Alaçam 2011a).

Geri dönüşümsüz pulpitis derin restorasyonlar, çürükler, pulpanın açığa çıkması, pulpa doğrudan veya dolaylı olarak iritasyon nedeniyle ya da geri dönüşümsüz pulpitisin önceden mevcut olduğu asemptomatik ve kronik iltihaplı pulpanın akut alevlenmesi sonucu meydana gelebilir. Tipik olarak, semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis tedavi edilmediğinde, pulpa sonunda nekrotik hale gelir (Rotstein ve Engel 1991, von Böhl ve ark. 2012).

Asemptomatik geri dönüşümsüz pulpitiste hasta herhangi bir semptomdan şikayet etmez; klinik veya radyografik olarak çürük pulpaya ilerlemiş olsa da, belirti vermez. Tedavi edilmezse, diş semptomatik veya pulpa nekrotik hale gelebilir (Hargreaves ve Berman 2016a).

1.2.3.3 Pulpa Nekrozu

Pulpa nekrozu dental pulpanın ölümünü gösteren klinik bir tanıdır. Pulpa genellikle pulpa testlerine cevap vermez (Albini Riccioli 1973). Pulpa nekrozu meydana geldiğinde, pulpal kan akımı yoktur ve pulpal sinirler işlevsizdir. Pulpanın histolojik durumunu doğrudan tanımlamaya çalışan tek klinik sınıflandırmadır. Nekroz, geri dönüşümsüz pulpitis sonrasında gerçekleşir. Pulpa tamamen nekrotik hale geldiğinde, diş enflamasyon periradiküler dokulara ilerleyene kadar asemptomatiktir. Nekroze pulpa genellikle elektrikli pulpa testine veya soğuk stimülasyonuna cevap vermez. Bununla birlikte, uzun bir süre ısı uygulandığında, diş bu uyarana yanıt verebilir. Bu cevap muhtemelen pulpa boşluğundaki sıvı ve gaz artıklarınının genişmesi ve periapikal dokulara geçmesi ile ilişkili olabilir.

Pulpa nekrozu kısmi veya tam olabilir ve çok kanallı bir dişte tüm kanalları içermeyebilir. Bu nedenle, diş kafa karıştırıcı semptomlar gösterebilir. Bir kök üzerinde pulpa testi cevap vermezken, diğer bir kök üzerinde pozitif cevap verebilir. Restorasyon, çürük veya lüksasyon yaralanması olmaksızın meydana gelen pulpa nekrozu, muhtemelen oklüzal yüzeyden pulpaya uzanan longitudinal kırıklardan kaynaklanır (Berman 1985).

Pulpa nekrotik hale geldikten sonra, kanal içinde bakteriyel büyüme devam edebilir. Bu bakteriler veya bakteriyel yan ürünler periodontal ligament boşluğuna uzandığında, diş perküsyona hassasiyet veya spontan ağrı gibi semptomlar gösterebilir. Radyografik değişiklikler, periodontal ligament boşluğunun kalınlaşmasından periapikal lezyon görünümüne kadar değişebilir.

1.3 Pulpa İnnervasyonu ve Endodontide Ağrı

‘Kök kanal tedavisi’ terminolojisi kullanılırken akla ilk gelen ‘ağrı’ olmaktadır. Diş hekimliğinde ağrı, hekim ve hasta için istenmeyen ve üstesinden gelinmesi gereken bir sorundur. Ağrı sistemi doku hasarına ve ağrıya neden olan uyarının tespitiyle başlayan, elde edilen verilerin omurilikte işlenmesi ve beyine iletilmesiyle devam eden, serebral korteks gibi yüksek beyin bölgelerinde algılanan son derece karmaşık bir sistemdir. Klinisyen ağrı sistemini doğru bir şekilde anlayarak iyi bir endodontik prosedür ve analjeziklerle birlikte bu problemin üstesinden gelebilir (Kaya ve ark. 2013).

Trigeminal sistemde; motor, dokunma, basınç, propriosepsiyon ve kas liflerinin uzaması fonksiyonlarına sahip, geniş çaplı, kalın miyelinli A α , A β , A γ fibrillerini içeren çeşitli tiplerde periferik nöronlar bulunmaktadır (Tablo 1.2). Pulpada bulunan ve ağrı algılanmasında bilgileri yöneten fibriller daha ince ve miyelinsiz olan, künt ve yavaş ağrıdan sorumlu C fibrilleri ile küçük ve miyelinli olan, ani ve keskin ağrıdan sorumlu A δ fibrilleridir (Tablo 1.3). Çoğu pulpal duyuşal lifler nosiseptif olduklarından, terminal dalları serbest sinir uçlarıdır ve herhangi bir yöntem (sıcaklık, hiperosmotik sıvılar) ile fizyolojik stimülasyon, hastalar için lokalize etmesi zor saf ağrı algılamasına neden olur. Deneysel koşullar altında, elektriksel stimülasyon lokalize edilmesi zor bir ağrı öncesi hissi ile sonuçlanabilir. İltihap, A β ayırt edici dokunmatik reseptörlere sahip olan periodontal ligamente uzandıktan sonra, perküsyon testi gibi hafif mekanik uyarıcılar ile ağrının lokalizasyonu daha öngörülebilirdir (Keiser ve Byrne 2011).

Diş gelen zararlı uyarılar voltaj geçişli sodyum kanalları aracılığıyla nosiseptörlerin depolarizasyonuna sebep olabilir ve böylece aksiyon potansiyeli oluşur. Voltaj geçişli sodyum kanalları enflamasyonda pulpadaki sinir uçlarının hassaslaşmasında önemli role sahiptir hatta zararlı olmayan bir uyarı dahi ağrı algısına sebep olabilmektedir (Fehrenbacher ve ark. 2009).

Tablo 1.2.Fibril tipleri ve özellikleri (Hargreaves ve Berman 2016b)

Fibril Tipi	Fonksiyon	Çap	İletim Hızı (m/sn)
A-alfa (α)	Motor, duyuşal	12-20	70-120
A-beta (β)	Basınç, dokunma	5-12	30-70
A-gama (γ)	Motor	3-6	15-30
A-delta (δ)	Ağrı, sıcaklık, dokunma	1-5	6-30
B	Pregangliyonik otonom	<3	3-15
C	Ağrı	0.4-1	0.5-2
Sempatik	Postgangliyonik sempatik	0.3-1.3	0.7-2.3

Tablo 1.3.Pulpadaki Fibriller ve Özellikleri (Hargreaves ve Berman 2016b)

Fibril tipi	Miyelinizasyon	Terminal lokalizasyonları	Ağrı tipi	Stimülasyon eşik değeri
A-delta (δ)	var	Pulpa-dentin birleşiminde	Keskin, iğneleyici	Düşük
C	yok	Pulpa içerisinde dağılmış halde	Yanııcı, zonklayıcı, dayanılmaz	Doku yaralanmasına bağlı, yüksek

Zararlı uyarıların tekrarı ve ortamdaki medyatörlerin etkisiyle miyelinli A δ lifleri ve miyelinsiz C lifleri duyarlılaşmaya başlar. Öncelikle ateşleme eşik değeri düşer ve hasta normalde ağrıya sebep olmayan bir etkenle ağrı hissedebilir (allodini) veya ağrıya sebep olan bir etkene karşı normalden daha fazla şiddette ağrı hissedebilir (hiperaljezi). Bunların dışında sinirlerde ateşlemeler kendiliğinden oluşarak hastanın ağrı hissetmesine sebep olabilir. Enflamasyon sırasında sinirlerde meydana gelen bu duyarlılaşmaya periferel sensitizasyon adı verilir. Bu değişiklikler

endodontik ağrılı hastalarda sıklıkla görülür ve kısmen iltihaplı pulpa ve periradiküler dokulara salınan kimyasal medyatörlerin etkileri ile açıklanabilir. Bu medyatörler, hasarlı dokularda üretilen maddeleri, vasküler kökenli ajanları ve sinir liflerinden kendiliğinden salınan peptidleri içerir (Keiser ve Byrne 2011, Kaya ve ark. 2013).

Uyarıldığında pulpa sinir liflerinden, polipeptit yapıda CGRP ve SP gibi nörojenik enflamasyon medyatörleri salınır. CGRP nötrofil kemotaksisini kolaylaştırır. SP araşidonik asit metabolitlerinin (lökotren B₄, bradikinin, prostaglandin E) açığa çıkmasına, pulpa dokusunda ağrı ve ödem oluşmasına neden olur. Makrofajları ilk harekete geçiren sinir liflerinden salınan bu medyatörlerdir ve bütün nöropeptitler değişik yollardan enflamasyonu başlatır (Aydın 2004).

SP ağrı iletiminde rol oynamakla birlikte mast hücrelerinden IL-8 salınmasını artırır. IL-8 enflamasyonu düzenleyen sitokin ailesinden olup lökosit infiltrasyonu ve hiperaljezide rol oynadığı belirlenmiştir (Karapanou ve ark. 2008).

Periferik nosiseptörlerin uyarılmasını takiben oluşan impulslar maksiller ve mandibuler sinirler aracılığıyla trigeminal gangliyon ve buradan da medullada bulunan trigeminal çekirdek kompleksine ulaşır (Torabinejad ve ark. 2014).

1.4 Pulpa Enflamasyonunda Görülen Enflamatuvar Medyatörler

1.4.1 Nöropeptitler

Afferent nöron liflerinin periferik enflamatuvar süreçleri düzenlemeye katılımı tıbbi literatürde geniş bir şekilde bildirilmiştir. Bir asırdan daha uzun bir süre önce bu liflerin uyarılmasının vazodilatasyona ve ardından ödeme neden olduğu gösterilmiştir (Bayliss 1901). Nörojenik enflamasyon terimi, periferik nöronlara gelen uyarının yaralanma bölgesinde vasküler geçirgenlik ve vazodilatasyon dahil olmak üzere birçok işlemi değiştiren nöropeptitlerin salınımını sağladığı (Richardson ve Vasko 2002, De Swert ve Joos 2006) bir enflamasyon bileşenini tarif etmek için

geliştirilmiştir. Duyusal nöronların uyarılmasının vazodilatasyon, plazma ekstravazasyonu ve aşırı duyarlılık sağladığı ilk gözlemlerden bu yana, nörojenik enflamasyonun etiyojisini anlamada büyük ilerleme kaydedilmiştir.

Nöropeptitler, peptit nörotransmitterleri veya nöromodülatörleri olarak tanımlanır. Bu tanım, nöropeptitlerin nöronlardan sentezlendiklerini ve serbest bırakıldıklarını, hedef hücrelerin plazma zarı üzerinde bulunan reseptörleri aktive ederek biyolojik etkileri tetiklediklerini anlatmaktadır (Hoyle 1996). Nöropeptitler, en büyük nörotransmitter/nöromodülatör sınıfını temsil eder (Holmgren ve Jensen 2001). Nöropeptitler, insan vücudunun tamamına yayılmıştır; merkezi sinir sisteminden periferik sinir sistemine kadar hem otonomik hem de somatosensör nöronlar dahil olmak üzere sinir sisteminin her dalında mevcuttur (Fallgren ve ark. 1989, Edvinsson ve ark. 1998). Çoklu ve değişken fonksiyonlara sahiptirler çünkü nörotransmitterler, büyüme faktörleri, hormonlar ve bağışıklık sistemi sinyal molekülleri gibi davranabilirler. Bu nedenle, genel olarak sinir sisteminin, periferik enflamasyonun patofizyolojisine katkıda bulunduğu kabul edilir ve bir nörojenik bileşen, periodontitis ve pulpitis gibi oral hastalıklar da dahil olmak üzere birçok enflamatuar hastalığa dahil edilmiştir (Lundy ve Linden 2004).

Doku yaralanması, kompleman sistem aktivasyonu, bakteriyel, viral ve immünolojik herhangi bir uyarıcı nöropeptit serbestleşmesine neden olabilmektedir. Nöropeptit serbestleşmesiyle vazodilatasyon, kapillerlerden interkapiller bölgeye sıvı akışı, makrofajlar, mast hücreleri ve lenfositler gibi immün sistem hücrelerinin düzenlenmesi gibi değişimler meydana gelir (Caviedes-Bucheli ve ark. 2008).

Nöropeptitlerin pulpitis ve diş ağrı mekanizmasında da önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (El Karim ve ark. 2006, Linden ve ark. 2009). İmmünohistokimyasal ve radioimmunoassay (RIA) yöntemleriyle 60'tan fazla nöropeptit tanımlanmışken pulpada günümüze kadar 5 adet nöropeptit belirlenebilmiştir (Caviedes-Bucheli ve ark. 2008) (Tablo 1.4). Pulpada ilk saptanan nöropeptit SP'dir (Olgart ve ark. 1977).

Tablo 1.4 Pulpada Bulunan Nöropeptitler (Caviedes-Bucheli ve ark. 2008)

Pulpada Bulunan Nöropeptitler
Substance P
Nörokinin A
Calcitonin Gene-Related Protein
Nöropeptit Y
Vazoaktif İntestinal Peptit

1.4.1.1 Substance P (SP)

Taykinin ailesinde ilk belirlenen 11 asitli bu peptid aromatik bir aminoasittir. SP genelde küçük kan damarları çevresinde ve yüzeye yakın yerlerde epitel altında görülür. NK1, NK2 ve NK3 olmak üzere 3 reseptörü vardır (Geenen ve Chrousos 2004). NK1 reseptörleri mast hücreleri, makrofajlar gibi çoğu enflamatuar hücrede ve diğer bağ dokusu hücrelerinde tespit edilmiştir (Takahashi ve ark. 1992). Bir klinik çalışmada, akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konan dişlerdeki SP reseptör ekspresyonunu sağlıklı dişler ve enflamasyon indüklenmiş dişlerle karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, pulpadaki SP reseptör ekspresyonunun enflamasyon sırasında önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir (Caviedes- Bucheli ve ark. 2007).

Pulpaya zararlı termal, mekanik, kimyasal her türlü uyarın, C tipi sinir liflerinin uyarılması, bradikinin, prostaglandinler gibi enflamatuar medyatörlerin ortamda bulunması SP'nin salınmasına neden olur (Takamori 2000, Caviedes-Bucheli ve ark. 2005).

SP makrofajların kemotaksisini ve fagositozunu (Ruff ve ark. 1985); araşidonik asit metabolitlerinin ve sitokinlerin üretimini artırabilir (Lotz ve ark. 1988). Ayrıca, SP mitojenik tepkileri ve T lenfositlerin sitokin üretimini uyarır (Calvo ve ark. 1992). SP T hücreleri için kemotaktik faktördür; ayrıca pulpa hücrelerinde IL-2, IL-8, IL-12 ve IFN- γ üretimini arttırdığı belirlenmiştir (Hahn ve Liewehr 2007b). Kan damarı düz kasları üzerinde dilatasyon etkisiyle ve ödem oluşturmasıyla ağrılı duylarda rol oynayabilmektedir (Rodd ve Boissonade 2000).

1.4.1.2 Nörokinin A (NKA)

Taykinin ailesinden 13 aminoasitlik bir peptittir. Reseptörleri NK1, NK2 ve NK3 olmak üzere SP ile aynıdır; dolayısıyla SP'nin salınmasına neden olan stimülasyonlar NKA'nın da salınımını artırır.

NKA glandüler sekresyonda artış, vazodilatasyon ve plazmanın kapiller dışına çıkmasında etkilidir (Geenen ve Chrousos 2004). SP ve NKA, orta ile şiddetli ağrı sinyallerinin oluşumu ve transferinde ana nörotransmitterlerdir (Awawdeh ve ark. 2002c). Çalışmalar pulpal ağrıda CGRP, NKA ve SP'nin arttığını göstermektedir (Caviedes-Bucheli ve ark. 2004, Sattari ve ark. 2010, Heidari ve ark. 2017)

1.4.2 Sitokinler

Düzenleyici proteinlerin bir grubu olan sitokinler; lökositler, nöronlar ve glia hücreleri gibi hücreler tarafından sentezlenen ve salınan polipeptit yapıda medyatörlerdir (Hargreaves ve Berman 2016b). Sitokinler, görevi iltihap sinyallerinin iletimi olan endo enzimlerdir. Kendisinden salınan hücre ve etraftaki hücreleri etkiler; sistemik dolaşıma nadiren geçerler (Alaçam 2011b).

Sitokin salınımı, bakteri ürünleri, toksinler, immün kompleksler, fiziksel incinmeler ve çeşitli enflamatuar olaylarla uyarılabilirler. Lökosit adezyonu, prokoagülan aktivite, kollajen sentezi ve fibroblast proliferasyonunu artırması gibi endotelial ve fibroblastik etkileri bulunmaktadır (Kuralay ve Çavdar 2006).

Enflamasyonda en önemli sitokinler interlökinler (IL) ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α)'dır (Kuralay ve Çavdar 2006). Enflamatuar (IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ) ve antiinflamatuvar (IL-4, IL-10 ve IL-13) etkileriyle enflamasyonda modülatör olarak rol alırlar.

Makrofajların aktive olması ile salınan IL-1 ve TNF- α akut faz proteinlerinin artışı, iştah kaybı ve ateş oluşumundan sorumludurlar (Kuralay ve Çavdar 2006). TNF- α ve IL-8 kuvvetli kemoatraktif medyatör olup nötrofillerin kemotaksisi ve aktivasyonuna neden olur (Kuralay ve Çavdar 2006). Özellikle, TNF- α ve IL-1 β , IL-6 ve IL-8'in, iltihaplı dokuları inerve eden nosiseptörlerde meydana gelen ve hiperaljeziye yol açan nöroplastik değişikliklerde rol oynadığı düşünülmektedir (Hargreaves ve Berman 2016b).

1.4.2.1 İnterlökinler

Inter-Leucocyte-Cytokin köklerinden gelen ve 'lökositler arası haberleşme sağlayan' anlamına gelen bir kelimedir (Alaçam 2011b).

IL-1: Antijenler tarafından uyarılan lenfositler, makrofajlardan IL-1 salınmasına sebep olur. IL-1 birçok hematopoetik hücrenin ve akut faz proteinlerinin çoğalmasını sağlar. Akut faz reaksiyonları, uykuya meyil, iştah kaybı ve lökositozaya neden olur. IL-1 B-lenfositlerin diferansiyasyonunu, antikor sentezi ve prostaglandin salınımını uyarır. Prostaglandinler talamusta ısıyı düzenleyen merkezleri uyararak ateşin yükselmesine neden olur (Alaçam 2011b).

IL-3: Osteoklastların aktive olmasını sağlar. Akut apikal apse döneminde periapekte görülmektedir (Alaçam 2011b).

IL-8: Bağışıklık hücreleri, özellikle de mast hücreleri (Möller ve ark. 1993, Galli ve ark. 2005) tarafından üretilir. SP, IL-8'in mast hücrelerinden salınımını indükler (Park ve ark. 2004). IL-8 nötrofilleri ve T lenfositleri enflamatuar bölgeye çeker ve aktive eder.

IL-8, iltihaplı pulpanın endotelial hücrelerinde ve daha az olarak normal pulpada eksprese edilir (Huang ve ark. 1999). Ağrılı dişlerde IL-8 mRNA seviyeleri için önemli ölçüde artmış gen ekspresyonu kaydedilmiştir (Zehnder ve ark. 2003).

1.4.3 Enzimler

Biyolojik sistemlerde kimyasal reaksiyonların normal şartlara göre çok yüksek hızda gerçekleşmesini sağlayan, protein yapıda katalizörlere enzim denmektedir. Başka bir deyişle enzimler, kimyasal reaksiyonun aktivasyon enerjisini düşürerek tepkime hızını arttıran özelleşmiş biyomoleküllerdir. Hücrelerde organik maddelerin yapım-yıkımı, hücre solunumu, kas kasılması ve sindirim gibi işlemler enzimlerin katalitik etkisiyle meydana gelen önemli metabolizma reaksiyonlarıdır (Tüzün 2002, Gürdöl 2015).

Enzimler yapay katalizörlere göre daha büyük bir katalitik güç ve özgüllüğe sahip bileşiklerdir. Yani enzimler genellikle sadece tek tip reaksiyonu katalizleyen oldukça özelleşmiş molekulardır. Enzimlerin adlandırılması katalize ettikleri reaksiyonun türüne göre, etki ettiği substrata '-az' ya da '-olitik' eki getirilerek yapılır. Enzimler uluslararası sınıflamada altı ana sınıfa ayrılmıştır (Gürdöl 2015).

1-Oksidoredüktazlar: Yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarını katalizlerler.

2-Transferazlar: Fonksiyonel grupların iki substrat arasında transferini katalizlerler.

3-Hidrolazlar: Molekül içi bağların su girişi ile kopmasını sağlayarak büyük moleküllerin yıkılmasını katalizlerler.

4-Liyazlar: C-C, C-S ve bazı C-N bağlarının kopmasını katalizlerler.

5-İzomerazlar: Molekül içi yapısal ve geometrik değişikliklerle izomer oluşumunu katalizlerler.

6-Ligazlar (Sentetazlar): ATP enerjisi ile iki substrat molekülünün birbirine bağlanmasını katalizlerler.

1.4.3.1 Matriks Metalloproteinazlar

MMP'lar hidrolaz grubunda bulunan endopeptidazlardır. En az 28 adet kolektif olarak kollajenler de dahil olmak üzere çeşitli hücre dışı matris (ECM) proteinlerini ve bazal membran bileşenlerini işleyebilen ve parçalayabilen, salgılanan veya transmembran enzim ailesidir. Bunlardan, bugüne kadar en az 22 MMP'nin insan dokularında eksprese edildiği bulunmuştur. MMP'lar, yapısal özelliklerine göre, kollajenazlar, jelatinazlar, membran tipi MMP'lar, stromelisinler, matrilisinler ve diğer MMP'ler şeklinde sınıflandırılır (Egeblad ve Werb 2002, Wahlgren ve ark. 2002) (Tablo 1.5).

MMP'lerin bazılarının diş gelişimi, diş çürüğü, pulpal, periradiküler lezyonlar, periodontal hastalıklar ve yumuşak doku lezyonlarının oluşumunda önemli etkileri vardır. Normal ve fizyolojik koşullar altında, MMP aktivitesi, spesifik hücre dışı matriks bileşenleri ile etkileşimler ve endojen inhibitörlerin (metalloproteinazların doku inhibitörü-TIMP'ler) inhibisyonu ile, öncü zimogenlerin transkripsiyonu seviyesinde düzenlenir (Visse ve Nagase 2003).

Kollajenazların temel özelliği, interstisyel kollajen I, II ve III'ü dörtte üçünde belirli bir bölgede N terminalinden ayırma yetenekleridir; ayrıca diğer bazı ECM ve ECM olmayan molekülleri sindirebilirler (Visse ve Nagase 2003).

MMP-1 normal doku remodelingi ile en sık ilişkili kollajenazdır. MMP-1 fibroblastlar, endotel hücreleri, makrofajlar, hepatositler, kondrositler, osteoblastlar, odontositler, tümör hücreleri ve göç eden epidermal keratinositler tarafından eksprese edilir ve ekspresyonu bazı enflamatuvar hastalıklarda ve kanserlerde indüklenebilir (Giambenardi ve ark. 1998). Normal fizyolojik koşullarda düşük seviyelerde bulunurken; ekspresyonu patolojik durumlarda belirgin şekilde artabilir.

Tablo 1.5 MMP'lerin sınıflandırılması

Kollajenazlar	Jelatinazlar	Membran tipi MMP'lar	Stromelisinler	Matrilisinler	Diğer MMP'lar
Kollajenaz-1 (fibroblast tip kollajenaz, MMP-1)	Jelatinaz A (MMP-2)	MT1-MMP (MMP-14)	Stromelisin-1, MMP-3	Matrilisin (MMP-7)	Metalloelastaz (MMP-12)
Kollajenaz-2 (nötrofil tip kollajenaz, MMP-8)	Jelatinaz B (MMP-9)	MT2-MMP (MMP-15)	Stromelisin-2, MMP-10	Matrilisin-2/Endometaz (MMP-26)	RASI, Stromelisin-4 (MMP-19)
Kollajenaz-3 (MMP-13)		MT3-MMP (MMP-16)	Stromelisin-3, MMP-11		Enamelisin (MMP-20)
Kollajenaz-4 (MMP-18)		MT4-MMP (MMP-17)			XMMP (MMP-21, 22, 27)
		MT5-MMP (MMP-24)			CA-MMP (MMP-23A, B)
		MT6-MMP (MMP-25)			Epilisin (MMP-28)

MMP-8'in kemik iliğinde insan PMNL'lerin hücre içi granüllerinde sentezlendiği ve depolandığı düşünülmektedir (Mainardi ve ark. 1991), bu nedenle nötrofil tipi olarak tanımlanmıştır (Hasty ve ark. 1986). Protein boyutu nötrofil MMP-8'den farklı olan mezenkimal MMP-8, insan kondrositleri (Cole ve ark. 1996), romatoid sinoviyal fibroblastlar ve endotel hücrelerinde belirlenmiştir (Hanemaaijer ve ark. 1997). Ayrıca oral skuamöz hücreleri, karsinom hücreleri (Moilanen ve ark. 2002) ve plazma hücreleri (Wahlgren ve ark. 2001) dahil olmak üzere keratinositlerde de üretilir. MMP-8 insan dişeti (Tonetti ve ark. 1993), tükürük (Ingman ve ark. 1994), diş plağı (Sorsa ve ark. 1995) ve demineralize diş çürüğü lezyonlarında (Tjäderhane ve ark. 1998) bulunmuştur.

1.5 Enflamatuar Medyatör Analizi

Yukarıda örneği verildiği gibi birçok medyatör çeşitli yöntemler kullanılarak ölçülmüş, günümüze kadar moleküler diagnoz için en uygun yöntem ve belirteç araştırılmıştır. Endodontide şimdiye kadar moleküler diagnoz için dişeti oluğu sıvısı, pulpa kaynaklı kan, dentin kaynaklı sıvı ve periapikal sıvı örnekleri kullanılmıştır.

1.5.1 Dentin Kaynaklı Sıvı

Dentin kaynaklı sıvı, dentin tübülerinde bulunan hücre dışı bir sıvıdır (Coffey ve ark. 1970). Pulpanın durumu hakkında bilgi edinmek için dentin sıvısı örnekleri alınması düşüncesiyle yapılan bir çalışmada, köpek molar dişlerine açılmış kavitelere, negatif basınç uygulanarak örnekler toplanmış, dentin sıvı miktarı ve protein konsantrasyonu ölçülmüştür. Dentin sıvısındaki protein konsantrasyonu plazmanın ellide biri bulunmuştur. Bu sıvının elde edilmesi ve analizi, altındaki pulpanın durumu hakkında bilgiye non-invaziv bir yöntem ile ulaşılabilmesi

açısından ümit verici olarak nitelendirilmiştir (Maita ve ark. 1991). Yapılan bir çalışmada (Knutsson ve ark. 1994), bukkal kaviteyi salin solüsyonu ile doldurduktan 15 dakika sonra, kavitedeki içeriği toplayarak serum albümin seviyelerini analiz etmişler ve pulpa örnekleri ile kıyaslamışlardır. Albümin ve IgG bütün dentin sıvısı örneklerinde bulunmuştur. Fibrinojen bütün pulpa örneklerinde tespit edilmişken, toplam 16 dentin sıvısı örneğinin sadece 4'ünde tespit edilmiştir. Klinik olarak pratik uygulanabilir olmaması ve sıvıdaki düşük protein seviyeleri yöntemin olumsuz yönleridir.

Dentin kaynaklı sıvı analizi ile ilgili son zamanlarda yapılan bir çalışmada, dolgu değişimi gereksinimi olan klinik olarak sağlıklı dişler ve geri dönüşümsüz pulpitisli ağrı semptomlu dişlerin kaviteyi, 2 dakika süre ile polivinylidene difloride (PVDF) membran ile kaplanmış, bu membranlar açılmış dentin tübüllerinden dentinal sıvı toplamak için kullanılmıştır. Daha sonra membranlar, fizyolojik salin içeren mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Bu solüsyonlardaki toplam MMP-9 seviyelerine bakılmıştır. Semptomatik dişlerden alınan dentin kaynaklı sıvıdaki MMP-9 seviyeleri sağlıklı örneklere göre belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur (Zehnder ve ark. 2011).

Dentinal sıvı toplama konusunda farklı selüloz membranların, su absorbe etme ve protein serbestleme açısından PVDF ile karşılaştırıldığı bir çalışma yapılmıştır (Zehnder ve ark. 2014). Bu klinik çalışmada selüloz materyali ve PVDF, sağlıklı insan dişlerinde dolgu değişimi sırasında açığa çıkmış dentin tübüllerinden toplanabilen MMP-2 seviyelerine göre karşılaştırılmıştır. Por büyüklüğü en fazla olan (12–15 µm) selüloz membran, PVDF'ye göre belirgin bir şekilde daha çok sıvı absorbe etmiştir. Protein salımları aynı olup, por büyüklüğü en az olan selüloz membran belirgin bir şekilde daha fazla protein ihtiva etmiştir. Geniş por büyüklüğü olan selüloz membran kullanılarak belirlenebilecek miktarda MMP-2 13 dişten 9'unda gözlenebilmişken, PVDF membran kullanılarak 13 dişten 1'inde belirlenebilmiştir.

Zehnder ve arkadaşları (2011) dentin kaynaklı sıvıda MMP-9 seviyeleri tespit edilebilir düzeyde mi ve dentin kaynaklı sıvıdaki MMP-9 seviyeleri geri dönüşümsüz pulpitisli dişler ve sağlıklı dişler arasında değişim gösteriyor mu sorularına yanıt bulmak amacıyla geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin ve dolgu değişimi gerekli sağlıklı dişlerin kaviteylerinden, 2 dakika boyunca PVDF membranlar ile

dentin kaynaklı sıvı toplamışlardır. Semptomatik dişlerdeki MMP-9 seviyeleri klinik olarak sağlıklı olanlara göre belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda hassas bir analiz ile dentin kaynaklı sıvıda pulpa dokusu yıkımının (MMP-9) tespit edilebileceği görülmüştür.

Dentinal sıvı analizi prosedürünün zorlukları çözümlenebilir ise, koronal pulpanın sağlığını devam ettirmeyi amaçlayan bütün girişimler için en faydalı diaagnoz örneği dentinal sıvı olacaktır. Pulpanın indirek kuafajla canlı kalma şansı olup olmadığı gibi çözümlenememiş klinik vakalara ışık tutacaktır.

1.5.2 Periapikal Sıvı

Periapikal sıvı, periapikal bölgede bulunan hücre dışı bir sıvıdır. Periapikal dokular enfekte olduğunda, periapikal sıvı eksuda haline gelmekte ve sıvının kompozisyonu değişmektedir (Matsuo ve ark. 1994).

Eksuda oluşumu ani konakçı reaksiyonu olduğundan, eksudanın analiz edilmesi enflamasyonun durumu hakkında faydalı bilgiler verebilir. Kanal tedavisi sırasında periapikal sıvı toplama işlemi, pulpanın tamamen çıkarılmasından sonra paper point veya metilselüloz şeritler ile veya şırınga ile aspirasyon yaparak uygulanabilir.

Periapikal sıvının analiz edilmesi ile ilgili göze çarpan diğer bir özellik ise, mikrobiyal enfeksiyona karşı enflamasyon cevabının, araştırmacılar tarafından insanda kapalı bir ortam içerisinden toplanabilmesidir (Stashenko ve ark. 1998). Endotoksin gibi bakteri kaynaklı faktörler ve sitokinler, Ig'ler, MMP'lar gibi konakçı kaynaklı faktörler insan kök kanallarında tanımlanmıştır (Wahlgren ve ark. 2002). Birçok çalışmada, bazı faktörlerin konsantrasyonları gösterilmiş ve klinik semptomlar (Alptekin ve ark. 2005a), eksuda varlığı (Alptekin ve ark. 2005b) ya da tedavi öncesi apikal radyolüseni (Takayama ve ark. 1996) ile korelasyon yapılmıştır. Ayrıca kanal tedavisi ve sonrasında belirli faktörlerin miktarının düşmesi kaydedilmiştir (Shimauchi ve ark. 1997). Bütün bu çalışmalar sonucunda, periapikal sıvının moleküler belirteçler için analiz edilebileceği ve bu belirteçlerin konsantrasyonlarının farklı klinik durumlar altında değiştiği gösterilmiştir.

Periapikal sıvı özellikle iki seanslı tedavilerde iyileşmenin erken belirtilerinin monitorize edilmesinde yardımcı olabilir (Tavares ve ark. 2012, Tavares ve ark. 2013). Periapikal radyolusensilerin yavaş gerilemesinin aksine, periapikal sıvıdaki moleküler kompozisyonun değişimi çabuk meydana gelmektedir. Bu nedenle hasta başı uygulama ile periapikal sıvı analizi, ikinci seans endodontik tedaviye başlarken, kök kanal sistemi artık doldurulabilir mi yoksa hala enfekte mi kararını vermek için kullanılabilir.

Yapılan bir çalışmada (Alptekin ve ark. 2005a), periapikal eksudalarda nötrofil elastaz (NE) seviyelerini belirlemek ve bu seviyelerin endodontik olarak sorunlu dişlerdeki klinik belirti ve semptomlarla olan ilişkisini ölçmüşlerdir. Semptomlu dişler, semptomsuz dişlere göre daha yüksek NE seviyeleri göstermiştir. NE'daki farklılık NE seviyeleri konsantrasyon yerine total miktar olarak ölçüldüğünde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu çalışma ile, periapikal lezyonlardaki NE seviyelerinin klinik semptomlar ile ilişkili olabileceği ve total enzim miktarının daha güvenilir bir bilgi sunma yöntemi olabileceği gösterilmiştir.

Yaptıkları diğer bir çalışmada, Alptekin ve arkadaşları (2005b) periapikal eksuda NE ve PGE₂ seviyelerini, bu seviyelerin klinik semptomlarla olan ilişkilerini araştırmışlar ve ilk endodontik seans sonrası bu medyatörlerin seviyelerindeki değişimleri belirlemişlerdir. Klinik semptomlu (iltihap drenajı, şişlik) dişlerin periapikal eksudasında NE ve PGE₂ seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Büyük periapikal radyolusensi (>10mm) bulunan kök kanallarındaki eksudalarda, küçük radyolusensi bulunan (<10mm) kök kanallarındaki eksudalara göre daha yüksek oranda PGE₂ belirlenmiştir. Periapikal eksudadaki NE seviyeleri ile PGE₂ seviyeleri arasında korelasyon göstermektedir. Medyatörlerin seviyeleri ilk seans kanal tedavisi sonrası değişiklik göstermemiştir. Periapikal eksuda NE ve PGE₂ seviyeleri periapikal hastalık semptomlarını regüle edebilir, fakat bu çalışmanın sonuçları bu ilişkiyi ortaya koymada yetersiz kalmıştır.

Carneiro ve arkadaşları (2009) apikal periodontitis lezyonlarında MMP-9 ekspresyonunu belirlemek amacıyla, epitelize ve epitelize olmayan apikal periodontitis lezyonlarından doku örnekleri toplamışlardır. Her iki lezyon tipinde de, sağlıklı periapikal ligamentle karşılaştırıldığında MMP-9 ekspresyonunda artış gözlenmiştir. Bununla birlikte, epitelize ve epitelize olmayan lezyonlar arasında MMP-9 mRNA ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Bir başka çalışmada (Henriques ve ark. 2011) endodontik tedaviye direnç gösteren periapikal lezyonlarda IFN- γ , TNF- α , IL- β , IL-17A, IL-10 ve MCP-1 ile ilgili mRNA ekspresyonunu belirlemek için endodontik tedaviye direnç gösteren periapikal lezyonlu dişlerden ve protetik sebeplerden endodontik tedavi yapılacak sağlıklı dişlerden örnek elde edilmiştir. IFN- γ , TNF- α , IL-17A ve MCP-1 mRNA ekspresyonlarında iki grup arasında belirgin bir farklılık bulunurken, IL- β mRNA ekspresyonunda gruplar arasında belirgin bir farklılık bulunamamıştır. IL-10 mRNA ekspresyonu iki grupta da belirlenememiştir. Bu çalışma sonucunda, IFN- γ , TNF- α , IL-17A ve MCP-1 mRNA ekspresyonlarında endodontik olarak başarısız olmuş grupta, sağlıklı gruba göre belirgin bir şekilde artış görülmüştür.

Ahmed ve arkadaşları (2013) semptomatik apikal periodontitisli dişlerde MMP-9 ekspresyonunun belirgin bir şekilde yükseldiği ve tespit edilen gram negatif bakteri miktarı ile korelasyon gösterdiği hipotezini doğrulamak için, semptomatik ve asemptomatik periapikal lezyonlu dişlerden doku örnekleri toplamışlardır. Semptomlu doku örnekleri, asemptomatik doku örneklerine göre daha yüksek ortalama gram-negatif hücre sayısı ve MMP-9 alan yüzdesi göstermiştir. Gram negatif hücre sayısı ile MMP-9 alan yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Sonuçlar semptomatik periapikal lezyonlarda gram-negatif bakterilerin ve MMP-9'un belirgin rolleri olduğunun göstergesi kabul edilebilir.

Apikal periodontitise uzanan moleküler olaylar silsilesi tam olarak bilinmemektedir. Nötrofil kemotaksisi ile ilişkili ana enflamatuar medyatör IL-8 ve kemik yıkımı ile ilişkili NF- κ B reseptör aktivatörü (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) bu konu ile ilgili araştırılması gereken moleküllerdir. Rechenberg ve arkadaşları (2014) semptomatik geri dönüşümsüz pulpitis ve asemptomatik apikal periodontitis tanısı konmuş dişlerin periapikal sıvısındaki RANKL, OPG ve IL-8 seviyelerini incelemişlerdir. RANKL pulpitisli dişlerde, periodontitisli dişlere göre belirgin bir şekilde daha yüksek eksprese edilirken, OPG çoğu örnekte tespit limitinin altında kalmıştır. RANKL seviyeleri ile ters olarak IL-8 seviyeleri pulpitisli dişlerde, periodontitisli dişlere göre belirgin bir şekilde düşük bulunmuştur. Spearman'ın korelasyon analizi RANKL ve IL-8 seviyeleri arasında belirgin bir negatif korelasyon olduğunu açığa çıkarmıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre, apikal periodontitis gelişiminde, RANKL tarafından oluşturulan periapikal kemik yıkımı

sinyali, IL-8 tarafından oluşturulan enflamatuar hücre toplanma sinyalinden önce meydana gelmektedir.

1.5.3 Pulpa Dokusu ve/veya Pulpa Kaynaklı Kan

Pulpa dokusu, kan ve hücrel komponentleri spesifik ve non-spesifik bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynar. Pulpa dokusu ve pulpadaki kan, periferel kandan farklı olarak bölgeye özgü bilgi alabilmeyi sağlayacak faktörler içerebilir.

İlk olarak Zürih Üniversitesi'nden Dr. Florian Prader pulpa kaynaklı kan hemogramını incelemiştir. 1949'da ilerleyen endodontik enfeksiyonlu dişlerin, pulpasındaki kan smearleri ile histolojik olarak hesaplanan enflamasyon seviyelerini karşılaştırmış ve çalışma sonucunda bakteri mevcudiyeti, hücrel kan bileşenlerinin, özellikle PMNL'lerin artışı ile bağlantılı bulunmuştur. On beş yıl sonra bir diğer çalışmada Guthrie ve arkadaşları (1965) pulpaları çürük nedeniyle açılmış dişlerin klinik semptomlarını, pulpa kaynaklı kan smearlerini ve aynı dişler çekildikten sonra histolojik durumlarını karşılaştırmışlardır. Dental pulpa hemogramı ve pulpa hastalığının seviyesi arasında kesin bir ilişki bulunamamış ancak pulpasında yaygın enflamasyon olduğu daha sonra mikroskopik olarak belirlenmiş dişlerden alınan kan örneklerinde nötrofil sayısında artış tespit edilmiştir. Pulpanın ekspozite olduğu bölgede aşırı kanama ve kanda dejenerasyon ve karyolizise sebep olan nötrofillerin varlığı pulpadaki geniş enflamasyonun indikatörü olarak bulunmuştur. Sıcak, soğuk, elektrikli pulpa testleri, mobilite ve perküsyon hassasiyeti pulpitis derecesini belirlemede bir değere sahip bulunmazken, gece ağrısı hikayesi dikkate değer şekilde pulpal enflamasyonla ilişkili bulunmuştur.

Bu yöndeki araştırmaların geçmişte çok ilgi görmemesinin sebebi, pulpa dokusu ve/veya pulpa kaynaklı kan örneği elde edebilmek için pulpa odasına girilmesi gerekliliğidir. Pulpa odasına girilmesi durumunda, pulpanın canlı kalma şansının azaldığı bilinmektedir (Bjorndal ve ark. 2010).

Modern moleküler teknikler kullanılarak (enzime bağlı immunosorban yöntem, ELİSA) pulpal kaynaklı kanda protein seviyesinde moleküler belirteç ölçmek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Nakanishi ve arkadaşları (1995)

enflamasyon süresince artan belirteçlere bakmışlar, IgG, IgA, IgM, elastaz ve özellikle PGE₂'nin sağlıklı dişlere göre enflamasyonlu dişlerde artmış olduğunu görmüşlerdir.

ElSalhy ve arkadaşları (2013) klinik olarak geri dönüşümsüz pulpitis, asemptomatik pulpası açığa çıkmış derin çürüklü dişler ve normal dişler şeklinde tanımlanmış 3 grubun pulpal kan örneklerinde IL-2,-6,-8,-10, TNF- α ve IFN- γ seviyelerini incelemiş ve enflamatuvar sitokinlerin, anti-enflamatuvar sitokinlere oranlarının değişip değişmediğini araştırmışlardır. IL-6, TNF- α ve IFN- γ normal pulpa grubuna göre belirgin bir şekilde diğer gruplarda yüksek bulunmuştur. IL-2 ve IL-10 seviyeleri çürükle açığa çıkmış asemptomatik pulpa grubunda, diğer gruplara göre belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur. IL-8 seviyesi, IL-6/IL-10 ve IL-8/IL-10 oranları geri dönüşümsüz pulpitis grubunda çürükle ekspozite olmuş dişlere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda, IL-8 seviyesi, IL-6/IL-10 ve IL-8/IL-10 oranları potansiyel pulpa enflamasyonu indikatörleri olarak düşünülmüştür. Çalışma sonucunda, pulpa kaynaklı kanda sitokin seviye değerlendirmesinin pulpa enflamasyon tanısı koymada yardımcı olabileceği belirtilmiştir.

Evrosimovska ve arkadaşları (2012) enflame ve sağlıklı pulpa dokusunda kolajenaz (MMP-1, -8, -13) seviyelerini ve dağılımını ölçmek için kronik pulpitis tanısı konmuş dişlerden ve ortodontik sebeplerden çekilmiş molar dişlerden örnekler toplamışlardır. Kolajenaz seviyeleri enflame örneklerde, sağlıklı örneklere göre belirgin bir şekilde daha yüksek seviyelerdedir. Sonuçlar, MMP'lerin enflamasyon sürecinde ekstrasellüler matris yıkımında önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir. Bu çalışma enflamasyon sürecinin monitorize edilmesinde ve pulpa enflamasyonunun tanısında çağdaş bir metod bulma konusunda yeni bir yol açmıştır.

Enflamasyonlu pulpalarda dentin matris protein-1 (DMP-1) varlığını incelemek ve pulpa enflamasyonundaki rolünü anlamak amacıyla Abd-Elmeguid ve arkadaşları (2012) bir çalışma yapmışlardır. Normal pulpa grubunda DMP-1'in ekspresyonu görülmezken, enflame pulpa grubunda DMP-1, tüm örneklerde merkez pulpada ve subodontoblastik hücre tabakasında lokalize edilmiştir. Ayrıca DMP-1'in fibroblastlardan IL-6 ve IL-8 üretimini uyardığı belirlenmiştir. Sonuçlar DMP-1'in diş pulpasındaki enflamatuvar değişikliklerin oluşumuna katılabileceğini göstermektedir.

Martin-Gonzalez ve arkadaşları (2013) sağlıklı ve enflame pulpalarda leptin ekspresyonunu araştırmak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Pulpa doku örnekleri çürüksüz çekilmiş üçüncü molar dişlerden elde edilirken, 7 adet üçüncü molar dişte enflamasyon çekimden hemen önce pulpa ekspoz edilerek tetiklenmiştir. Bütün örneklerde leptin ekspresyonu gözlenmiş, ancak enflame pulpa dokusunda leptin ekspresyonu sağlıklı gruba göre belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bu çalışma ile enflame pulpada görülen leptin ekspresyon artışı, leptinin pulpal enflamasyonda ve immün cevapta rol oynayabileceğini göstermiştir.

Accorsi Mendonça ve arkadaşları (2013) yaptıkları çalışmada sağlıklı ve enflame pulpa dokularında MMP-2 ve MMP-9'un jelatinolitik aktivitesini ve MMP-2 doku inhibitörü (TIMP-2) ve myeloperoksidaz proteininin (MPO) ekspresyonunu karşılaştırmışlardır. Enflame pulpa dokularında sağlıklı dokulara kıyasla MMP-9, aktif MMP-2, TIMP-2 ve MPO düzeylerinde artış görülmüştür. Sonuç olarak, bütün örnekler MMP-2 ekspresyonu ile ilişkili olmasına rağmen, bu MMP'nin aktif formu yalnızca enflame pulpa dokularında, MMP-9, TIMP-2 ve MPO'nun upregülasyonu şeklinde gözlenmiştir.

Histonsuz bir DNA bağlayıcı protein olan 'high mobility group box 1' (HMGB1), hücre dışı bölgede serbest bırakılır ve enflamasyonu başlatır. HMGB1, vasküler ve enflamatuar hastalıklara aktif olarak katılan ilerlemiş glikasyon son ürünleri (RAGE) için olan reseptör de dahil olmak üzere, ilgili hücre sinyal iletim reseptörlerine bağlanır. RAGE ve HMGB1'in pulpitis patogenezinde yer alıp almadığını incelemek ve odontoblast benzeri hücrelerde (OLC-1) RAGE ve HMGB1 ekspresyonu üzerine *Prevotella intermedia* LPS'nin etkisini araştırmak amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Sonuçta klinik olarak enflame diş pulpa dokusunda RAGE ve HMGB1 ekspresyon seviyeleri sağlıklı diş pulpa dokusundan daha yüksek bulunmuştur. LPS, HMGB1'i üreten OLC-1 hücrelerini RAGE yoluyla doz bağımlı bir şekilde stimüle etmiştir. Bu bulgular, RAGE ve HMGB1'in oral bakteriyel enfeksiyona verilen pulpal immün yanıtta önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir (Tancharoen ve ark. 2014).

Mente ve arkadaşları (2016) 'pulpitis, nötrofil granüositlerin invazyonu ve bunların MMP-9 salınımı ile ilişkilidir' hipotezini araştırmak amacıyla, geri dönüşümlü pulpitisli, geri dönüşümsüz pulpitisli ve asemptomatik derin çürüklü dişlerin pulpalarından kan örnekleri toplamışlardır. Asemptomatik dişlerdeki MMP-9

seviyeleri, geri dönüşümlü pulpitisli veya geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerinkinden anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Aseptomatik dişlerin ve nonsteroid antienflamatuar ilaç almış geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerin MMP-9 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu bulgular, pulpa kan örneklerindeki MMP-9 düzeylerinin, pulpa doku enflamasyonunun farklı evrelerinde ayırıcı nitelikte yararlı bir tanı aracı olabileceğini göstermektedir.

Pulpa patogeneğinde son çalışmalarda geri dönüşümlü pulpitiste, geri dönüşümsüz pulpitise göre osteokalsin ekspresyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Abd-Elmeguid ve ark. 2013). Osteokalsin pulpada reparatif moleküldür, tamir gereken durumlarda kalsifikasyon alanlarının ve kan damarlarının etrafındaki hücrelerde ve matrikste lokalize olur; fakat normal dokularda bulunmaz.

1.5.4 Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS)

DOS dişeti oluğundan kaynaklanan bir salgıdır. Bu sıvı antikor, bakteriyel antijen, protein ve sitokinler gibi çok sayıda konakçı faktörü içerir (Taba ve ark. 2005). 1950'lerin sonunda DOS'nın, periodontal enflamasyonla ilişkilendirilmesi fikri ortaya atılmıştır. Çünkü DOS periodontal ligament tarafından üretilir ve modifiye edilir (Lamster 1997). Bundan sonra yapılan bütün çalışmalar, periodontal olarak etkilenmiş dişlerde DOS'ndaki konakçı faktörlerinin, sağlıklı olan dişlerdekinden farklı olduğunu göstermiştir (Loos ve Tjoa 2005). Aynı sonuç ortodontik tedavi sonrası ve travma sonrası kök rezorpsiyonu olan dişlerde de gösterilmiştir (George ve Evans 2009, Kumar ve ark. 2013). Bu gözlemlerden sonra ortak sonuç; periodontal enflamasyonun, altında yatan sebep ne olursa olsun değerlendirilebileceğidir. Çünkü periodonsiyum ve endodonsiyumun damarsal ve sinirsel kaynakları fonksiyonel ve anatomik olarak bağlantılıdır (Vertucci ve Williams 1974, Capra ve ark. 1984b). DOS örneği almak non-invaziv bir yöntem olduğundan bütün klinik vakalarda diagnostik bilgi sağlamak amacıyla kullanılabilir. Fakat yapılan çalışmalarda, endodontik olarak etkilenmiş dişlerde DOS'ndan alınan örneklerde konakçı faktörlerindeki değişiklikler daha belirsiz bulunmuştur. Bazı çalışmalarda; ağrılı ve ağrısız dişlerde nörotransmitter, IL-8 ve MMP-8 bileşiminin

DOS'nda değişiklik gösterdiği gözlenmiştir (Awawdeh ve ark. 2002c, Avellan ve ark. 2008, Karapanou ve ark. 2008, Shin ve ark. 2011). Diğer araştırmalar; asemptomatik apikal periodontitisli ve sağlıklı kontrol grubu arasında, DOS'ndaki moleküler kompozisyondaki farklılıkları ölçmüşlerdir (Belmar ve ark. 2008, Burgener ve ark. 2010, Dezerega ve ark. 2012).

DOS analizleri bazı araştırmacılar tarafından ümit verici olarak değerlendirilmektedir. Çünkü apikal periodontitis, marjinal periodontitis gibi periodontal ligamentteki lokal bir enflamasyondur. Teorik olarak apikal periodontitisin dinamiği ile ilgili bilgilere erişmek (örneğin, kanal tedavisi sonrası apikal periodontisteki iyileşme süreci) DOS analizleri ile mümkün olabilir. Fakat, DOS'ndaki konakçı medyatörlerinin yükselmesi konusunda önemli bir sorun vardır. Bu sorun, sebebinden bağımsız olarak, enflamasyonun doğal bağışıklık sisteminin non-spesifik bir süreci olduğudur (Hahn ve Liewehr 2007a). Bundan dolayı, marjinal ve apikal periodontal enflamasyonu birbirinden ayırmak zorlaşmaktadır.

Karapanou ve arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmalarında, IL-8 ve TNF- α ölçümleri için geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerden, bitişiğindeki dişlerden ve kontralateralindeki dişlerden DOS örnekleri elde etmişlerdir. 7 geri dönüşümsüz pulpitisli dişten lokal anestezi yapıldıktan sonra örnekler toplanmış ve farklı bir grup olarak değerlendirilmiştir. Ağrı şiddeti sözlü sayısal skala (1-10) kullanılarak rapor edilmiştir. 25 dişten alınan örneklerde TNF- α , DOS'nda tespit edilememişken, 18 dişten alınan örneklerde IL-8 geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerde, bitişiğindeki ve kontralateralindeki dişlere göre belirgin bir şekilde daha yüksek olarak ölçülmüştür. Skalada ağrı şiddeti 5'in üstünde olan dişlerde, kontralateral dişe göre belirgin bir şekilde yüksek IL-8 seviyesi ölçülmüştür. Lokal anestezi yapılmış grupta çok düşük IL-8 seviyesi bulunmuştur. Bu durumda DOS'ndaki IL-8 miktarını ölçmenin akut pulpitisli hastaların evrelendirilmesinde faydalı olabileceği düşünölmüştür.

Avellan ve arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmada elektrik ile stimüle edilen deneysel diş ağrısının SP ve MMP-8'in DOS'ndaki seviyelerinde değişiklik oluşturup oluşturmadığını araştırmışlardır. Üst santral dişlere uygulanan ağrı stimölasyonu ile DOS'larındaki SP ve MMP-8 seviyelerinde belirgin bir şekilde artış görölmüştür. Stimüle edilmemiş kontrol dişlerinde bu seviyeler değişmeden kalmıştır. Bu sonuçlar enflamasyon reaksiyonlarının pulpadan etrafındaki periodontal dokulara lokal nörojenik yayılması ihtimalini desteklemektedir.

Belmar ve arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmada etkilenmiş ve sağlıklı dişlerden DOS örneği elde ederek apikal lezyonlu dişlerin DOS'ndaki jelatinolitik aktiviteyi saptamayı amaçlamışlardır. Etkilenmiş dişlerin DOS örneklerinde, sağlıklı dişlere göre proMMP-9 seviyeleri belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur ve bu seviyeler MMP-9 aktivitesi ile orantılıdır. Aynı şekilde MMP-2 aktivitesi de sadece hastalıklı örneklerde saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda, MMP-9 ve MMP-2'nin periapikal lezyonlu dişlerden alınan DOS örneklerinde oldukça yüksek olduğu ve bu jelatinazların kronik apikal periodontitisi monitorize etmek için faydalı belirteçler olduğu belirlenmiştir.

Shin ve arkadaşları (2011) DOS'ndaki MMP-8 ve SP seviyelerinin nonvital dişlerin kök kanal tedavisi sırasındaki değişimlerini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlardır. Tedaviye başlamadan önce, ikinci seansta irigasyon yapmadan önce ve üçüncü seansta kanal dolumu gerçekleşmeden olmak üzere örnekler toplanarak, MMP-8 ve SP seviyeleri ölçülmüştür. Hastaların subjektif ağrı seviyeleri belirgin bir şekilde MMP-8 ve SP seviyeleri ile bağlantılı bulunmuştur. MMP-8 ve SP seviyeleri kök kanal tedavisi sürecinde düşmüş ve birbirleri ile pozitif bir korelasyon göstermişlerdir. Bu çalışma sonucunda, periradiküler enflamasyonun DOS'ndaki MMP-8 ve SP seviyelerini yükselttiği gözlenmiştir.

Diğer bir çalışmada, asemptomatik apikal periodontitis tanısı ile çekim endikasyonlu dişler ve sağlıklı fakat ortodontik nedenle çekim endikasyonu konmuş dişler toplanmış; apikal lezyonlar ve sağlıklı periodontal ligamentlerden elde edilen homojenize doku örneklerinde MMP-2 ve MMP-9 seviyeleri ve/veya aktivitesi belirlenmiştir. Ayrıca asemptomatik apikal periodontitis (AAP) tanısı konmuş endodontik tedavi yapılacak dişler seçilmiş, AAP'li dişlerden ve kontralateralindeki sağlıklı dişlerden DOS örnekleri alınmıştır. Endodontik tedavi sonrası tekrar AAP'li dişlerden DOS örneği toplanmıştır. Homojenize doku ve DOS örneklerinde total oksidan ve antioksidan miktarları belirlenmiştir. MMP-2 ve MMP-9 aktivitesi apikal lezyonlarda yüksek bulunmuştur. Toplam oksidan miktarı MMP-2 ve lezyon büyüklüğü ile pozitif yönde korelasyon göstermiştir. Kontrol grubu ve kök kanal tedavisi yapılmış gruba göre, apikal lezyonlu dişlerin DOS örneklerinde belirgin bir şekilde daha düşük antioksidan miktarı belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, apikal lezyonların oksidan dengesizliği ve artmış MMP-2 ve MMP-9 aktivitesi gösterdiği, bunların AAP gelişmesine katkıda bulunabileceği görülmüştür. Ayrıca oksidan

dengesizliği konservatif endodontik tedavi ile normal düzeylerine dönmektedirler. DOS'ndaki bu medyatörler hasta başı apikal durum tanısında belirteç olarak faydalı olabilir (Dezerega ve ark. 2012).

Burgener ve arkadaşları (2010) DOS örneklerinde IL-1 β ve dentin sialoproteininin (DSP) apikal periodontitis tanısında uygun bir belirteç olup olmadığını belirlemek için bir çalışma yapmışlardır. DOS örnekleri apikal periodontitisli dişlerden ve sağlıklı kontralaterallerinden toplanmıştır. Kontrol grubuna göre, apikal periodontitisli grup DOS örneklerinde belirgin bir şekilde yüksek protein içeriği saptanmıştır. IL-1 β ve DSP seviyeleri hastalıklı grupta daha yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Bu çalışma sonucunda, DOS'nda yüksek total protein seviyesinin, periapikal hastalık için muhtemel bir belirteç olabileceği öngörülmüştür.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Hasta Seçimi ve Çalışma Planı

Bu çalışma için Kırıkkale Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06.03.2018 tarih ve 04/01 nolu Etik Kurul Onay Belgesi (Ek 1) alınmıştır. Örneklem büyüklüğü G*Power v3.1 (Heinrich Heine, Universität Düsseldorf) kullanılarak hesaplanmıştır. 0.05 anlamlılık düzeyinde, 0.90 güce göre grup başına toplam 17 ve üstü örnek sayısının yeterli olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmaya Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı Kliniği'ne başvuran, 20 adet herhangi bir patolojiye sahip olmayan protetik amaçla kök kanal tedavisi yapılacak dişe sahip olan hastalar ve 20 adet radyografik olarak periapikal enflamasyon görülmeyen, geri dönüşümsüz akut pulpitis tanısı konup kök kanal tedavisine karar verilen dişe sahip olan hastalar dahil edilmiştir.

Hastalar; 16-50 yaş arasında kadın ya da erkek bireylerden seçilmiştir. Hastaların çalışmaya katılma gönüllülüğü esas alınmıştır. Hastalar çalışma hakkında bilgilendirmiş ve çalışmaya katılmak isteyen hastalardan bilgilendirilmiş gönüllü onam formu (Ek 2) alınmıştır. 18 yaşından küçük hastalarda onam hastanın ebeveyninden (Çocuk Hasta Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu, Ek 3) alınmıştır.

Antibiyotik profilaksi gerekliliği, diyabet, hematolojik hastalıkları olan, son dört hafta içinde antiinflamatuvar, antibiyotik, antidepresan kullanan, tedavi sırasında hamile olan, dişlerinde yoğun plak veya diştasi görülen, dişetlerinde kızarıklık ve kanama olan, şiddetli gingivitis, generalize periodontitis ya da 3mm'den fazla dişeti cebi derinliği olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Protetik amaçla kök kanal tedavisi yapılacak sağlıklı dişlere sahip olan hastalar (Grup 1) ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlere sahip olan hastalar (Grup 2) olmak üzere 2 grup oluşturulmuştur. Her hastanın dişinden pulpa dokusu, ilk seans DOS örneği, ikinci seans DOS örneği ve ilk seans kontralateralindeki diştenden DOS örneği olmak üzere 4 örnek toplanmıştır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Çalışma gruplarının oluşturulması.

1.GRUP	2.GRUP
Sağlıklı dişler	Pulpitis tanısı konmuş dişler
1A.Pulpa dokusu	2A.Pulpa dokusu
1B.1.seans DOS örneği	2B.1.seans DOS örneği
1C.1.seans kontralateral diştten alınan DOS örneği	2C.1.seans Kontralateral diştten alınan DOS örneği
1D.2.seans (1hafta sonra) DOS örneği	2D.2.seans (1hafta sonra) DOS örneği

Çalışmaya dahil edilen hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alındıktan sonra, her hastanın ağrı şiddeti "ağrı yok" ve "şiddetli ağrı" skorlarıyla 10 cm'lik bir görsel analog skalasında kaydedilmiştir (Şekil 2.1). Gingival indeks ve cep derinliği ölçümleri, periodontal dokuların iritasyonunu ve kan kontaminasyonunu engellemek için DOS örnekleri alındıktan sonra yapılmıştır (Hasta Kayıt Formu, Ek 4). Cep derinliği 3 mm'den fazla olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.



Şekil 2.1. Ağrı seviyesininin tespit edilmesinde kullanılan visüel analog skalası (görsel analog skalası, VAS).

2.2 Pulpa ve DOS Örneklerinin Alınması

Sağlıklı ve geri dönüşümsüz akut pulpitis tanısı konmuş dişlerin tedavisine başlanmadan önce, lokal anestezi yapılmadan bu dişlerden ve geri dönüşümsüz akut pulpitisli dişlerin kontralateralindeki dişlerden DOS örnekleri alınmıştır. DOS örneği alınacak diş pamuk peletler ile izole edilmiştir. Supragingival plak dişetlerine temas etmeksizin küret (Hu-Friedy Universal) ile dikkatlice uzaklaştırıldıktan sonra, diş 10 saniye hafif hava basıncı ile kurutulmuş ve direnç hissedilene kadar periopaper şeritleri (Oraflow, New York, USA) gingival sulkusa yerleştirilmiştir. Periopaper şeritleri 1 dakika sonra gingival sulkustan alınmıştır (Şekil 2.2). Örnekler alınırken kan ve tükürükle kontamine olmamasına özen gösterilmiş; kontamine olan örnekler tekrar edilmiştir. Periotron 8000 (OraFlow, New York, USA) kullanılarak DOS miktarı ölçülüp kaydedilmiştir (Şekil 2.3). Periotron cihazında ölçülen değerlerin mikrolitre cinsinden karşılıkları kaydedilmiştir. Periopaper şerit, 1.5 cc'lik eppendorf tüplere (Labosel, İstanbul, Türkiye) konularak gerekli olana kadar -80 °C'de (Nüve DF 490, Ankara Türkiye) (Şekil 2.4) saklanmıştır (Awawdeh ve ark. 2002b).



Şekil 2.2. DOS örneklerinin periopaper şeritler ile alınması.



Şekil 2.3. DOS miktarının Periotron 8000 cihazı ile ölçülmesi.



Şekil 2.4. Örneklerin saklandığı -80 °C buzdolabı.

Sağlıklı ve akut pulpitis tanısı konmuş hastaların dişleri lokal anestezi yapıldıktan sonra rubber-dam (Keystone, Myerstowm, PA) ile izole edilmiştir. Dişlerin çürük ya da varsa restorasyonu su soğutmalı aeratörde 14 nolu elmas fisür frez (MDT Çankaya, Ankara) kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Pulpa odası tavanı 14 nolu çelik rond frezle (Edenta, Switzerland) mikromotor yardımıyla kaldırılmıştır (Şekil 2.5). Steril bir ekskavatör (Jensen, North Haven, Connecticut) ve tirnerf (VDW, Munich, Germany) kullanılarak sağlıklı ve enflame pulpa örnekleri çıkarılarak (Şekil 2.6, Şekil 2.7) 200 µl 0.01 M, 7,2 pH'ta ve 0,15 M sodyum klorit içeren fosfat tamponlu salin eklenen eppendorf tüplerine (Şekil 2.8) yerleştirilerek -80 °C'de (Nüve DF 490) kullanım aşamasına kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.5. Pulpa tavanı kaldırıldıktan sonra pulpa odasının görünümü.



Şekil 2.6. Pulpa dokusu çıkarıldıktan sonraki pulpa odasının görünümü.



Şekil 2.7. Pulpa odası ve kök kanalından toplanan pulpa dokusu örnekleri.



Şekil 2.8. Pulpa doku örneklerinin eppendorf tüplerde saklanması.

15 nolu K tipi eğe kök kanalına yerleştirilerek apeks locator (Morita Root ZX Mini, Kyoto, Japan) yardımı ile çalışma boyu belirlenmiştir. Kök kanal şekillendirilmesi X-Smart Plus (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) endomotor ve ProTaper Universal eğeleri (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) ile yapılmıştır. Sırasıyla S1, S2, F1, F2 ve F3 eğeleri kullanılarak kök kanal şekillendirmesi tamamlanıp, kök kanallarının her eğe arasında ve preperasyon sonrasında % 2.5 sodyum hipoklorit ile irigasyonundan sonra, kanallar paper pointlerle kurutulmuş ve kök kanalına kalsiyum hidroksit (Kalsin, Aktuğ Tic. Bornova, İzmir) yerleştirilmiştir. Daha sonra giriş kavitesinin üstü bir pamuk pelet ile örtülmüş ve bir hafta sonraki randevusuna kadar çinko fosfat siman (SpofaDental, Jicin, Czech Republic) ile kapatılmıştır.

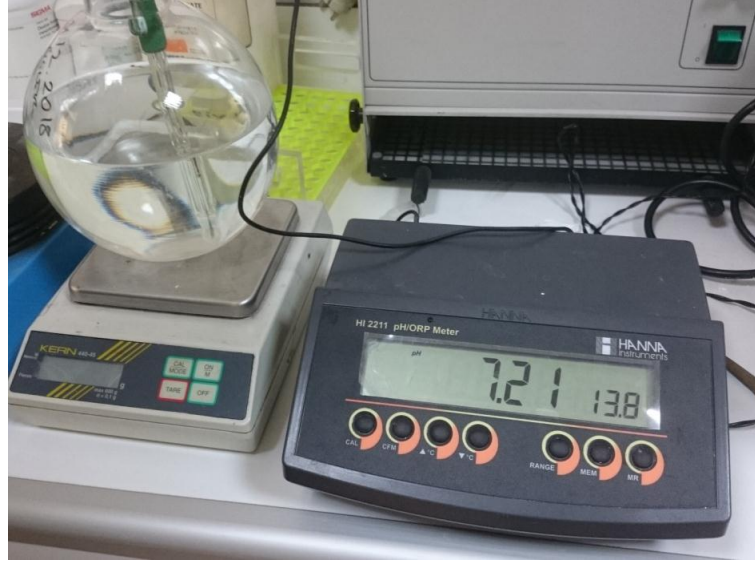
Çalışmaya dahil edilen 40 dişin bir hafta sonra DOS örnekleme tekrarı yapılmıştır. Hastalarda dişlerin rutin kök kanal tedavi prosedürleri uygulanarak tedavi süreci tamamlanmıştır. Dişler, ProTaper Universal eğeleri ile uyumlu açılı gütaperka (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) ve kanal dolgu patı (TGAdseal, TGDent, London, England) kullanılarak lateral kondensasyon yöntemiyle doldurulmuştur. Fazla güta perka kök kanal girişinden itibaren sıcak bir

ekskavatörle kesilerek uzaklaştırılmış ve uygun bir plugger yardımıyla vertikal kondenzasyon uygulanmıştır. Giriş kavitesi gütaperka ve kanal dolgu patı artıklarından alkol yardımıyla temizlenip kurutulduktan sonra, kaviteye bonding ajanı (Solare Universal Bond GC, Tokyo, Japan) uygulanmıştır. Ardından dişler ışıkla sertleşen kompozit rezin (GC Gradia Direct, Tokyo, Japan, Şekil 2.9) ile tabakalama yöntemiyle restore edilmiştir.



Şekil 2.9 Çalışmamızda kullanılan malzemeler.

Tüm hastalardan örnekler toplandıktan sonra örneklerin ELİSA yöntemiyle değerlendirilmesi işlemine geçilmiştir. -80 °C buzdolabında bekletilen eppendorf tüplerindeki periopaper şeritleri ve pulpa dokusu örnekleri çözdürülerek her bir tüpe 300 µl 7.2 pH'ta Dulbecco fosfat tamponlu salin (DPBS, Şekil 2.10, Şekil 2.11) ilave edilmiştir. Daha sonra örnekler 25 Hertz'de 1 dakika boyunca vortekslenmiştir (VELP Scientifica, Usmate, Italy) (Şekil 2.12). Pulpa örnekleri ultrasonik homojenizatör (Sonics Vibra-cell, Pennsylvania, ABD) ile 1 dakika boyunca çalkalanarak parçalanmıştır (Şekil 2.13). DOS ve pulpa örnekleri homojenize edildikten sonra pulpa örnekleri +4 °C'de 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir (Hettich Micro 22R, Tuttlingen, Germany) (Şekil 2.14).



Şekil 2.10. DPBS'in pH'ının belirlenmesi.



Şekil 2.11. Örneklere DPBS eklenmesi.



Şekil 2.12. Çalışmada kullanılan vorteks cihazı.



Şekil 2.13. Sonics Vibra-cell ultrasonik homojenizatör.



Şekil 2.14. Çalışmada kullanılan Hettich Micro 22R santrifüj cihazı.

Santrifüjden sonra tüplerde üstte kalan süpernatantlar kullanılarak NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 düzeyleri ticari kitler (YLBiont, Shanghai, China) (Şekil 2.15) kullanılarak ELISA ile ölçülmüştür. Öncelikle kuyucuklara 40 µl örnek eklenmiştir. Daha sonra kuyucuklara 50 µl NKA antikor ve 10 µl streptavidin-HRP eklenmiştir. Sızdırmaz plak membranı ile üstü kapatıldıktan sonra 37 °C’de 60 dk inkübe edilmiştir. İnkübatörden çıkarılan plaklar ELISA otomatik yıkayıcısında 5 kere yıkanmıştır (BioTek EL×50, Winooski, VT, USA) (Şekil 2.16). Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra kuyucuklara 50 µl kromojen A, 50 µl kromojen B solüsyonu eklenmiş ve 37 °C’de 10 dk inkübe edilmiştir (Şekil 2.17). 10 dk sonra reaksiyonu durdurmak için 50 µl stop solüsyonu eklenip (Şekil 2.18) ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda absorban ölçülmüştür (BioTek Uquant MQ×200, Winooski, VT, USA) (Şekil 2.19). SP, IL-8 ve MMP-8 için aynı işlemler tekrarlanmıştır.



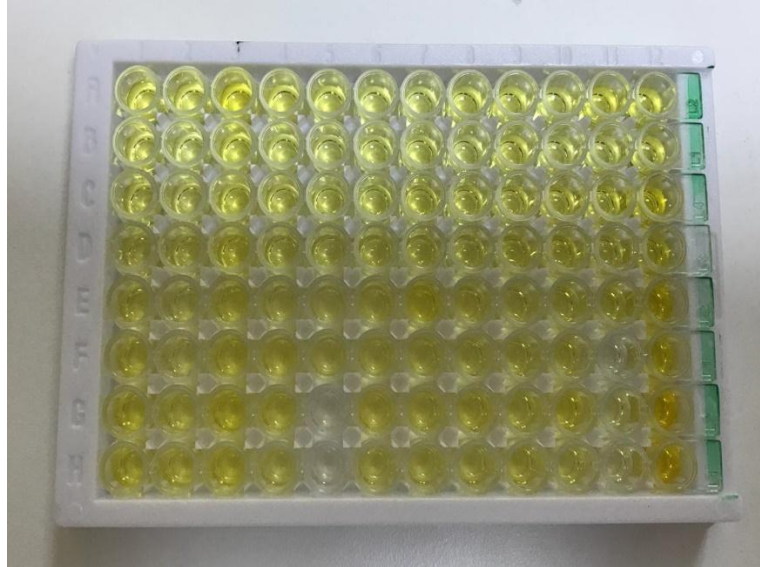
Şekil 2.15. ELİSA kitleri.



Şekil 2.16. ELİSA BioTek EL×50 otomatik yıkayıcısı.



Şekil 2.17. ELİSA kitlerinde inkübasyondan sonraki renk değişimi.



Şekil 2.18. ELİSA kitlerine stop solüsyonu eklendikten sonraki renk değişimi.



Şekil 2.19. BioTek Uquant MQ×200 ELİSA okuyucusu.

MMP-8 kitlerinin tahlil aralığı 0.05 ng/ml-10 ng/ml aralığında olup duyarlılığı 0.021 ng/ml'dir. Bu değerler NKA için 2 ng/L-600 ng/L ve 0.94 ng/L, SP için 5 ng/L-2000 ng/L ve 2.39 ng/L, IL-8 için de 5 ng/L-1000 ng/L ve 2.51 ng/L'dir.

Pulpa doku örneklerinde protein miktarları Lowry's metodu uygulanarak 500 nm dalga boyunda okunmuştur. Protein miktarları birim medyatör miktarını belirlemek için kullanılmıştır.

DOS örneklerinde birim medyatör miktarının belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{Birim } (\mu\text{l}) = \frac{\text{Konsantrasyon} \times \text{dilüent miktarı} / 1000}{\text{DOS miktarı}}$$

Öncelikle Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri yapılarak verilerin parametrik ya da non-parametrik olduğu belirlenmiştir. Parametrik veriler için bağımsız örneklem t testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA), non-parametrik veriler için Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanılmıştır. Sağlıklı ve geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerin DOS ve pulpa doku örneklerinde NKA, SP, IL-8

ve MMP-8 düzeyleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığı değerlendirilmiştir. 1. DOS ve 1 hafta sonra alınan 2. DOS örneklerinin karşılaştırılmasında bağımlı örneklem t testi kullanılmıştır. Son olarak Pearson korelasyon analizi kullanılarak sağlıklı ve geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerin pulpa dokularındaki moleküler belirteçlerdeki değişimin, DOS'ndaki moleküler belirteçler ile benzerliklerine bakılmıştır.



3. BULGULAR

3.1 Klinik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen sağlıklı ve pulpitisli hastaların cinsiyet, yaş, diş numarası ve ağrı ile ilgili bulguları aşağıdaki Tablo 3.1’de verilmiştir. Sağlıklı protetik amaçlı kanal tedavisi yapılacak dişe (Grup 1, n=20) ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş kanal tedavisi yapılacak dişe (Grup 2, n=20) sahip toplam 40 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Grup 1’deki sağlıklı pulpaya sahip hastaların yaş ortalaması 36.8 yıl iken, Grup 2’deki pulpitis tanısı konmuş hastaların yaş ortalaması 22.9 yıl olarak belirlenmiştir. Grup 1’deki 20 hastadan 7’si kadın (%35) 13’ü erkek (%65); Grup 2’deki 20 hastadan 12’si kadın (%60) 8’i erkek (%40)’tir.

Tablo 3.1 Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyet, yaş, diş numarası ve ağrı ile ilgili bulguları.

Grup 1							Grup 2						
	Cinsiyet	Yaş	Diş	perküsyon	Gece ağrısı	Ağrı		Cinsiyet	Yaş	Diş	Perküsyon	Gece ağrısı	Ağrı
1	Kadın	39	21	0	0	0	1	Kadın	38	25	1	1	10
2	Kadın	39	11	0	0	0	2	Kadın	16	16	1	1	7
3	Kadın	18	21	0	0	0	3	Erkek	22	15	1	1	7
4	Erkek	37	13	0	0	0	4	Kadın	29	46	1	1	6
5	Erkek	37	21	0	0	0	5	Kadın	27	36	1	1	7
6	Kadın	38	21	0	0	0	6	Erkek	23	16	1	1	8
7	Erkek	35	11	0	0	0	7	Kadın	16	16	1	1	3
8	Erkek	35	21	0	0	0	8	Erkek	16	25	1	1	5
9	Erkek	30	13	0	0	0	9	Erkek	31	15	1	1	8
10	Erkek	30	22	0	0	0	10	Kadın	20	15	1	1	3
11	Erkek	30	23	0	0	0	11	Erkek	23	15	1	1	9
12	Erkek	40	12	0	0	0	12	Kadın	18	37	1	1	8
13	Erkek	40	13	0	0	0	13	Erkek	22	46	1	1	4
14	Erkek	40	22	0	0	0	14	Kadın	20	35	1	1	7
15	Kadın	61	35	0	0	0	15	Kadın	18	26	1	1	7
16	Kadın	23	18	0	0	0	16	Kadın	16	27	1	1	5
17	Erkek	20	28	0	0	0	17	Erkek	19	26	1	1	8
18	Erkek	38	11	0	0	0	18	Kadın	22	45	1	1	7
19	Erkek	58	23	0	0	0	19	Kadın	21	45	1	1	10
20	Kadın	39	11	0	0	0	20	Erkek	33	14	1	1	8

Sağlıklı pulpaya sahip hastalarda perküsyon hassasiyeti ve gece ağrısı yokken, pulpitis tanısı konmuş tüm hastalarda perküsyon hassasiyeti ve gece ağrısı tespit edilmiştir. Ağrı seviyesini tespit etmek için Grup 2'deki hastalara uygulanan VAS değerlendirmesi sonucunda elde edilen ortalama VAS değeri $6.85 \pm 0,44$ olarak bulunmuştur. Hastalardan 15'i 6 ve üzeri skorlarda ağrısı olduğunu, 5'i 5 ve altında ağrısı olduğunu bildirmiştir.

Cinsiyete göre medyatör miktarlarındaki değişim Tablo 3.2'de verilmiştir. Cinsiyetle medyatör miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). NKA 1. DOS, kontralateral DOS seviyeleri ve MMP-8 2.DOS seviyeleri erkeklerde kadınlara göre daha yüksek belirlenmiştir. Diğer bütün örneklerde kadınlarda medyatör miktarları erkeklere göre yüksek belirlenmiştir.

Tablo 3.2. Cinsiyete göre tüm örneklerde medyatör miktarındaki değişim.

		NKA	SP	IL-8	MMP-8
Pulpa	kadın (n=19)	150,33±13,52 ^A	352,77±44,11 ^A	485,04±45,90 ^A	3,59±0,31 ^A
	erkek (n=21)	125,99±10,44 ^A	242,60±22,81 ^A	415,07±22,97 ^A	3,29±0,25 ^A
1.DOS	kadın (n=19)	80,64±4,82 ^A	419,03±24,59 ^A	301,42±23,40 ^A	2,90±0,22 ^A
	erkek (n=21)	80,95±4,91 ^A	374,36±37,31 ^A	271,30±28,98 ^A	2,86±0,33 ^A
Kont DOS	kadın (n=19)	64,95±5,33 ^A	292,35±28,08 ^A	232,76±20,18 ^A	2,51±0,22 ^A
	erkek (n=21)	71,63±4,35 ^A	286,65±24,45 ^A	208,43±15,50 ^A	2,18±0,18 ^A
2.DOS	kadın (n=19)	66,98±4,84 ^A	322,72±18,94 ^A	219,61±21,74 ^A	2,18±0,16 ^A
	erkek (n=21)	66,89±4,15 ^A	286,10±19,53 ^A	215,71±13,42 ^A	2,65±0,18 ^A

*Aynı sütunda aynı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$)

Yaş aralıklarına göre medyatör seviyelerindeki değişim Tablo 3.3'te verilmiştir. MMP-8 grubunda, yaşı 20 ve altında olan hastalardan alınan 2. DOS örneklerinde medyatör seviyeleri yaşı 31-40 arasında olan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer yandan NKA grubunda, yaşı 20 ve altında olan hastalardan alınan pulpa doku örneklerinde medyatör seviyeleri yaşı 21-30 ve 31-40 arasında olan hastalara göre istatistiksel

olarak anlamlı bir şekilde yüksek olarak belirlenmiştir ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Tablo 3.3. Yaşa göre tüm örneklerde medyatör miktarındaki değişim.

		NKA	SP	IL-8	MMP-8
Pulpa	20 ve altı	187,12±16,33 ^a	297,62±58,16 ^a	504,83±70,25 ^a	3,74±0,27 ^a
	21-30	122,54±9,50 ^b	353,53±58,59 ^a	473,91±35,55 ^a	3,56±0,27 ^a
	31-40	116,08±11,40 ^b	251,82±19,84 ^a	393,66±26,26 ^a	3,14±0,38 ^a
1.DOS	20 ve altı	92,68±5,74 ^a	399,79±35,65 ^a	329,25±43,24 ^a	3,19±0,39 ^a
	21-30	75,11±5,30 ^a	433,42±40,81 ^a	283,55±38,40 ^a	3,28±0,49 ^a
	31-40	77,14±5,62 ^a	366,14±39,27 ^a	258,83±20,60 ^a	2,40±0,17 ^a
Kont DOS	20 ve altı	68,13±6,88 ^a	323,67±33,48 ^a	203,67±17,47 ^a	2,49±0,29 ^a
	21-30	66,43±6,62 ^a	265,23±33,74 ^a	233,02±22,65 ^a	2,05±0,28 ^a
	31-40	70,11±5,08 ^a	284,19±28,90 ^a	221,34±22,68 ^a	2,44±0,20 ^a
2.DOS	20 ve altı	69,10±5,70 ^a	300,44±23,50 ^a	209,56±29,17 ^a	2,01±0,19 ^a
	21-30	58,56±5,42 ^a	296,33±24,18 ^a	200,83±16,61 ^a	2,35±0,22 ^{a,b}
	31-40	71,44±4,91 ^a	310,52±24,01 ^a	234,55±19,02 ^a	2,74±0,19 ^b

*Her grup kendi içinde değerlendirildiğinde farklı harflerle gösterilen yaş grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Ağrı skorlarına göre pulpa örneklerinde medyatör seviyelerindeki değişim Tablo 3.4'te verildiği gibidir. Ağrı skorları ve medyatör seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). VAS'na göre ağrı skorunun 6-10 arasında olduğunu belirten hastaların pulpa örneklerindeki NKA miktarları ağrı skorunun 1-5 arasında olduğunu belirten hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük bulunmuştur. Diğer medyatör gruplarında, VAS'na göre ağrı skorunun 6-10 arasında olduğunu belirten hastaların pulpa örneklerindeki medyatör miktarları ağrı skorunun 1-5 arasında olduğunu belirten hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yüksek bulunmuştur.

Tablo 3.4. Ağrı skorlarına göre pulpa örneklerinde medyatör miktarındaki değişim.

		NKA	SP	IL-8	MMP-8
Pulpa	1-5arası	194,28±8,81 ^a	291,40±13,51 ^a	430,25±45,91 ^a	3,93±0,44 ^a
	6-10arası	164,81±14,81 ^a	389,09±55,25 ^a	563,78±49,20 ^a	4,25±0,33 ^a

*Aynı sütunda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05)

Yaş aralıklarına göre ağrı miktarlarındaki değişim Tablo 3.5'te verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte yaş arttıkça ağrı skorlarında da artış olduğu görülmüştür.

Tablo 3.5. Yaş aralığına göre ağrı miktarındaki değişim.

	20 yaş ve altı	21-30 arası	31 ve 40
Ağrı	5,89±0,65 ^a	7,25±0,64 ^a	8,67±0,66 ^a

Cinsiyete göre ağrı miktarındaki değişim Tablo 3.6'da verilmiştir. Erkek hastalar, kadın hastalara göre daha yüksek ağrı skorları belirtmişlerse de, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

Tablo 3.6. Cinsiyete göre ağrı miktarındaki değişim.

	Kadın	Erkek
Ağrı	6,67±0,64 ^a	7,13±0,61 ^a

3.2 Nörokinin-A bulguları

ELİSA testi sonucunda bütün pulpa ve DOS örneklerinde ölçülebilir NKA miktarları belirlenmiştir. Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait örneklerin ortalama

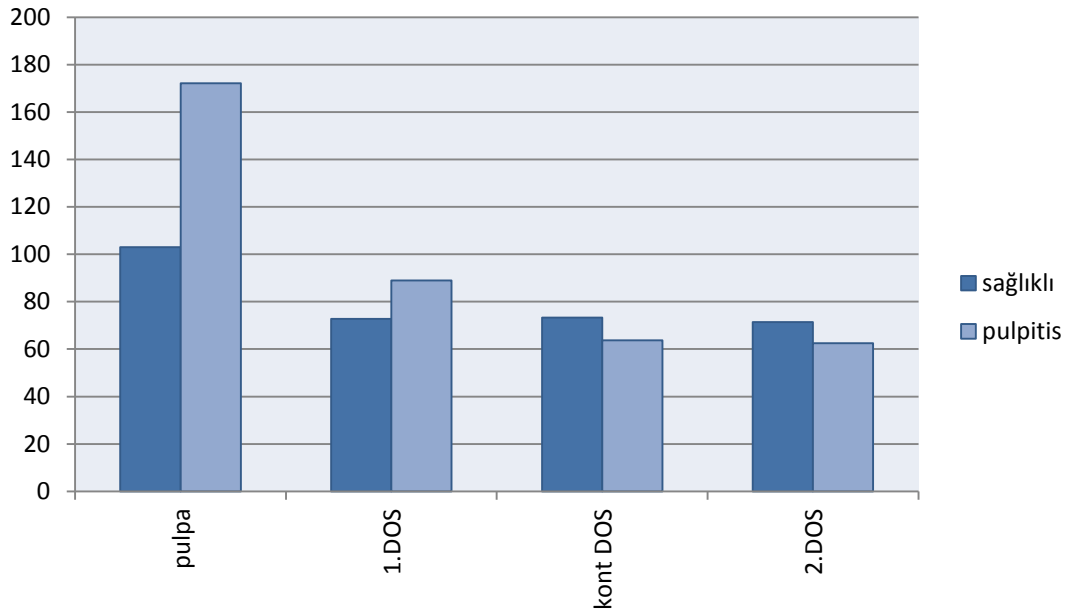
NKA seviyeleri ve standart sapmaları Tablo 3.7’de, örneklerdeki NKA miktarlarının gruplara göre dağılımı ise Grafik 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.7. Sağlıklı ve pulpitisli hastaların NKA ortalama ve standart sapmaları.

		Pulpa	1.DOS	Kont. DOS	2.DOS
NKA	1.grup(sağlıklı)	102,93±6,36 ^{A,a}	72,68±4,80 ^{A,b}	73,26±4,11 ^{A,b}	71,42±4,54 ^{A,b}
	2.grup(pulpitis)	172,18±11,57 ^{B,a}	88,92±4,19 ^{B,b}	63,66±5,32 ^{A,c}	62,44±4,17 ^{A,c}

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05)

**Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05)



Şekil 3.1. Örneklerdeki NKA miktarlarının gruplara göre dağılımı.

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, sağlıklı gruba göre pulpitis grubundaki pulpa örneklerinde NKA miktarı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (p<0.05). Aynı şekilde pulpitis grubunda 1. DOS örnekleri de sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0.05). Sağlıklı ve pulpitisli hastaların kontralateral dışından alınan

DOS örneklerinde ve 1 hafta sonra alınan 2. DOS örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0.05$).

Grup içi karşılaştırmalara bakıldığında, sağlıklı grupta pulpa ve diğer tüm DOS örnekleri NKA miktarları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum sağlıklı durumda pulpa dokusunun DOS'na göre daha yüksek seviyelerde NKA nöropeptidi ihtiva ettiğini göstermektedir. Sağlıklı grupta tüm DOS örnekleri NKA seviyeleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Pulpitis grubunda grup içi karşılaştırmada, pulpa ve diğer tüm DOS örnekleri NKA seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). 1. DOS örneğinde elde edilen NKA seviyesinin diğer DOS örneklerinde elde edilen NKA seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Bu da kontralateral sağlıklı dişte ve pulpitisli dişlere yapılan kanal tedavisi sonucunda ağrı ve enflamasyonun giderilmesiyle DOS'ndaki NKA seviyesinin azaldığını göstermektedir. Kontralateral DOS örneği ve 2. DOS örneği NKA seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin NKA seviyeleri arasındaki korelasyon Tablo 3.8'de verilmiştir. Çalışmamızda geri dönüşümsüz akut pulpitis tanılı hastaların pulpa ve 1. DOS'ndaki NKA seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görülme de ($p>0.05$), enflamasyona bağlı olarak hem pulpa hem de DOS örneklerinde NKA seviyelerinin benzer bir şekilde arttığı gözlenmiştir.

Tablo 2.8 Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin NKA seviyeleri arasındaki korelasyon

		Pulpitis	
		Pulpa	1.DOS
Sağlıklı	Pulpa	r 0,536	
		p 0,065	
	1.DOS	r -0,097	
		p 0,685	

3.3 Substance P Bulguları

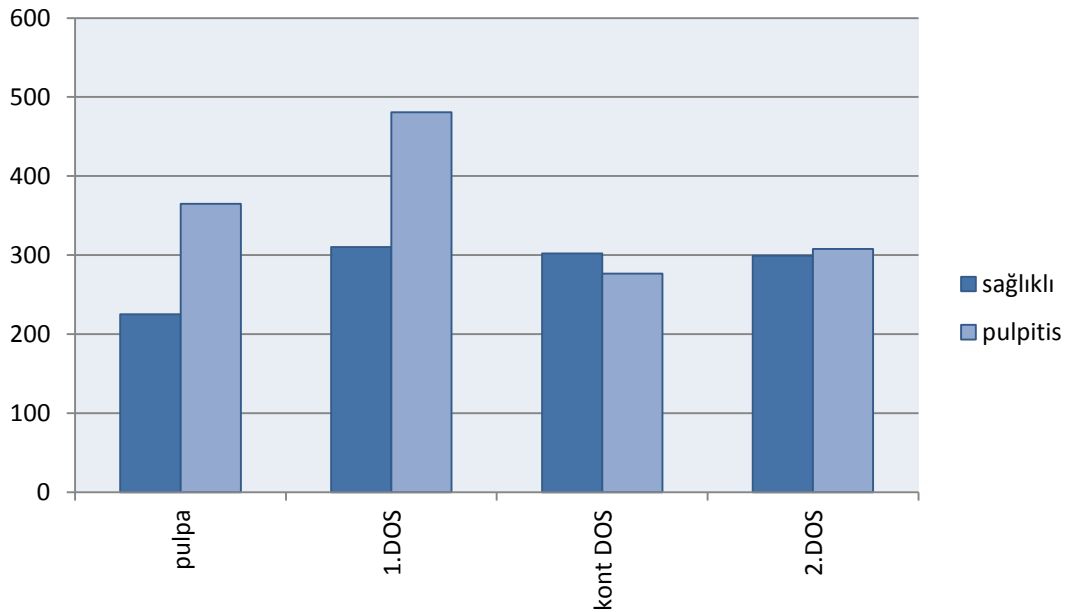
ELİSA testi sonucunda bütün pulpa ve DOS örneklerinde ölçülebilir SP miktarları belirlenmiştir. Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait örneklerin ELİSA bulgularının istatistiksel verileri Tablo 3.9’de, örneklerdeki SP miktarlarının gruplara göre dağılımı ise Grafik 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.9. Sağlıklı ve pulpitisli hastaların SP ortalama ve standart sapmaları.

		Pulpa	1.DOS	Kont. DOS	2.DOS
SP	1.grup (sağlıklı)	225,19±18,51 ^{A,a}	310,35±21,73 ^{A,b}	302,25±24,89 ^{A,b}	299,11±19,57 ^{A,b}
	2.grup (pulpitis)	364,67±42,32 ^{B,a}	480,81±29,97 ^{B,b}	276,47±27,09 ^{A,c}	307,87±19,87 ^{A,c}

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05)

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05)



Şekil 3.2. Örneklerdeki SP miktarlarının gruplara göre dağılımı.

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, sağlıklı gruba göre pulpitis grubundaki pulpa örneklerinde SP miktarı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı şekilde pulpitis grubunda 1. DOS örnekleri de sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Sağlıklı ve pulpitisli hastaların kontralateral dişinden alınan DOS ve 1 hafta sonra alınan 2. DOS örneklerinde sağlıklı ve pulpitis örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0.05$).

Grup içi karşılaştırmalara bakıldığında, sağlıklı grupta pulpa ve diğer tüm DOS örnekleri SP seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum sağlıklı koşullarda pulpa dokusunun DOS'na göre daha düşük seviyelerde SP nöropeptidi ihtiva ettiğini göstermektedir. Sağlıklı grupta tüm DOS örnekleri SP seviyeleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Pulpitis grubunda grup içi karşılaştırmada, pulpa ve diğer tüm DOS örnekleri SP miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). 1. DOS örneğinde elde edilen SP seviyesinin diğer DOS örneklerinde elde edilen SP seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu da kontralateral sağlıklı dişte ve pulpitisli dişlere yapılan kanal tedavisi sonucunda ağrı ve enflamasyonun giderilmesiyle DOS'ndaki SP seviyesinin azaldığını göstermektedir. Kontralateral DOS örneği ve 2. DOS örneği SP seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin SP seviyeleri arasındaki korelasyon Tablo 3.10'da verilmiştir. Çalışmamızda geri dönüşümsüz akut pulpitis tanılı hastaların pulpa ve 1. DOS'ndaki SP seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görülmesi de ($p>0.05$), enflamasyona bağlı olarak hem pulpa hem de DOS örneklerinde SP miktarının benzer bir şekilde arttığı gözlenmiştir.

Tablo 3.10 Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin SP seviyeleri arasındaki korelasyon

		Pulpitis	
		Pulpa	1.DOS
Sağlıklı	Pulpa	r	0,166
		p	0,484
	1.DOS	r	-0,091
		p	0,702

3.5 Interleukin-8 Bulguları

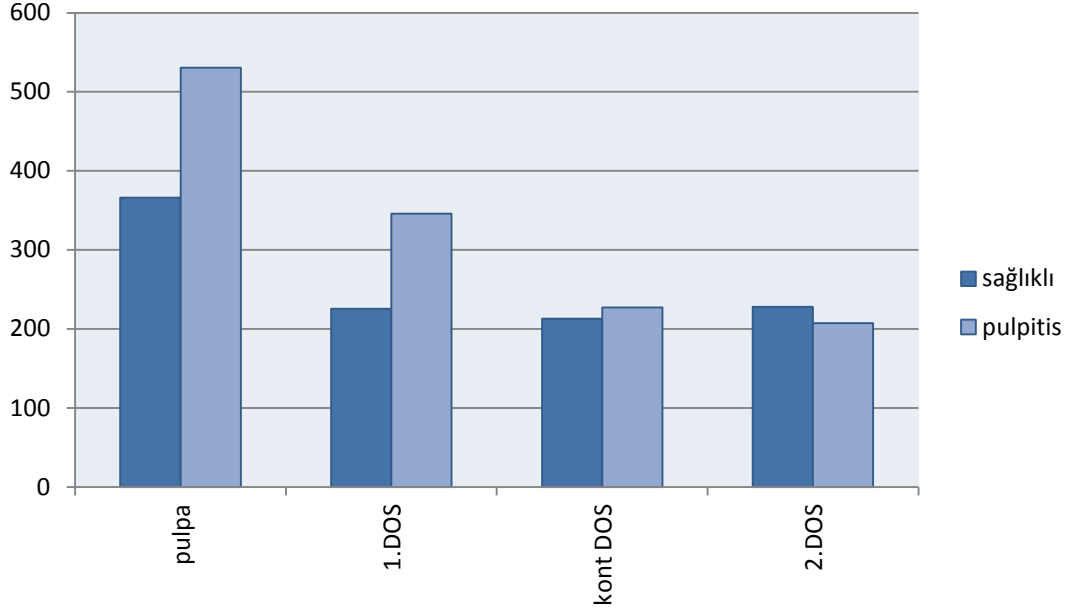
ELİSA testi sonucunda bütün pulpa ve DOS örneklerinde ölçülebilir IL-8 miktarları belirlenmiştir. Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait örneklerin ELİSA bulgularının istatistiksel verileri Tablo 3.11’de, örneklerdeki IL-8 miktarlarının gruplara göre dağılımı ise Grafik 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.11. Sağlıklı ve pulpitisli hastaların SP ortalama ve standart sapmaları.

		Pulpa	1.DOS	Kont. DOS	2.DOS
IL-8	1.grup(sağlıklı)	366,21±16,56 ^{A,a}	225,46±17,35 ^{A,b}	212,77±20,09 ^{A,b}	227,79±17,82 ^{A,b}
	2.grup(pulpitis)	530,40±40,30 ^{B,a}	345,76±27,61 ^{B,b}	227,20±15,46 ^{A,c}	207,33±17,21 ^{A,c}

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05)

*Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05)



Şekil 3.3. Örneklerdeki IL-8 miktarlarının gruplara göre dağılımı.

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, sağlıklı gruba göre pulpitis grubundaki pulpa örneklerinde IL-8 miktarı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Aynı şekilde pulpitis grubunda 1. DOS örnekleri de sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Sağlıklı ve pulpitisli hastaların kontralateral dişinden alınan DOS örneklerinde ve 1 hafta sonra alınan 2. DOS örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0.05$).

Grup içi karşılaştırmalara bakıldığında, sağlıklı grupta pulpa ve diğer tüm DOS örnekleri IL-8 miktarları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Bu durum sağlıklı koşullarda pulpa dokusunun DOS'na göre daha yüksek seviyelerde IL-8 nöropeptidi ihtiva ettiğini göstermektedir. Sağlıklı gruptaki tüm DOS örnekleri IL-8 seviyeleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$).

Pulpitis grubunda grup içi karşılaştırmada, pulpa ve diğer tüm DOS örnekleri IL-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.05$). 1. DOS örneğinde elde edilen IL-8 seviyesinin diğer DOS örneklerinde elde edilen IL-8 seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). Bu da kontralateral sağlıklı dişte ve pulpitisli dişlere yapılan

kanal tedavisi sonucunda ağrı ve enflamasyonun giderilmesiyle DOS'ndaki IL-8 seviyesinin azaldığını göstermektedir. Kontralateral DOS örneği ve 2. DOS örneği IL-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin IL-8 seviyeleri arasındaki korelasyon Tablo 3.12'de verilmiştir. Çalışmamızda geri dönüşümsüz akut pulpitis tanılı hastaların pulpa ve 1. DOS'ndaki IL-8 seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görülmesine de ($p>0.05$), enflamasyona bağlı olarak hem pulpa hem de DOS örneklerinde IL-8 seviyelerinin benzer bir şekilde arttığı gözlenmiştir.

Tablo 3.12 Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin IL-8 seviyeleri arasındaki korelasyon

		Pulpitis	
		Pulpa	1.DOS
Sağlıklı	Pulpa	r	0,122
		p	0,608
	1.DOS	r	0,071
		p	0,766

3.2 Matriks Metalloproteinaz-8 bulguları

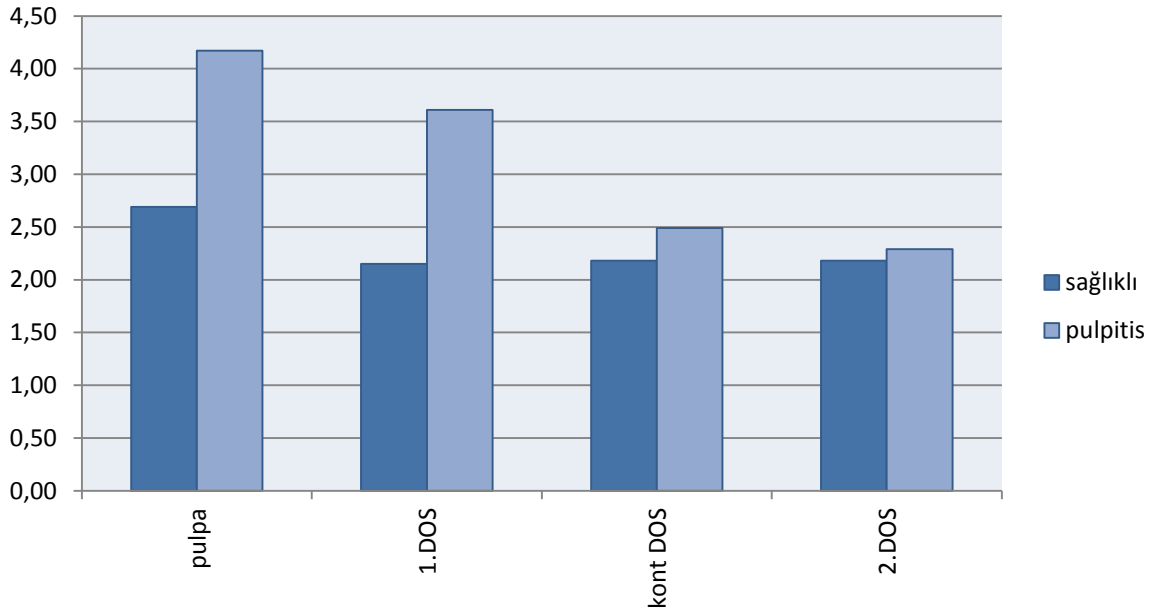
ELİSA testi sonucunda bütün pulpa ve DOS örneklerinde ölçülebilir MMP-8 miktarları belirlenmiştir. Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait örneklerin ortalama MMP-8 seviyeleri ve standart sapmaları Tablo 3.13'de gösterilmiştir. Ortalama MMP-8 miktarlarının gruplara göre dağılımı ise Grafik 3.4'de verilmiştir.

Tablo 3.13. Sağlıklı ve pulpitisli hastaların MMP-8 ortalama ve standart sapmaları.

		Pulpa	1.DOS	Kont. DOS	2.DOS
MMP-8	1.grup(sağlıklı)	2,69±0,16 ^{A,a}	2,15±0,15 ^{A,a}	2,18±0,17 ^{A,a}	2,18±0,18 ^{A,a}
	2.grup(pulpitis)	4,17±0,27 ^{B,a,c}	3,61±0,29 ^{B,a}	2,49±0,23 ^{A,b}	2,26±0,17 ^{A,b}

*Aynı satırda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$)

**Aynı sütunda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$)



Şekil 3.4. Örneklerdeki MMP-8 miktarlarının gruplara göre dağılımı.

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, sağlıklı gruba göre pulpitis grubundaki pulpa örneklerinde MMP-8 miktarı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Aynı şekilde pulpitis grubunda 1. DOS örnekleri de sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olarak belirlenmiştir ($p < 0.05$). Sağlıklı ve pulpitisli hastaların kontralateral dişinden alınan DOS örneklerinde ve 1 hafta sonra alınan 2. DOS örneklerinde anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0.05$).

Grup içi karşılaştırmalara bakıldığında, sağlıklı grupta pulpa, 1. DOS, kontralateral sağlıklı dişten alınan DOS ve 1 hafta sonra alınan 2. DOS örnekleri arasında MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Pulpitis grubunda grup içi karşılaştırmada, pulpa ve 1. DOS örnekleri MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken ($p > 0.05$), pulpa ve diğer DOS örnekleri MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p < 0.05$). 1. DOS örneğinde elde edilen MMP-8 seviyesinin diğer DOS örneklerinde elde edilen MMP-8 seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir

şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu da kontralateral sağlıklı dişte ve pulpitisli dişlere yapılan kanal tedavisi sonucunda ağrı ve enflamasyonun giderilmesiyle DOS'ndaki MMP-8 seviyesinin azaldığını göstermektedir. Kontralateral DOS örneği ve 2. DOS örneği MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin MMP-8 seviyeleri arasındaki korelasyon Tablo 3.14'de verilmiştir. Çalışmamızda geri dönüşümsüz akut pulpitis tanılı hastaların pulpa ve 1. DOS'ndaki MMP-8 seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görülmesi de ($p>0.05$), enflamasyona bağlı olarak hem pulpa hem de DOS örneklerinde MMP-8 seviyelerinin benzer bir şekilde arttığı gözlenmiştir.

Tablo 3.14 Sağlıklı ve pulpitisli diş gruplarına ait pulpa ve 1. DOS örneklerinin MMP-8 seviyeleri arasındaki korelasyon

		Pulpitis	
		Pulpa	1.DOS
Sağlıklı	Pulpa	r 0,226	
		p 0,337	
	1.DOS	r	-0,201
		p	0,395

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Mikrobiyal, mekanik ve kimyasal iritanlara maruz kalma sonucu pulpada enflamasyon oluşur. Enflamasyon sırasında vasküler değişimler ile birlikte birtakım hücreyel olaylar da meydana gelir (Hargreaves ve Berman 2016b). Pulpal kapillerlerde vazodilatasyon, kapiller içindeki sıvının damar dışına çıkışı ve enflamatuvar medyatörlerin birikimi pulpa içi basıncın artmasına neden olur. Bunun yanında kan damarlarının yırtılması ile ortamda bulunan bradikinin, immün hücrelerden ve yaralı konak dokudan salınan araşidonik asit metabolitleri, duyuşal fibrillerden salınan nöropeptidler ve bu nöropeptidlerin modülasyonu ile immün hücreler tarafından üretilen sitokinler ve proteolitik enzimler enflamasyonun ve ağrının artmasına neden olmaktadır (Avellan ve ark. 2008, Alaçam 2011a, Hargreaves ve Berman 2016b).

Çeşitli iritanlar sonucu pulpada oluşun enflamasyonda pulpada meydana gelen değişimler 5 fazda incelenir. Bunlar latent faz, hiperemik faz, seröz faz, pürülan faz ve tamir fazıdır (Çalışkan 2006b, Alaçam 2011a). Patojenin konak dokuyu etkilemesi ile ilk gözlenebilir belirtilerin ortaya çıkması arasında geçen süreye latent faz denir. Uyarılar, kapiller endotelleri ve kan hücrelerini etkileyerek kapiller damarların dilatasyonuna ve permeabilitelerinin yükselmesine neden olan kinin histamin ve prostaglandin grubu vazoaktif medyatörlerin salınmasına neden olurlar. Hiperemik fazda kapillerlerdeki kan miktarı artışı ile bölgesel sıcaklığın yükselmesi, ağrı ve kızarıklık gibi ilk gözlenebilir belirtiler vazoaktif maddelerin kapillerler üzerindeki dilatasyon etkisiyle ortaya çıkar. Bu fazın sonunda dilate olmuş kapillerlerde kan akımı yavaşlar (staz). Seröz fazda kapillerlerden interkapiller bölgeye sıvı akışı meydana gelir ve ödeme neden olur. Ayırıcı özelliğı diyapedez diye adlandırılan kanın hücreyel elemanlarının damar dışına çıkması olan pürülan fazda enflamasyona neden olan uyarın devam ediyorsa damar dışına sürekli PMNL çıkışı olacaktır. Bunun sonucunda bir nekroz ve apse odağı meydana gelecektir. Sürekli bir proteoliz ile apse odağı genişleyecektir. Dokuyu etkileyen uyarın ortadan kalkarsa burada tamir fazına geçilir; tamir fazının ilk adımını ölü PMNL'in ve doku

kalıntılarının lenfatik direnaja ortamdan uzaklaştırılmasıdır (Çalışkan 2006b, Alaçam 2011a, Torabinejad ve ark. 2014).

Enflamasyonda meydana gelen hücreyel olaylar, dokulardan salınan medyatörler ve bunların dokudaki etkileri merak konusu olmuştur. Bir çalışmada endodontik enfeksiyonlu dişlerin, pulpasındaki kan smearleri ile histolojik olarak hesaplanan enflamasyon seviyeleri karşılaştırılmış ve çalışma sonucunda bakteri mevcudiyeti ile PMNL'lerin artışı ilişkili bulunmuştur (Rechenberg ve Zehnder 2014). Bir başka çalışmada (Guthrie ve ark. 1965) pulpaları çürük nedeniyle açılmış dişlerin klinik semptomlarını, pulpa kaynaklı kan smearlerini ve aynı dişler çekildikten sonra histolojik durumlarını karşılaştırmışlardır. Dental pulpa hemogramı ve pulpa hastalığının seviyesi arasında kesin bir ilişki bulunamamış ancak pulpasında yaygın enflamasyon olduğu daha sonra mikroskopik olarak belirlenmiş dişlerden alınan kan örneklerinde nötrofil sayısında artış tespit edilmiştir. Gece ağrısı hikayesi pulpal enflamasyonla ilişkili bulunurken, pulpa testleri, mobilite ve perküsyon hassasiyeti pulpitis derecesini belirlemede yetersiz bulunmuştur.

Bundan sonra da birçok çalışmada pulpadan alınan örneklerde enflamatuar medyatörler, enflame ve enflame olmayan pulpa dokuları arasında medyatör miktarındaki değişiklikler araştırılmıştır (Cohen ve ark. 1985, Rauschenberger ve ark. 1991, Rauschenberger ve ark. 1994, Nakanishi ve ark. 1995, Barkhordar ve ark. 1999, Huang ve ark. 1999, Rodd ve Boissonade 2000, Spoto ve ark. 2001, Awawdeh ve ark. 2002c, Gusman ve ark. 2002, Pezelj-Ribaric ve ark. 2002, Shin ve ark. 2002, Tsai ve ark. 2005, Silva ve ark. 2009, Evrosimovska ve ark. 2012, Elsalhy ve ark. 2013, Martin-Gonzalez ve ark. 2013, Mente ve ark. 2016).

Pulpa doku örneği elde etmek için pulpa odasına girmek gerekmektedir. Pulpa odasına girilmesi durumunda, pulpanın canlı kalma şansının azaldığı bilinmektedir (Bjorndal ve ark. 2010). Bu noktada bazı araştırmacılar pulpanın durumunun DOS içerisindeki nöropeptit, sitokin ve proteolitik enzim miktarında değişikliğe neden olabileceğini öne sürmüşler (Awawdeh ve ark. 2002b, Avellan ve ark. 2005, Avellan ve ark. 2008, Belmar ve ark. 2008, Karapanou ve ark. 2008, Burgener ve ark. 2010, Hernández ve ark. 2010, Shin ve ark. 2011, Dezerega ve ark. 2012) ve bunu periodonsiyum ve endodonsiyumun damarsal ve sinirsel kaynaklarının fonksiyonel ve anatomik olarak bağlantılı olmasına bağlamışlardır (Vertucci ve Williams 1974, Capra ve ark. 1984b).

Sağlıklı ve enflame dişlerde DOS'ndaki IL-8 ve TNF- α seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, geri dönüşümsüz akut pulpitis tanısı konan ve ağrı skorları bu çalışmada olduğu gibi VAS ile belirlenen 17 dişten, bu dişlerin yanındaki ve kontralateralindeki dişlerden DOS örnekleri elde edilmiştir. Akut pulpitisli dişlerde yanındaki ve kontralateralindeki sağlıklı dişlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek IL-8 seviyeleri belirlenmişken, TNF- α bütün örneklerde tespit seviyesinin altında kalmıştır (Karapanou ve ark. 2008). Benzer bir çalışmada pulpitis tanısı konmuş dişlerin DOS'nda NKA ve SP kontralateral sağlıklı dişe göre belirgin bir şekilde yüksek bulunurken, CGRP için anlamlı bir sonuç bulunamamıştır (Awawdeh ve ark. 2002b). Başka bir çalışmanın sonuçları ise deneysel diş ağrısının, DOS'nda lokal SP ve MMP-8 seviyelerini yükselttiğini göstermiştir (Avellan ve ark. 2008). Bu çalışmada seçilen medyatörler ağrı ve enflamasyon sürecindeki etkilerinin önemine göre çalışmaya dahil edilmiştir. Buradan yola çıkarak bu çalışmada elde edilen pulpa ve DOS örneklerinde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 seviyeleri incelenmiştir.

Daha önce pulpanın durumunu belirlemek amacıyla DOS'ndaki medyatör seviyelerine bakılmışsa da sağlıklı ve pulpitisli dişlerde pulpa ve DOS örneklerindeki medyatör miktarındaki değişimin aynı anda araştırıldığı bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu bilgilerin ışığında, sunulan bu çalışmada, sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpa doku örnekleri ve DOS örneklerinde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 miktarlarındaki değişim karşılaştırılmış, aralarında bir korelasyon olup olmadığı incelenmiştir. Ayrıca kanal tedavisinden bir hafta sonra da DOS örnekleri tekrarlanarak tedavi sonrası moleküler belirteçlerdeki değişim takip edilmiştir.

Çalışmamızda pulpa ve DOS'ndaki medyatör miktarına etki edebileceğinden, çalışmaya dahil edilen hastaların herhangi bir sistemik rahatsızlığının bulunmamasına, düzenli kullandığı bir ilaç olmamasına ve son dört hafta içinde ağrı kesici ilaç kullanmamış olmasına önem verilmiştir. Çalışmamızda yer alan medyatörlerin periodontal hastalık ve dişetinde enflamasyon mevcudiyetinde de artış gösterdiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Sorsa ve ark. 1988, Liinden ve ark. 1997, Lundy ve ark. 2000, Kiili ve ark. 2002, Kinane ve ark. 2003, Mäntylä ve ark. 2003, Sorsa ve ark. 2004, Hernández ve ark. 2010, Sorsa ve ark. 2010). Bu nedenle çalışmaya dahil edilen hastaların ağız içi muayeneleri de yapılarak ağız hijyeni kötü

olan, dişlerinde yoğun plak veya diştaşı görülen, dişetlerinde kızarıklık ve kanama olan, periodontal cep ölçümünde 3mm'den fazla patolojik cep mevcudiyeti görülen hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Sağlıklı ve pulpitisli dişlerden alınan pulpa rneği, 1. ve 2. DOS rneklerinin alındığı dişin kontralateralindeki varsa aynı numaralı diş, yoksa sağlıklı vital, radyografik olarak normal ve daha önce dolgu dahil herhangi bir girişimsel işlem yapılmamış bir diş seçilmiştir. Bunun nedeni pulpa rneği, 1. ve 2. DOS rneklerinin alındığı dişin duyu sinir dallarının, hem komşu dişlerin pulpalarını hem de çevreleyen periodontal dokuları inerve edebileceğidir (Shin ve ark. 2011). Akut pulpitis tanısı konmuş diş, yanındaki diş ve kontralateralindeki dişin IL-8 seviyelerine bakıldığı bir çalışmada da şiddetli ağrı skoru belirlenen hastaların pulpitis tanısı konan dişinin yanındaki dişin DOS'ndaki IL-8 seviyesi kontralateral dişin DOS'ndaki IL-8 seviyesinden belirgin bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bu durum ağrı şiddetli ise enflamasyonun yandaki dişin periodonsiyumunu da etkileyebileceği şeklinde açıklanmıştır (Karapanou ve ark. 2008). Bundan dolayı bu çalışmada kontrol olarak akut geri dönüşümsüz pulpitisli dişin yanındaki diş yerine kontralateralindeki diş tercih edilmiştir.

Kanal tedavisine başlanmadan önce pulpitis tanısı konmuş hastaların ağrı skorlarını öğrenmek için VAS kullanılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda da (Awawdeh ve ark. 2002a, Awawdeh ve ark. 2002b, Karapanou ve ark. 2008, Shin ve ark. 2011) hastaların ağrı hislerini 0-10 arasında skorlayabilecekleri VAS kullanılmıştır. Kullanım kolaylığı, kısa sürmesi, ayrıca ocuk ve yetişkin her hastanın anlayıp kolayca cevap verebileceği bir yöntem olması nedeniyle ve ağrı değerlendirmesinin kolay yapılabilirliği açısından VAS tercih edilmiştir (Chapman ve Kirby-Turner 2002). Hastaların skorları daha sonra 1-5 arası skorlar şiddetli olmayan ağrı, 6-10 arası skorlar ise şiddetli ağrı olarak gruplandırılmıştır (Karapanou ve ark. 2008).

Akut pulpitisli dişlerin DOS'nda yanındaki ve kontralateralindeki sağlıklı dişlerinkine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek IL-8 seviyeleri belirlenmiş olan bir çalışmada, ayrı bir grup akut pulpitisli dişten lokal anestezi yapıldıktan sonra DOS alındığında çok düşük IL-8 seviyesi belirlenmiştir (Karapanou ve ark. 2008). Bir başka çalışmada da mandibular anestezinin alt kesici dişlerde SP seviyelerini azalttığı bildirilmiştir (Pertl ve ark. 1997). Bundan dolayı bu

çalışmada sitokin ve diğer medyatörlerin seviyelerini etkilememek için ilk seansta DOS örnekleri anestezi yapılmadan önce alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen 40 dişin bir hafta sonra DOS örnekleme si yine anestezi yapılmaksızın tekrarlanmıştır. Bir hafta sonraki ikinci seansta geçici dolgu uzaklaştırılması sırasında dişeti travmatize edilip kanama meydana gelebileceği için 2. DOS örnekleri geçici dolgu kaldırılmadan önce alınmıştır.

DOS ile yapılan çalışmalarda sıvı toplama süresi de önemlidir. Periopaper şeritlerin uzun süre dişeti oluğunda beklemesi iritasyona ve damar geçirgenliğinin artmasına, bunun sonucunda sıvı akışının hızlanmasına ve elde edilen sıvının plazma bileşenleri tarafından seyreltilmesine neden olduğu belirtilmiştir (Lamster ve ark. 1989). Daha önce peripaper şeritlerinin dişeti oluğunda 30 sn (Avellan ve ark. 2008), toplamda 2 dk olacak şekilde 4 tekrarlı 30 sn (Shin ve ark. 2011), toplamda 3 dk olacak şekilde 3 tekrarlı 1 dk (Karapanou ve ark. 2008) bekletildiği çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmada Awawdeh ve arkadaşlarının (2002b) uyguladığı şekilde dişeti oluğuna yerleştirilen şeritler her örnekte standart olarak 1 dk bekletildikten sonra çıkarılarak değerlendirilinceye kadar -80 °C’de buzdolabında bekletilmiştir.

Pulpa fibroblastlarının *Prevotella intermedia* LPS'i ile stimüle edildiğinde IL-8 ürettiği (Nagaoka ve ark. 1996) göz önüne alındığında toplanan pulpa örneklerinin tükürük ile kontaminasyonu, tükürük içerisindeki çeşitli bakterilerin ürünleri ve LPS'lerin ortamda enflamasyon yanıtı oluşturmaya, medyatör seviyelerinin hatalı yükselmesine ve yanlış sonuçlara neden olabilir. Bu nedenle çalışmamızda DOS örnekleri alındıktan sonra pulpa örneklerinin toplanması sırasında örneklerin kontaminasyonunu önlemek için dişlere rubberdam uygulanarak örneklerin kontamine olmaması için azami özen gösterilmiştir.

Huang ve arkadaşlarının (1999) çalışmalarında uyguladıkları şekilde pulpa örnekleri toplandıktan sonra eppendorf tüplerine 200 µl, 7,2 pH'ta fosfat tamponlu salin eklenerek -80 °C’de saklanmıştır. Periopaper şeritler ise Karapanou ve arkadaşlarının (2008) çalışmalarında olduğu gibi alındıktan sonra direkt olarak eppendorf tüplerine herhangi bir sıvı olmaksızın konulmuş ve -80 °C’de saklanmıştır.

Medyatör miktarlarının ölçülmesinde RIA, immunoflorometrik test (IFMA), ELISA gibi pek çok yöntem kullanılmıştır. Testin duyarlılığı, nesneliği ve aynı anda

çok sayıda örneğin test edilebilmesi RIA yöntemin avantajlarından. Bununla birlikte, bir izotop bağlı immünoaktan tarafından gama radyasyonunun salınmasına dayanan RIA'in bir takım dezavantajları vardır. Örneğin, radyoaktif izotopların doğal bir bozunma oranına sahip olmaları, radyoaktif olarak işaretlenmiş reaktiflerin zaman içinde faaliyetlerini kaybedeceği anlamına gelir. Bu nedenle tekrar tekrar işaretleme, tekrar test etme ve yeniden standardizasyon gereklidir. Ayrıca, RIA sistemleri kullanıcıları potansiyel radyasyon tehlikesine maruz bırakır. Son olarak, radyasyonu ölçmek için pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulur, bu nedenle RIA ölçümleri için donanımlı bir laboratuvar gereklidir (Yolken 1980). IFMA'in bir çalışmada ELISA'e göre DOS'nda MMP-8 belirlemede daha hassas olduğu belirtilmiştir (Leppilahti ve ark. 2014). Ancak araştırmacıların çoğunun, ELISA tekniğini, diğer tekniklere göre uygulama kolaylığı nedeniyle, klinik çalışmalarında kullandıkları görülmüştür (Nazar Majeed ve ark. 2016). ELISA radyoaktif izotoplar yerine enzimlerin kullanıldığı, pahalı ekipmanlara ya da tekrar işaretleme, test etme ve standardizasyona ihtiyaç duyulmayan, etkili ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Yolken 1980). Biz de çalışmamızda örneklerde medyatör belirleme tekniği olarak ELISA testini kullandık.

VAS'na göre ağrı skorunun 6-10 arasında olduğunu belirten hastaların pulpa örneklerindeki SP, IL-8 ve MMP-8 miktarları ağrı skorunun 1-5 arasında olduğunu belirten hastaların pulpa örneklerindeki medyatör miktarlarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yüksek bulunmuştur. Bir çalışmada ağrılı dişlerde de ağrısız dişlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek SP ekspresyonu olduğu bildirilmiştir (Rodd ve Boissonade 2000). Awawdeh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da ağrı skorları yükseldikçe, NKA ve SP seviyelerinin de istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği belirlenmiştir (Awawdeh ve ark. 2002a) Çalışmamızda bu çalışmalar ile farklı sonuçlar elde edilmiştir. Awawdeh ve arkadaşlarının yaptığı aynı çalışmada yaş ve cinsiyet ile NKA ve SP seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir. Çalışmamızın sonuçları bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

NKA, SP ve CGRP içeren duyuşal sinir alt grupları birçok araştırmaya konu olmuştur (Olgart ve ark. 1993, Buck ve ark. 1999). NKA, SP ve CGRP'in pulpa ve periodonsiyumda bulunduğu bilinmektedir (Kim 1990, Ohkubo ve ark. 1993) Bu nöropeptitler miyelinsiz C fibrillerinde ve muhtemelen bazı A delta fibrillerinde

bulunur. Uyarıldıklarında, bu sinirler nöropeptidleri serbest bırakarak nörojenik enflamasyon olarak adlandırılan enflamatuar cevap oluştururlar (Györfi ve ark. 1993). Duyusal fibriller tarafından salınan NKA, SP ve CGRP kan dolaşımında, enflamatuar yanıtta, bağışıklık yanıtında ve bağ dokusu hücrelerinde önemli etkiler yaratır. Bu nedenle pulpal ağrı da dahil olmak üzere birçok enflamatuar durumda önemli olabilir (Gazelius ve ark. 1987, Wakisaka 1990, Olgart 1996).

Diğer nöropeptidlerle birlikte SP ekspresyonunun, enflame pulpalarda dinamik değişikliklere uğradığına dair bulgular vardır (Grutzner ve ark. 1992, Swift ve Byers 1992, Hargreaves ve ark. 1994). SP immünoaktif intradental sinir liflerinin bolluğu, pulpal hasar sırasında SP'nin belirgin şekilde yükselmesi ile birlikte, bu peptidin diş dokularındaki fonksiyonel önemi büyük ilgi uyandırmıştır. SP'nin vazodilatasyondaki rolünü ve diş pulpasındaki nörojenik plazma ekstrasvazasyonunu desteklediği yönünde sonuçlar görülmüştür (Rosell ve ark. 1981, Kerezoudis ve ark. 1994).

Daha önce yapılan çalışmalarla (Brodin ve ark. 1981, Goodis ve Saeki 1997, Pertl ve ark. 1997) benzer bir şekilde çalışmamızda sağlıklı ve pulpitis gruplarında bütün pulpa ve DOS örneklerinde ölçülebilir NKA ve SP miktarları belirlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, sağlıklı gruba göre pulpitis grubundaki pulpa örneklerinde NKA ve SP seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Benzer çalışmalarda ortodontik nedenlerle çekilen sağlıklı dişlerin ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulparı alınarak santrifüj edildikten sonra süpernatantlardaki NKA ve SP seviyeleri RIA ile belirlenmiştir. Bu çalışmaların sonucunda, enflame dişlerin pulpa örneklerinde daha yüksek seviyelerde NKA ve SP belirlendiği bildirilmiştir (Awawdeh ve ark. 2002a, Caviedes- Bucheli ve ark. 2006). Bir başka çalışmada çekilmiş alt molar dişler çürüksüz, orta derecede çürüklü ve geniş çürüklü olarak 3 gruba ayrılmıştır. Geniş çürüklü grubunda ağrısız ve ağrılı dişler belirlenmiş ve not edilmiştir. Dişlerin koronal pulparlarında IFMA ile SP seviyeleri araştırılmıştır. En fazla SP miktarlarının geniş çürüklü grupta görüldüğü, çürük ilerledikçe SP miktarında artış gözlemlendiği belirlenmiştir (Rodd ve Boissonade 2000). Bizim çalışmamızın sonuçları araştırmacıların elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Pulpitis grubunda 1. DOS örneklerinde NKA ve SP seviyeleri sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek belirlenmiştir. Grup içi

karşılaştırma yapıldığında pulpitis grubunda 1. DOS ile kontralateral sağlıklı dişten alınan DOS NKA ve SP seviyeleri arasında ve 1. DOS ile 1 hafta sonra alınan 2. DOS örnekleri NKA ve SP seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. 1 hafta sonra alınan 2. DOS örneklerinde NKA ve SP seviyelerinin 1. DOS örneklerindeki NKA ve SP seviyelerine göre belirgin bir şekilde düştüğü belirlenmiştir. Bu da pulpitisli dişlere yapılan kanal tedavisi sonucunda ağrı ve enflamasyonun giderilmesiyle DOS'nda üretilen NKA ve SP seviyelerinin azaldığını göstermektedir. Üst santral dişlere 45 μ A elektrik uygulanarak deneysel ağrı oluşturulan bir çalışmada, deneysel ağrı oluşturulan grupla elektrik uygulanmayan kontrol grubu DOS'larındaki SP değişimi enzim immunoassay (EIA) ile gözlemlendiğinde deneysel ağrı oluşturulan dişlerin DOS'da, ağrı oluşturulmayan dişlerin DOS'na göre belirgin bir şekilde daha yüksek seviyelerde SP belirlendiği söylenmiştir (Avellan ve ark. 2008). Ağrılı nonvital dişlerin ve kontralateral sağlıklı dişlerin DOS örneklerinde SP seviyelerinin araştırıldığı ve tedaviyle değişimine bakıldığı bir çalışmada, SP seviyeleri ağrı skorları ile bağlantılı bulunmuş, ağrılı dişlerde kontralateral sağlıklı dişlere göre belirgin bir şekilde yüksek DOS SP seviyeleri tespit edilmiş ve kanal tedavisi sonrası alınan DOS örneklerinde SP seviyelerinin belirgin bir şekilde düştüğü gözlenmiştir (Shin ve ark. 2011). Çalışmamızın sonuçları araştırmacıların elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Yapılan başka bir çalışmada ağrılı dişler ve sağlıklı kontralateral dişlerden alınan DOS örneklerinde NKA ve SP seviyeleri RIA ile incelenmiştir. Gruplar arasında DOS'ndaki NKA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, DOS'ndaki SP seviyelerindeki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak ağrılı dişlerin DOS örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha yüksek seviyelerde NKA tespit edilmiştir. Örnekleme 1 hafta sonra tekrarlanmış ve pulpanın çıkarılmasından sonra NKA seviyelerindeki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir (Awawdeh ve ark. 2002b). Bu çalışmanın sonuçları çalışmamızın sonuçlarıyla çelişmektedir. Awawdeh ve arkadaşları bu sonucun çalışmalarında örneklem sayılarının az olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Grup içi karşılaştırmalarda hem sağlıklı grupta hem de pulpitis grubunda, pulpa ve 1. DOS örnekleri NKA ve SP seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı

bir fark bulunmuştur. Bu durum sağlıklı ve hastalıklı durumlarda her şekilde NKA'nın pulpa dokusunda daha yüksek oranda eksprese edildiği şeklinde yorumlanabilir. Ancak tam tersi olarak SP seviyeleri sağlıklı ve hastalıklı durumlarda her şekilde DOS örneklerinde pulpa örneklerine göre daha yüksek olarak bulunmuştur. Daha önce hem pulpa hem de DOS örneklerindeki NKA ve SP seviyelerine birlikte bakılan bir çalışma olmadığından bu sonucun karşılaştırılabileceği bir veri bulunmamaktadır.

Enflame bölgedeki enflamatuvar maddelerin varlığından dolayı, enflamasyon sürecinin ilk dakikalarında damar geçirgenliğinde artış ve lökositlerin kan damarlarından göçü gözlenmektedir. Çoğu zaman, bu maddeler pulpadaki bir dizi hücre tarafından üretilen ve salgılanan, enflamasyon sürecinin aktivasyonu ve kontrolünde önemli bir rol oynayan sitokinlerdir. Bazı çalışmalarda, bu maddelerin pulpa dokusunda veya hücrelerde varlığını, özellikle IL-1 β ve IL-8'in pulpa dokusundaki enflamasyon sürecinde önem taşıdığı bildirilmiştir (Huang ve ark. 1999, Levin ve ark. 1999, Barkhordar ve ark. 2002).

IL-8, insan nötrofilleri ve T lenfositleri için güçlü kemotaktik etkiye sahip olan kemokin CXC alt ailesinin bir üyesidir (Baggiolini ve ark. 1989, Larsen ve ark. 1989). Kemotaksis işlevinin yanında IL-8 nötrofil degranülasyonu ile doku yıkıcı enzimlerin salınımına neden olur (Peveri ve ark. 1988). IL-8'in aktivitesi nötrofillerle sınırlı değildir. Aynı zamanda, T hücreleri, B hücreleri, IL-2 ile aktive edilmiş doğal öldürücü hücreler ve bazofiller gibi diğer lökosit türlerini de etkiler (Baggiolini ve ark. 1993). IL-8, nötrofilleri CD11/CD18 (LFA-1 veya Mac-1) integrinini nötrofil sitoplazmasından hücre yüzeyine taşımaya teşvik eder (Detmers ve ark. 1990, Rot 1992), bağlanma aktivitesini yükseltir (Detmers ve ark. 1991) ve sonuç olarak nötrofilin dokuya göçünü kolaylaştırır. IL-8 başlangıçta uyarılmış insan monositlerinin kültür süpernatantlarından izole edilmiştir (Walz ve ark. 1987, Yoshimura ve ark. 1987). Bu kemokin ayrıca fibroblastlar, lenfositler, hepatositler, epitel hücreleri ve endotel hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından üretilir. Bugüne kadar yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler IL-8 ekspresyonunun, periapikal granüloma da dahil olmak üzere, çoğu dokuda enfeksiyon ve enflamasyon ile yüksek derecede ilişkili olduğunu göstermektedir (Walz ve ark. 1987, Yoshimura ve ark. 1987, Detmers ve ark. 1990, Detmers ve ark. 1991, Rot 1992, Baggiolini ve ark. 1993, Rot 1993). Bir in vitro çalışmada insan

pulpa fibroblastlarının *Prevotella intermedia* LPS'i ile stimüle edildiğinde IL-8 ürettiği gösterilmiştir (Nagaoka ve ark. 1996).

Çalışmamızda ELİSA testi sonucunda bütün pulpa ve DOS örneklerinde ölçülebilir IL-8 miktarları belirlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, sağlıklı gruba göre pulpitis grubundaki pulpa örneklerinde IL-8 miktarı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Benzer bir çalışmada da sağlıklı 3. molarlar çekilerek sağlıklı pulpa dokusu, geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerden de kanal tedavisi sırasında enflame pulpa dokusu elde edilmiş ve IL-8 seviyeleri ELİSA testi ile karşılaştırılmıştır (Silva ve ark. 2009). Çalışmanın sonucunda enflame pulpa dokusunda sağlıklı pulpa doku örneklerine göre belirgin bir şekilde yüksek IL-8 seviyeleri görüldüğü bildirilmiştir. Sağlıklı, çürükle ekspoz olmuş asemptomatik ve geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerden elde edilen pulpa doku örneklerinde ELİSA testi ile sitokin seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (Elsalhy ve ark. 2013), çürükle ekspoz olmuş asemptomatik dişlerden elde edilen pulpa örneklerinde sağlıklı gruba göre ve geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerden elde edilen pulpa örneklerinde çürükle ekspoz olmuş asemptomatik grubuna göre belirgin bir şekilde yüksek IL-8 seviyeleri tespit edildiği söylenmiştir. Çalışmamızın sonuçları araştırmacıların elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Daha önce yapılan bir çalışmada geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerden kanal tedavisi sırasında ve sağlıklı dişlerden çekim sonrasında alınan pulpa örneklerinde ELİSA testi ile IL-8 seviyeleri karşılaştırılmıştır. Bütün enflame pulpa örneklerinde tespit edilebilir IL-8 seviyeleri elde edilememiş; ancak enflame pulpa örneklerinde sağlıklı pulpa doku örneklerine göre daha çok tespit edilebilir ve yüksek seviyelerde IL-8 belirlendiği bildirilmiştir (Huang ve ark. 1999). Çalışmada enflame gruptaki pulpa örnekleri kanal tedavisi sırasında, sağlıklı gruptaki pulpa örnekleri diş çekildikten sonra alındığından sağlıklı pulpa doku örnekleri bütünüyle çıkarılabilirken, enflame pulpa dokusunun bütünüyle elde edilemediği söylenmiştir. Çürük dentin veya pulpa odası tavanının yakınındaki iltihaplı doku giriş kavitesi açılırken tahrip edilebilir. Bu kayıp pulpa dokusu, en iltihaplı bölgeyi temsil edebilir ve bununla birlikte IL-8 kaybına neden olabilir. Bazı enflame numunelerin saptanamayan IL-8 seviyeleri göstermesi bu şekilde açıklanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızla farklılık göstermektedir. Bizim çalışmamızda da örnekler giriş kavitesi açıldıktan sonra elde edilmiştir. Prosedür sırasında pulpa

tavanı dikkatli bir şekilde kaldırılarak pulpanın tamamen herhangi bir doku kaybı olmadan elde edilmesi için özen gösterilmiştir ve bütün örneklerde tespit edilebilir IL-8 seviyeleri belirlenmiştir. Bu fark ayrıca kullanılan ELİSA kitlerinin duyarlılık farkından kaynaklanmış olabilir.

Pulpitis grubunda 1. DOS örneklerinde IL-8 seviyeleri sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek belirlenmiştir. Pulpitis grubunda grup içi karşılaştırmada 1. DOS ve kontralateral sağlıklı dişten alınan DOS örnekleri IL-8 seviyeleri arasında ve 1. DOS ve 1 hafta sonra alınan 2. DOS örnekleri IL-8 seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. 1.DOS ve 1 hafta sonra alınan DOS örnekleri arasında anlamlı bir fark belirlenmesi pulpitisli dişlere yapılan kanal tedavisi sonucunda ağrı ve enflamasyonun giderilmesiyle DOS’nda üretilen IL-8 seviyesinin azaldığını göstermektedir. Geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerden; bu dişlerin yanındaki ve kontralateralindeki sağlıklı dişlerden DOS örnekleri alınarak IL-8 seviyelerinin ELİSA testi ile karşılaştırıldığı bir çalışmada (Karapanou ve ark. 2008), geri dönüşümsüz pulpitisli dişlerden alınan DOS örneklerinde yanındaki ve kontralateralindeki dişlerden alınan DOS örneklerine göre anlamlı bir şekilde yüksek IL-8 seviyeleri belirlendiği belirtilmiştir. Ağrı skorları 6-10 arasında olan şiddetli ağrı grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha yüksek seviyelerde IL-8 belirlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları araştırmacıların elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Grup içi karşılaştırmalarda hem sağlıklı grupta hem de pulpitis grubunda, pulpa ve 1. DOS örnekleri IL-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu durum sağlık ve hastalıklı durumlarda her şekilde IL-8’in pulpa dokusunda daha yüksek oranda eksprese edildiği şeklinde yorumlanabilir.

MMP'ların varlığı, Gross ve Lapière (1962) tarafından, kurbağa yavrularının dokularında kollajenolitik aktivite tespit edip, bu aktivite ile ilgili enzimleri kollajenazlar olarak adlandırdığında anlaşılmıştır. Önceki çalışmalar, MMP'ların dentin-pulpa kompleksinde (Betti ve Katchburian 1982, Fukae ve ark. 1991) olabileceğini ve bazı spesifik MMP'ların dentin matriks mineralizasyonunun düzenlenmesinde görev alabileceğini göstermiştir (Hall ve ark. 1999). Ek olarak, bazı MMP'lar diş çürüğü lezyonlarında ve kronik pulpa dokusunda saptanmıştır (Tjäderhane ve ark. 1998).

MMP'ların ikili rolleri olabilir; sağlıklı dişlerde dentin mineralizasyonu ve sekonder dentin oluşumu, diş yaralanmasında matriks yıkımı ve tersiyer dentin oluşumu gibi hem sağlıklı hem de hastalıklı koşullarda işlev görebilirler (Palosaari 2003). MMP-1, MMP-8 ve MMP-13, doğal fibriller olan tip I, II, III, V ve IX kollajenin yıkımını başlatabilen kollajenaz alt ailesini oluştururlar.

Pulpitisli dişlerde, MMP-8'in, PMNL'ler, makrofajlar, plazma hücreleri ve endotel hücreleri gibi çeşitli enflamatuvar hücrelerde eksprese edildiği gösterilmiştir (Wahlgren 2003). Ayrıca pulpal ağrı ile DOS'ndaki MMP-8 artışının ilişkili olduğu gösterilmiştir (Avellan ve ark. 2005). Ağrı stimülasyonu ile DOS MMP-8 miktarlarının deneysel ağrı uygulanmayan dişlerin DOS örneklerine göre belirgin bir şekilde arttığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızın sonucunda MMP-8 miktarları sağlıklı gruba göre pulpitis grubundaki pulpa örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Sağlıklı dişlerin çekilmesiyle elde edilen sağlıklı pulpa örnekleri ve kronik pulpitisli dişlerden kanal tedavisi sırasında elde edilen enflame pulpa doku örneklerinin kollajenaz seviyelerinin kollajenaz aktivitesi test kiti ile karşılaştırıldığı bir çalışmada enflame pulpa doku örneklerinde, sağlıklı pulpa doku örneklerine göre yüksek seviyelerde kollajenaz konsantrasyonu (MMP-1, MMP-8 ve MMP-13) tespit edilmiştir (Evrosimovska ve ark. 2012). Diğer bir çalışmada akut pulpitisli dişlerin pulpasında immunoflorometrik test ile yüksek miktarda MMP-8 ihtiva ettiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada nekrotik dişlerin periapikal eksudalarında da yüksek seviyelerde MMP-8 bulunduğu ve tekrarlı örneklerde kanal tedavisi ile belirgin bir şekilde MMP-8 seviyelerinin düştüğü tespit edilmiştir (Wahlgren ve ark. 2002). Bu çalışmanın sonuçları araştırmacıların elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda pulpitis grubunda 1. DOS örneklerindeki MMP-8 seviyeleri de sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek belirlenmiştir. Grup içi karşılaştırmalara bakıldığında pulpitis grubunda 1. DOS ve kontralateral sağlıklı dişten alınan DOS örnekleri MMP-8 seviyeleri arasında ve 1. DOS ve 1 hafta sonra alınan 2. DOS örnekleri MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür. Ağrılı dişlerin DOS MMP-8 seviyeleri tedavi edildikten 1 hafta sonra istatistiksel olarak belirgin bir şekilde düşüş göstermiştir. Ağrılı nonvital dişlerin ve kontralateral sağlıklı dişin DOS örneklerinde ELİSA testi ile MMP-8

seviyelerinin araştırıldığı ve tedaviyle değişimine bakıldığı bir çalışmada, MMP-8 seviyeleri ağrı skorları ile bağlantılı bulunmuş, ağrılı dişlerde kontralateral sağlıklı dişlere göre belirgin bir şekilde yüksek DOS MMP-8 seviyeleri tespit edilmiş ve kanal tedavisi sonrası alınan DOS örneklerinde MMP-8 seviyelerinin belirgin bir şekilde düştüğü gözlenmiştir (Shin ve ark. 2011). Diğer çalışmalarda ağrı stimülasyonu ile DOS MMP-8 miktarlarının deneysel ağrı uygulanmayan dişlerin DOS örneklerine göre belirgin bir şekilde arttığı tespit edilmiştir (Avellan ve ark. 2005, Avellan ve ark. 2008). Bizim çalışmamızın sonuçları diğer araştırmacıların elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda sağlıklı ve hastalıklı durumlarda her şekilde NKA ve IL-8'in pulpa dokusunda DOS'na göre daha yüksek oranda eksprese edildiği belirlenmiştir. Tam tersi olarak SP'nin sağlıklı ve hastalıklı durumda her şekilde DOS'nda pulpa dokusundan daha yüksek oranda bulunluğu görülmüştür. MMP-8 seviyeleri ise hem sağlıklı grupta hem de pulpitis grubunda, pulpa ve 1. DOS örneklerinde benzer seviyelerde bulunmuştur. Daha önce pulpa ve DOS örneklerindeki NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 seviyelerine birlikte bakılan bir çalışma olmadığından bu sonucun karşılaştırılabileceği bir veri bulunmamaktadır. Ancak morfolojik ve elektrofizyolojik teknikler, bazı inferior alveoler sinir fibrillerinin hem pulpa hem de periodonsiyumu inerve eden dallara sahip olduğunu göstermiştir (Capra ve ark. 1984a, Foster ve Robinson 1994). Hayvanlarda yapılan fizyolojik çalışmalar, pulpa afferent sinirlerinin duyarlılaştırılmasının, periodontal dokularda akson refleksi ile nörojenik enflamasyona neden olarak periodontal afferent sinirlerin duyarlılığını değiştirdiğini göstermiştir (Matsumoto ve ark. 1996). Dahası, çok sayıda kedi dişini uyaran dallanmış afferentlerin varlığı yakın zamanda gösterilmiştir (Hikiji ve ark. 2000). Böylece, duyu sinirlerinin dalları, hem komşu pulpaları hem de çevresindeki periodontal dokuları inerve edebilir. Bu nedenle, pulpayı inerve eden dal uyarıldığında, bitişik dişleri ve bitişik periodontal dokuları inerve eden dallar dahil tüm nöronlar depolarize olur. Bir başka hipoteze göre ise enflamasyonla artan pulpa içi basınç ile pulpada bulunan medyatörlerin apikal foramen, lateral kanallar ve dentin tübülleri aracılığı ile periodonsiyuma ulaşabileceği şeklindedir (Walton ve Langeland 1978, Trowbridge ve Kim 1994). DOS'ndaki medyatörlerin bu şekilde pulpadan kaynaklanabileceği düşünüldüğünde ise uzun difüzyon yolu nedeniyle DOS'ndaki konsantrasyonun pulpaya göre düşük olması beklenebilir (Ghazi ve ark. 2000).

Çalışmamızda geri dönüşümsüz akut pulpitis tanılı hastaların pulpa ve DOS'ndaki NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görülmesi de, enflamasyona bağlı olarak hem pulpa hem de DOS örneklerinde bu medyatörlerin seviyelerinin benzer bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Bu veriler, enflamasyonun pulpadan dışı çevreleyen periodontal dokulara lokal nörojenik yayılımı olasılığını göstermektedir (Matsumoto ve ark. 1996, Hikiji ve ark. 2000). Daha önce pulpa ve DOS örneklerindeki NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 seviyelerine birlikte bakılan bir çalışma olmadığından bu sonucun karşılaştırılabileceği bir veri bulunmamaktadır.

Sonuç olarak; hastanın subjektif semptomları ile pulpanın histolojik durumu her zaman benzerlik göstermemektedir. Bu durum günümüzde rutin olarak kullandığımız endodontik teşhis yöntemlerinin dışında pulpanın durumunu objektif olarak ve daha güvenilir bir şekilde belirleyebilmek için yeni yöntemlerin araştırmasına yöneltmiştir. Şimdiye kadar bu yönde yapılan çalışmalarda farklı medyatörler farklı bölgelerden elde edilerek enflamasyon ve ağrı ile ilişkisine bakılmıştır. Non-invaziv bir yöntem olan DOS örneği alınarak, pulpanın durumunun DOS'nda artan medyatörler aracılığıyla tespit edilebilirliğini araştırdığımız bu in vivo çalışmamızın sınırları içerisinde;

1. ELİSA testinin pulpa ve DOS örneklerinde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 seviyelerini tespit etmek için etkili bir yöntem olduğu,
2. Akut pulpitisli dişlerin pulpa doku ve DOS örneklerinde, sağlıklı dişlerin pulpa doku ve DOS örneklerine göre belirgin bir şekilde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 artışı meydana geldiği,
3. Akut pulpitisli dişlerde, enflame pulpa çıkarıldıktan 1 hafta sonra DOS örneklerinde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 seviyelerinde belirgin bir şekilde azalma meydana geldiği,
4. Ağrı skorları yüksek olan akut pulpitisli dişlerin pulpa doku örneklerinde SP, IL-8 ve MMP-8 seviyelerinin, ağrı skoru düşük olan dişlere göre yüksek olduğu,
5. Akut pulpitisli dişlerin pulpa dokusunda ve DOS örneklerinde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon belirlenmemişse de benzer şekilde artış gösterdiği tespit edilmiştir. İleride yapılacak daha kapsamlı çalışmalarda pulpa dokusu ve

DOS örneklerinde medyatör seviyeleri arasında bir korelasyon tespit edilirse, pulpadaki hastalıkların belirlenmesinde önemli bir diagnostik metod bulunmuş olacaktır. Çalışmamızın sonuçlarının moleküler diağnoz konusunda ileride yapılacak başka çalışmalara ışık tutacağı düşüncesindeyiz.



5. KAYNAKLAR

- ABD-ELMEGUID A, DONALD CY, KLINE LW, MOQBEL R, VLIAGOFTIS H. (2012) Dentin matrix protein-1 activates dental pulp fibroblasts. *Journal of endodontics*,38,75-80.
- ABD-ELMEGUID A, ABDELDAYEM M, KLINE LW, MOQBEL R, VLIAGOFTIS H, DONALD C. (2013) Osteocalcin expression in pulp inflammation. *Journal of Endodontics*,39,865-872.
- ACCORSI-MENDONÇA T, SILVA EJNL, MARCACCINI AM, GERLACH RF, DUARTE KMR, PARDO APS, LİNE SRP, ZAÍA AA. (2013) Evaluation of gelatinases, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2, and myeloperoxidase protein in healthy and inflamed human dental pulp tissue. *Journal of endodontics*,39,879-882.
- AHMED GM, EL-BAZ AA, HASHEM AAR, SHALAN AK. (2013) Expression Levels of Matrix Metalloproteinase-9 and Gram-negative Bacteria in Symptomatic and Asymptomatic Periapical Lesions. *Journal of Endodontics*,39,444-448.
- AKPINAR KE, ER K, POLAT S, POLAT NT. (2004) Effect of gingiva on laser doppler pulpal blood flow measurements. *Journal of endodontics*,30,138-140.
- ALAÇAM T. (2011a) Endodonti, Nobel Kitabevi, Ankara. s: 71-106.
- ALAÇAM T. (2011b) Endodonti, Nobel Kitabevi, Ankara. s: 625-627.
- ALBINI RICCIOLI G. (1973) Glossary of endodontic terms. *Mondo Odontostomatol*,15,465-468.
- ALPTEKİN NO, ARI H, ATAĞLU T, HALILOĞLU S, ALPTEKİN T, SERPEK B. (2005a) Neutrophil elastase levels in periapical exudates of symptomatic and asymptomatic teeth. *J Endod*,31,350-353.
- ALPTEKİN NO, ARI H, HALILOGLU S, ALPTEKİN T, SERPEK B, ATAĞLU T. (2005b) The effect of endodontic therapy on periapical exudate neutrophil elastase and prostaglandin-E2 levels. *J Endod*,31,791-795.
- AŞÇI SK. (2014a) Endodonti. Quintessence Yayıncılık, İstanbul, s,145-167.
- AŞÇI SK. (2014b) Endodonti. Quintessence Yayıncılık, İstanbul, s,167-185.
- AVELLAN NL, SORSA T, TERVAHARTIALA T, MANTYLA P, FORSTER C, KEMPPAINEN P. (2005) Painful tooth stimulation elevates matrix

metalloproteinase-8 levels locally in human gingival crevicular fluid. *Journal of dental research*,84,335-339.

AVELLAN NL, SORSA T, TERVAHARTIALA T, FORSTER C, KEMPPAINEN P. (2008) Experimental tooth pain elevates substance P and matrix metalloproteinase-8 levels in human gingival crevice fluid. *Acta Odontol Scand*,66,18-22.

AWAWDEH L, LUNDY FT, SHAW C, LAMEY PJ, LINDEN GJ, KENNEDY JG. (2002a) Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth. *Int Endod J*,35,30-36.

AWAWDEH LA, LUNDY FT, LINDEN GJ, SHAW C, KENNEDY JG, LAMEY PJ. (2002b) Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid associated with painful human teeth. *Eur J Oral Sci*,110,185-191.

AWAWDEH LA, LUNDY FT, LINDEN GJ, SHAW C, KENNEDY JG, LAMEY PJ. (2002c) Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid associated with painful human teeth. *European journal of oral sciences*,110,185-191.

AYDIN M. (2004) Endodontik mikrobiyoloji. Ed Alaçam T. Endodonti Bölüm,13.

BAGGIOLINI M, WALZ A, KUNKEL S. (1989) Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *The Journal of clinical investigation*,84,1045-1049.

BAGGIOLINI M, DEWALD B, MOSER B. (1993) Interleukin-8 and related chemotactic cytokines—CXC and CC chemokines, In: *Advances in immunology*, Elsevier. p: 97-179.

BARKHORDAR RA, HAYASHI C, HUSSAIN MZ. (1999) Detection of interleukin-6 in human dental pulp and periapical lesions. *Endod Dent Traumatol*,15,26-27.

BARKHORDAR RA, GHANI QP, RUSSELL TR, HUSSAIN MZ. (2002) Interleukin-1 β activity and collagen synthesis in human dental pulp fibroblasts. *Journal of endodontics*,28,157-159.

BAYLISS WM. (1901) On the origin from the spinal cord of the vaso-dilator fibres of the hind-limb, and on the nature of these fibres1. *The Journal of physiology*,26,173-209.

BELMAR MJ, PABST C, MARTINEZ B, HERNANDEZ M. (2008) Gelatinolytic activity in gingival crevicular fluid from teeth with periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,105,801-806.

BENDER I. (2000) Reversible and irreversible painful pulpitis: diagnosis and treatment. *Australian Endodontic Journal*,26,10-14.

BENDER IB, SELTZER S. (2003a) Roentgenographic and direct observation of experimental lesions in bone: II. 1961. *J Endod*,29,707-712

BENDER IB, SELTZER S. (2003b) Roentgenographic and direct observation of experimental lesions in bone: I. 1961. *J Endod*,29,702-706

- BERGENHOLTZ G. (1974) Micro-organisms from necrotic pulp of traumatized teeth. *Odontol Revy*,25,347-358.
- BERMAN LH. (1985) Dentinal sensation and hypersensitivity: a review of mechanisms and treatment alternatives. *Journal of periodontology*,56,216-222.
- BETTI F, KATCHBURIAN E. (1982) Proteolytic activity of developing dentine of rat tooth germs revealed by the gelatin-film substrate technique. *Archives of oral biology*,27,891-896.
- BJORNDAL L, REIT C, BRUUN G, MARKVART M, KJAELDGAARD M, NASMAN P, THORDRUP M, DIGE I, NYVAD B, FRANSSON H, LAGER A, ERICSON D, PETERSSON K, OLSSON J, SANTIMANO EM, WENNSTROM A, VINKEL P, GLUUD C. (2010) Treatment of deep caries lesions in adults: randomized clinical trials comparing stepwise vs. direct complete excavation, and direct pulp capping vs. partial pulpotomy. *Eur J Oral Sci*,118,290-297.
- BRODIN E, GAZELIUS B, OLGART L, NILSSON G. (1981) Tissue concentration and release of substance P- like immunoreactivity in the dental pulp. *Acta Physiologica Scandinavica*,111,141-149.
- BRYNOLF I. (1967) A histological and roentgenological study of the periapical region of upper human incisor. *Odontol Revy*,18.
- BUCK S, REESE K, HARGREAVES KM. (1999) Pulpal exposure alters neuropeptide levels in inflamed dental pulp and trigeminal ganglia: evaluation of axonal transport. *Journal of endodontics*,25,718-721.
- BURGENER B, FORD AR, SITU H, FAYAD MI, HAO JJ, VENCKUS CS, JOHNSON BR, BEGOLE EA, GEORGE A. (2010) Biologic markers for odontogenic periradicular periodontitis. *J Endod*,36,1307-1310.
- BYERS MR, NARHI MV. (1999) Dental injury models: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and polymodal nociceptor functions. *Crit Rev Oral Biol Med*,10,4-39.
- CAILLETEAU JG, LUDINGTON JR. (1989) Using the electric pulp tester with gloves: a simplified approach. *Journal of endodontics*,15,80-81.
- CALVO C-F, CHAVANEL G, SENIK A. (1992) Substance P enhances IL-2 expression in activated human T cells. *The Journal of Immunology*,148,3498-3504.
- CAPRA NF, ANDERSON KV, PRIDE JB, JONES TE. (1984a) Simultaneous demonstration of neuronal somata that innervate the tooth pulp and adjacent periodontal tissues, using two retrogradely transported anatomic markers. *Experimental neurology*,86,165-170.
- CAPRA NF, ANDERSON KV, PRIDE JB, JONES TE. (1984b) Simultaneous demonstration of neuronal somata that innervate the tooth pulp and adjacent periodontal tissues, using two retrogradely transported anatomic markers. *Exp Neurol*,86,165-170.
- CARNEIRO E, MENEZES R, GARLET GP, GARCIA RB, BRAMANTE CM, FIGUEIRA R, SOGAYAR M, GRANJEIRO JM. (2009) Expression analysis of matrix metalloproteinase-9 in epithelialized and nonepithelialized apical periodontitis

lesions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*,107,127-132.

- CAVIEDES-BUCHELI J, MUÑOZ HR, AZUERO-HOLGUÍN MM, ULATE E. (2008) Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists. *Journal of endodontics*,34,773-788.
- CAVIEDES-BUCHELI J, CAMARGO-BELTRÁN C, GÓMEZ-LA-ROTTA AM ve ark. (2004) Expression of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in irreversible acute pulpitis. *Journal of endodontics*,30,201-204.
- CAVIEDES-BUCHELI J, CORREA-ORTÍZ JA, GARCÍA LV, LOPES-TORRES R, LOMBANA N, MUNOZ R. (2005) The effect of cavity preparation on substance P expression in human dental pulp. *Journal of Endodontics*,31,857-859.
- CAVIEDES- BUCHELI J, LOMBANA N, AZUERO- HOLGUÍN M, MUNOZ H. (2006) Quantification of neuropeptides (calcitonin gene- related peptide, substance P, neurokinin A, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide) expressed in healthy and inflamed human dental pulp. *International endodontic journal*,39,394-400.
- CAVIEDES- BUCHELI J, GUTIERREZ- GUERRA J, SALAZAR F, PICHARDO D, MORENO GC, MUNOZ H. (2007) Substance P receptor expression in healthy and inflamed human pulp tissue. *International Endodontic Journal*,40,106-111.
- CHAPMAN H, KIRBY-TURNER N. (2002) Visual/verbal analogue scales: examples of brief assessment methods to aid management of child and adult patients in clinical practice. *British dental journal*,193,447.
- CHAVEZ DE PAZ LE. (2007) Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *J Endod*,33,652-662.
- CHIEGO JR DJ, COX CF, AVERY JK. (1980) H3-HRP analysis of the nerve supply to primate teeth. *Journal of dental research*,59,736-744.
- COFFEY CT, INGRAM MJ, BJORNDAL AM. (1970) Analysis of human dentinal fluid. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,30,835-837.
- COHEN JS, READER A, FERTEL R, MICHAEL BECK F, MEYERS WJ. (1985) A radioimmunoassay determination of the concentrations of prostaglandins E2 and F2 α in painful and asymptomatic human dental pulps. *Journal of Endodontics*,11,330-335.
- COLE AA, CHUBINSKAYA S, SCHUMACHER B, HUCH K, CS-SZABO G, YAO J, MÍKECZ K, HASTY KA, KUETTNER KE. (1996) Chondrocyte Matrix Metalloproteinase-8 human articular chondrocytes express neutrophil collagenase. *Journal of Biological Chemistry*,271,11023-11026.
- ÇALIŞKAN M. (2006a) Endodontide Tanı ve Tedaviler. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, S:83-110.
- ÇALIŞKAN MK. (2006b) Endodontide tanı ve tedaviler, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, S: 1-30.
- DE SWERT KO, JOOS GF. (2006) Extending the understanding of sensory neuropeptides. *European journal of pharmacology*,533,171-181.

- DETMERS P, POWELL D, WALZ A, CLARK-LEWIS I, BAGGIOLINI M, COHN ZA. (1991) Differential effects of neutrophil-activating peptide 1/IL-8 and its homologues on leukocyte adhesion and phagocytosis. *The Journal of Immunology*,147,4211-4217.
- DETMERS PA, LO S, OLSEN-EGBERT E, WALZ A, BAGGIOLINI M, COHN Z. (1990) Neutrophil-activating protein 1/interleukin 8 stimulates the binding activity of the leukocyte adhesion receptor CD11b/CD18 on human neutrophils. *Journal of Experimental Medicine*,171,1155-1162.
- DEZEREGA A, MADRID S, MUNDI V, VALENZUELA MA, GARRIDO M, PAREDES R, GARCIA-SESNICH J, ORTEGA AV, GAMONAL J, HERNANDEZ M. (2012) Pro-oxidant status and matrix metalloproteinases in apical lesions and gingival crevicular fluid as potential biomarkers for asymptomatic apical periodontitis and endodontic treatment response. *J Inflamm (Lond)*,9,8.
- DUMMER PM, HICKS R, HUWS D. (1980) Clinical signs and symptoms in pulp disease. *Int Endod J*,13,27-35.
- EDVINSSON L, MULDER H, GOADSBY PJ, UDDMAN R. (1998) Calcitonin gene-related peptide and nitric oxide in the trigeminal ganglion: cerebral vasodilatation from trigeminal nerve stimulation involves mainly calcitonin gene-related peptide. *Journal of the autonomic nervous system*,70,15-22.
- EGEBLAD M, WERB Z. (2002) New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nature reviews cancer*,2,161.
- EL KARIM IA, LAMEY PJ, LINDEN GJ, AWAWDEH LA, LUNDY FT. (2006) Caries- induced changes in the expression of pulpal neuropeptide Y. *European journal of oral sciences*,114,133-137.
- ELSALHY M, AZIZIEH F, RAGHUPATHY R. (2013) Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation. *Int Endod J*,46,573-580.
- EVROSIMOVSKA B, DIMOVA C, KOVACEVSKA I, PANOV S. (2012) Concentration of collagenases (MMP-1, -8, -13) in patients with chronically inflamed dental pulp tissue. *Prilozi*,33,191-204.
- FALLGREN B, EKBLAD E, EDVINSSON L. (1989) Co-existence of neuropeptides and differential inhibition of vasodilator responses by neuropeptide Y in guinea pig uterine arteries. *Neuroscience letters*,100,71-76.
- FEHRENBACHER JC, SUN XX, LOCKE EE, HENRY MA, HARGREAVES KM. (2009) Capsaicin-evoked iCGRP release from human dental pulp: a model system for the study of peripheral neuropeptide secretion in normal healthy tissue. *PAIN®*,144,253-261.
- FOSTER E, ROBINSON P. (1994) A study of branched pulpal axons in ferrets with supplemental teeth. *Archives of oral biology*,39,1003-1005.
- FUKAE M, KANEKO I, TANABE T, SHIMIZU M. (1991) Metalloproteinases in the mineralized compartments of porcine dentine as detected by substrate-gel electrophoresis. *Archives of oral biology*,36,567-573.
- GALLI SJ, NAKAE S, TSAI M. (2005) Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nature immunology*,6,135.

- GAZELIUS B, EDWALL B, OLGART L, LUNDBERG JM, HÖKFELT T, FİSCHER JA. (1987) Vasodilatory effects and coexistence of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and substance P in sensory nerves of cat dental pulp. *Acta physiologica scandinavica*,130,33-40.
- GEENEN V, CHROUSOS G. (2004) *Immunoendocrinology in health and disease* Marcel Dekker.
- GEORGE A, EVANS CA. (2009) Detection of root resorption using dentin and bone markers. *Orthod Craniofac Res*,12,229-235.
- GHAZI AM, SHUTTLEWORTH S, ANGULO SJ, PASHLEY DH. (2000) Gallium diffusion in human root dentin: Quantitative measurements by pulsed Nd: YAG laser ablation combined with an inductively coupled plasma mass spectrometer. *Journal of clinical laser medicine & surgery*,18,173-183.
- GIAMBERNARDI TA, GRANT GM, TAYLOR GP, HAY RJ, MAHER VM, MCCORMICK JJ, KLEBE RJ. (1998) Overview of matrix metalloproteinase expression in cultured human cells. *Matrix biology*,16,483-496.
- GOODIS H, SAEKI K. (1997) Identification of bradykinin, substance P, and neurokinin A in human dental pulp. *Journal of endodontics*,23,201-204.
- GROSS J, LAPIERE CM. (1962) Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,48,1014.
- GRUTZNER EH, GARRY MG, HARGREAVES KM. (1992) Effect of injury on pulpal levels of immunoreactive substance P and immunoreactive calcitonin gene-related peptide. *Journal of endodontics*,18,553-557.
- GUSMAN H, SANTANA RB, ZEHNDER M. (2002) Matrix metalloproteinase levels and gelatinolytic activity in clinically healthy and inflamed human dental pulps. *Eur J Oral Sci*,110,353-357.
- GUTHRIE TJ, MCDONALD RE, MITCHELL DF. (1965) Dental Pulp Hemogram. *J Dent Res*,44,678-682.
- GÜRDÖL F. (2015) *Tıbbi biyokimya*, Nobel Kitabevi, İstanbul, s:113-135
- GYÖRFI A, FAZEKAS A, IRMES F, JAKAB G, SÜTÖ T, ROSIVALL L. (1993) Role of substance P (SP) in development of symptoms of neurogenic inflammation in the oral mucosa of the rat. *Journal of periodontal research*,28,191-196.
- HAHN CL, LIEWEHR FR. (2007a) Relationships between Caries Bacteria, Host Responses, and Clinical Signs and Symptoms of Pulpitis. *Journal of Endodontics*,33,213-219.
- HAHN CL, LIEWEHR FR. (2007b) Innate immune responses of the dental pulp to caries. *Journal of endodontics*,33,643-651.
- HALL R, SEPTIER D, EMBERY G, GOLDBERG M. (1999) Stromelysin-1 (MMP-3) in forming enamel and predentine in rat incisor-coordinated distribution with proteoglycans suggests a functional role. *The Histochemical Journal*,31,761-770.
- HANEMAAIJER R, SORSA T, KONTTINEN YT, DING Y, SUTINEN M, VISSER H, VAN HINSBERGH VWM, HELAAKOSKI T, KAINULAINEN T, RÖNKA H.

- (1997) Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells regulation by tumor necrosis factor- α and doxycycline. *Journal of Biological Chemistry*,272,31504-31509.
- HARGREAVES KM, BERMAN L. (2016a) Cohens Pathways of the Pulp, 11TH ed, Elsevier, St. Louis. p: 2-33.
- HARGREAVES KM, BERMAN L. (2016b) Cohen's Pathways of the Pulp 11th ed, Elsevier, St. Louis, p:573-599.
- HARGREAVES KM, SWIFT JQ, ROSZKOWSKI MT, BOWLES W, GARRY MG, JACKSON DL. (1994) Pharmacology of peripheral neuropeptide and inflammatory mediator release. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology*,78,503-510.
- HARTMANN A, AZERAD J, BOUCHER Y. (1996) Environmental effects on laser Doppler pulpal blood-flow measurements in man. *Archives of oral biology*,41,333-339.
- HASTY KA, HIBBS M, KANG AH, MAINARDI CL. (1986) Secreted forms of human neutrophil collagenase. *Journal of Biological Chemistry*,261,5645-5650.
- HEIDARI A, SHAHRABI M, SHAHRABI MS, GHANDEHARI M, RAHBAR P. (2017) Comparison of the Level of Substance P and Neurokinin A in Gingival Crevicular Fluid of Sound and Symptomatic Carious Primary Teeth by ELISA. *Journal of dentistry (Tehran, Iran)*,14,173.
- HENRIQUES LCF, DE BRITO LCN, TAVARES WLF, VIEIRA LQ, RIBEIRO SOBRINHO AP. (2011) Cytokine analysis in lesions refractory to endodontic treatment. *Journal of Endodontics*,37,1659-1662.
- HERNÁNDEZ M, GAMONAL J, TERVAHARTIALA T, MANTYLA P, RIVERA O, DEZEREGA A, DUTZAN N, SORSA T. (2010) Associations between matrix metalloproteinase- 8 and- 14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study. *Journal of periodontology*,81,1644-1652.
- HIKIJ A, YAMAMOTO H, SUNAKAWA M, SUDA H. (2000) Increased blood flow and nerve firing in the cat canine tooth in response to stimulation of the second premolar pulp. *Archives of oral biology*,45,53-61.
- HOLMGREN S, JENSEN J. (2001) Evolution of vertebrate neuropeptides. *Brain research bulletin*,55,723-735.
- HOYLE CH. (1996) Neuropeptides: essential data, *Analytical Biochemistry*,255,164-169.
- HUANG GT, POTENTE AP, KIM JW, CHUGAL N, ZHANG X. (1999) Increased interleukin-8 expression in inflamed human dental pulps. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,88,214-220.
- INGLE J, BAKLAND L. (2002) Endodontics. 5th ed, BC Decker, Hamilton, p:194-236.
- INGMAN T, SORSA T, LINDY O, KOSKI H, KONTTINEN YT. (1994) Multiple forms of gelatinases/type IV collagenases in saliva and gingival crevicular fluid of periodontitis patients. *Journal of clinical periodontology*,21,26-31.

- IZUMI T, KOBAYASHI I, OKAMURA K, SAKAI H. (1995) Immunohistochemical study on the immunocompetent cells of the pulp in human non-carious and carious teeth. *Arch Oral Biol*,40,609-614.
- JAFARZADEH H, ABBOTT P. (2010a) Review of pulp sensibility tests. Part II: electric pulp tests and test cavities. *International endodontic journal*,43,945-958.
- JAFARZADEH H, ABBOTT P. (2010b) Review of pulp sensibility tests. Part I: general information and thermal tests. *International endodontic journal*,43,738-762.
- KAHAN RS, GULABIVALA K, SNOOK M, SETCHELL DJ. (1996) Evaluation of a pulse oximeter and customized probe for pulp vitality testing. *Journal of Endodontics*,22,105-109.
- KAKEHASHI S, STANLEY HR, FITZGERALD RJ. (1965) The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,20,340-349.
- KARAPANOU V, KEMPURAJ D, THEOHARIDES TC. (2008) Interleukin-8 is increased in gingival crevicular fluid from patients with acute pulpitis. *J Endod*,34,148-151.
- KAYA BU, ÇİÇEK E, AŞÇI H. (2013) Endodontide ağrı ve analjezik kullanımı. *SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi*,4,39-45.
- KEISER K, BYRNE B. (2011) Endodontic pharmacology. Pathways of the pulp. 10th ed, Elsevier, St Louis, p:671-690.
- KEREZOU DIS N, OLGART L, EDWALL L. (1994) Involvement of substance P but not nitric oxide or calcitonin gene-related peptide in neurogenic plasma extravasation in rat incisor pulp and lip. *Archives of oral biology*,39,769-774.
- KIILI M, COX S, CHEN H, WAHLGREN J, MAISI P, ELEY BM, SALO T, SORSA T. (2002) Collagenase- 2 (MMP- 8) and collagenase- 3 (MMP- 13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *Journal of clinical periodontology*,29,224-232.
- KIM S. (1990) Neurovascular interactions in the dental pulp in health and inflammation. *Journal of endodontics*,16,48-53.
- KINANE D, DARBY I, SAID S, LUOTO H, SORSA T, TIKANOJA S, MANTYLA P. (2003) Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase- 8 levels during periodontal treatment and maintenance. *Journal of Periodontal Research*,38,400-404.
- KLEIER D, SEXTON J, AVERBACH R. (1982) Electronic and clinical comparison of pulp testers. *Journal of dental research*,61,1413-1415.
- KNUTSSON G, JONTELL M, BERGENHOLTZ G. (1994) Determination of plasma proteins in dentinal fluid from cavities prepared in healthy young human teeth. *Archives of Oral Biology*,39,185-190.
- KUMAR V, LOGANI A, SHAH N. (2013) Dentine sialoprotein expression in gingival crevicular fluid during trauma-induced root resorption. *Int Endod J*,46,371-378.

- KUO ML, LAMSTER IB, HASSELGREN G. (1998) Host mediators in endodontic exudates. I. Indicators of inflammation and humoral immunity. *J Endod*,24,598-603.
- KURALAY F, ÇAVDAR Z. (2006) İnflamatuvar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tip Derg*,16,143-152.
- LAMSTER I, HARPER D, GOLDSTEIN S, CELENTI R, OSHRAIN R. (1989) The effect of sequential sampling on crevicular fluid volume and enzyme activity. *Journal of clinical periodontology*,16,252-258.
- LAMSTER IB. (1997) Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol*,2,123-137.
- LANE AJ, GROSSMAN LI. (1971) Culturing root canals by endodontic diplomates: a report based on a questionnaire. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,32,461-466.
- LANGELAND K. (1987) Tissue response to dental caries. *Endod Dent Traumatol*,3,149-171.
- LARSEN CG, ANDERSON AO, APPELLA E, OPPENHEIM JJ, MATSUSHIMA K. (1989) The neutrophil-activating protein (NAP-1) is also chemotactic for T lymphocytes. *Science*,243,1464-1466.
- LEPPILAHTI JM, HERNÁNDEZ- RÍOS PA, GAMONAL JA ve ark. (2014) Matrix metalloproteinases and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid provide site-specific diagnostic value for chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*,41,348-356.
- LEVIN LG. (2013) Pulp and periradicular testing. *Pediatr Dent*,35,113-119.
- LEVIN LG, RUDD A, BLETSA A, REISNER H. (1999) Expression of IL-8 by cells of the odontoblast layer in vitro. *Eur J Oral Sci*,107,131-137.
- LIINDEN GJ, MCKINNEIL J, SHAW C, LUNDY FT. (1997) Substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *Journal of clinical periodontology*,24,799-803.
- LINDEN GJ, IRWIN CR, LUNDY FT. (2009) Neuropeptides regulate expression of angiogenic growth factors in human dental pulp fibroblasts. *Journal of endodontics*,35,829-833.
- LOOS BG, TJOA S. (2005) Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol 2000*,39,53-72.
- LOTZ M, VAUGHAN JH, CARSON DA. (1988) Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes. *Science*,241,1218-1221.
- LUNDY F, LINDEN G. (2004) Neuropeptides and neurogenic mechanisms in oral and periodontal inflammation. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*,15,82-98.
- LUNDY FT, MULLALLY BH, BURDEN DJ, LAMEY PJ, SHAW C, LINDEN GJ. (2000) Changes in substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. *Journal of clinical periodontology*,27,526-530.

- MAINARDI CL, POURMOTABBED TF, HASTY KA. (1991) Inflammatory phagocytes and connective tissue degrading metalloproteinases. *The American journal of the medical sciences*,302,171-175.
- MAITA E, SIMPSON MD, TAO L, PASHLEY DH. (1991) Fluid and protein flux across the pulpodentine complex of the dog in vivo. *Archives of Oral Biology*,36,103-110.
- MÄNTYLÄ P, STENMAN M, KINANE DF, TIKANOJA S, LUOTO H, SALO T, SORSA T. (2003) Gingival crevicular fluid collagenase- 2 (MMP- 8) test stick for chair- side monitoring of periodontitis. *Journal of periodontal research*,38,436-439.
- MARSH PD. (1991) Sugar, fluoride, pH and microbial homeostasis in dental plaque. *Proc Finn Dent Soc*,87,515-525.
- MARTIN-GONZALEZ J, SANCHEZ-JIMENEZ F, PEREZ-PEREZ A, CARMONA-FERNANDEZ A, SANCHEZ-MARGALET V, SEGURA-EGEA JJ. (2013) Leptin expression in healthy and inflamed human dental pulp. *Int Endod J*,46,442-448.
- MATSUMOTO H, SUNAKAWA M, SUDA H. (1996) Do pulpal inflammatory changes modulate periodontal mechanoreceptor afferent activities. Dentin/pulp complex. Shimono M, Maeda T, Suda H, Takahashi K, Eds. Tokyo: Quintessence Publ. Co,327-328.
- MATSUO T, EBISU S, NAKANISHI T, YONEMURA K, HARADA Y, OKADA H. (1994) Interleukin-1 α and interleukin-1 β in periapical exudates of infected root canals: Correlations with the clinical findings of the involved teeth. *Journal of Endodontics*,20,432-435.
- MENTE J, PETROVIC J, GEHRIG H, RAMPF S, MICHEL A, SCHURZ A, PFEFFERLE T, SAURE D, ERBER R. (2016) A Prospective Clinical Pilot Study on the Level of Matrix Metalloproteinase-9 in Dental Pulpal Blood as a Marker for the State of Inflammation in the Pulp Tissue. *Journal of Endodontics*,42,190-197.
- MICHAELSON PL, HOLLAND GR. (2002) Is pulpitis painful? *Int Endod J*,35,829-832.
- MOILANEN M, PIRILÄ E, GRENNAN R, SORSA T, SALO T. (2002) Expression and regulation of collagenase- 2 (MMP- 8) in head and neck squamous cell carcinomas. *The Journal of pathology*,197,72-81.
- MÖLLER A, LIPPERT U, LESSMANN D, KOLDE G, HAMANN K, WELKER P, SCHADENDORF D, ROSENBAACH T, LUGER T, CZARNETZKI BM. (1993) Human mast cells produce IL-8. *The Journal of Immunology*,151,3261-3266.
- MUMFORD J. (1967) Thermal and electrical stimulation of teeth in the diagnosis of pulpal and periapical disease, *Section of odontology*,60,197-200.
- NAGAOKA S, TOKUDA M, SAKUTA T, TAKETOSHI Y, TAMURA M, TAKADA H, KAWAGOE M. (1996) Interleukin-8 gene expression by human dental pulp fibroblast in cultures stimulated with Prevotella intermedia lipopolysaccharide. *Journal of endodontics*,22,9-12.
- NAKANISHI T, MATSUO T, EBISU S. (1995) Quantitative analysis of immunoglobulins and inflammatory factors in human pulpal blood from exposed pulps. *J Endod*,21,131-136.

- NARHI M, VIRTANEN A, KUHTA J, HUOPANIEMI T. (1979) Electrical stimulation of teeth with a pulp tester in the cat. *European Journal of Oral Sciences*,87,32-38.
- NAZAR MAJEED Z, PHILIP K, ALABSI A, PUSHPARAJAN S, SWAMINATHAN D. (2016) Identification of gingival crevicular fluid sampling, analytical methods, and oral biomarkers for the diagnosis and monitoring of periodontal diseases: a systematic review. *Disease Markers*,2016.
- OHKUBO T, SHIBATA M, YAMADA Y, KAYA H, TAKAHASHI H. (1993) Role of substance P in neurogenic inflammation in the rat incisor pulp and the lower lip. *Archives of oral biology*,38,151-158.
- OLGART L. (1996) Neurogenic components of pulp inflammation. Dentin/Pulp Complex. Quintessence, Tokyo, p:169-175.
- OLGART L, EDWALL L, FRIED K. (1993) Cat dental pulp after denervation and subsequent re-innervation: changes in blood-flow regulation and distribution of neuropeptide-, GAP-43-and low-affinity neurotrophin receptor-like immunoreactivity. *Brain research*,625,109-119.
- OLGART L, GAZELIUS B, BRODIN E, NILSSON G. (1977) Release of substance P- like immunoreactivity from the dental pulp. *Acta Physiologica Scandinavica*,101,510-512.
- ORSTAVIK D. (1996) Time-course and risk analyses of the development and healing of chronic apical periodontitis in man. *Int Endod J*,29,150-155.
- PALOSAARI H. (2003) Matrix Metalloproteinases (MMPS) and Their Specific Tissue Inhibitors (TIMPS) in Mature Human Odontoblasts and Pulp Tissue *Academic dissertation, Oulu*.
- PARK S, HSIAO GW, HUANG GJ. (2004) Role of substance P and calcitonin gene- related peptide in the regulation of interleukin- 8 and monocyte chemotactic protein- 1 expression in human dental pulp. *International endodontic journal*,37,185-192.
- PATEL S. (2009) New dimensions in endodontic imaging: Part 2. Cone beam computed tomography. *Int Endod J*,42,463-475.
- PAUWELS R, BEINSBERGER J, COLLAERT B, THEODORAKOU C, ROGERS J, WALKER A, COCKMARTIN L, BOSMANS H, JACOBS R, BOGAERTS R, HORNER K. (2012) Effective dose range for dental cone beam computed tomography scanners. *Eur J Radiol*,81,267-271.
- PENNA K, SADOFF R. (1995) Simplified approach to use of electrical pulp tester. *The New York state dental journal*,61,30-31.
- PERTL C, AMANN R, ODELL E, ROBINSON P, KIM S. (1997) Effects of local anesthesia on substance P and CGRP content of the human dental pulp. *Journal of Endodontics*,23,416-418.
- PETERSON K, SÖDERSTRÖM C, KIANI- ANARAKI M, LEVY G. (1999) Evaluation of the ability of thermal and electrical tests to register pulp vitality. *Dental Traumatology*,15,127-131.

- PEVERI P, WALZ A, DEWALD B, BAGGIOLINI M. (1988) A novel neutrophil-activating factor produced by human mononuclear phagocytes. *Journal of Experimental Medicine*,167,1547-1559.
- PEZELJ-RIBARIC S, ANIC I, BREKALO I, MILETIC I, HASAN M, SIMUNOVIC-SOSKIC M. (2002) Detection of Tumor Necrosis Factor α in Normal and Inflamed Human Dental Pulps. *Archives of Medical Research*,33,482-484.
- POPE O, SATHORN C, PARASHOS P. (2014) A comparative investigation of cone-beam computed tomography and periapical radiography in the diagnosis of a healthy periapex. *J Endod*,40,360-365.
- RAUSCHENBERGER CR, TURNER DW, KAMINSKI EJ, OSETEK EM. (1991) Human polymorphonuclear granule components: Relative levels detected by a modified enzyme-linked immunosorbent assay in normal and inflamed dental pulps. *Journal of Endodontics*,17,531-536.
- RAUSCHENBERGER CR, MCCLANAHAN SB, PEDERSON ED, TURNER DW, KAMINSKI EJ. (1994) Comparison of human polymorphonuclear neutrophil elastase, polymorphonuclear neutrophil cathepsin-G, and alpha 2-macroglobulin levels in healthy and inflamed dental pulps. *J Endod*,20,546-550.
- RECHENBERG D-K, BOSTANCI N, ZEHNDER M, BELIBASAKIS GN. (2014) Periapical fluid RANKL and IL-8 are differentially regulated in pulpitis and apical periodontitis. *Cytokine*,69,116-119.
- RECHENBERG DK, ZEHNDER M. (2014) Molecular diagnostics in endodontics. *Endodontic Topics*,30,51-65.
- RICHARDSON JD, VASKO MR. (2002) Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*,302,839-845.
- RODD HD, BOISSONADE FM. (2000) Substance P expression in human tooth pulp in relation to caries and pain experience. *European Journal of Oral Sciences*,108,467-474.
- ROEYKENS H, VAN MAELE G, DE MOOR R, MARTENS L. (1999) Reliability of laser Doppler flowmetry in a 2-probe assessment of pulpal blood flow. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*,87,742-748.
- ROSELL S, OLGART L, GAZELIUS B, PANOPOULOS P, FOLKERS K, HORIG J. (1981) Inhibition of antidromic and substance P- induced vasodilatation by a substance P antagonist. *Acta Physiologica Scandinavica*,111,381-382.
- ROT A. (1992) Endothelial cell binding of NAP-1/IL-8: role in neutrophil emigration. *Immunology today*,13,291-294.
- ROT A. (1993) Neutrophil attractant/activation protein- 1 (interleukin- 8) induces in vitro neutrophil migration by haptotactic mechanism. *European journal of immunology*,23,303-306.
- ROTSTEIN I, ENGEL G. (1991) Conservative management of a combined endodontic- orthodontic lesion. *Dental Traumatology*,7,266-269.
- RUD J, ANDREASEN JO, JENSEN JE. (1972) Radiographic criteria for the assessment of healing after endodontic surgery. *Int J Oral Surg*,1,195-214.

- RUFF MR, WAHL SM, PERT CB. (1985) Substance P receptor-mediated chemotaxis of human monocytes. *Peptides*,6,107-111.
- SATTARI M, MOZAYENI MA, MATLOOB A, MOZAYENI M, JAVAHERI HH. (2010) Substance P and CGRP expression in dental pulps with irreversible pulpitis. *Australian Endodontic Journal*,36,59-63.
- SELTZER S, BENDER IB, ZIONTZ M. (1963) The dynamics of pulp inflammation: correlations between diagnostic data and actual histologic findings in the pulp. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,16,969-977.
- SHIMAUCHI H, TAKAYAMA S-I, MIKI Y, OKADA H. (1997) The change of periapical exudate prostaglandin E2 levels during root canal treatment. *Journal of Endodontics*,23,755-758.
- SHIN SJ, LEE JI, BAEK SH, LIM SS. (2002) Tissue levels of matrix metalloproteinases in pulps and periapical lesions. *J Endod*,28,313-315.
- SHIN SJ, LEE W, LEE JI, BAEK SH, KUM KY, SHON WJ, BAE KS. (2011) Matrix metalloproteinase-8 and substance P levels in gingival crevicular fluid during endodontic treatment of painful, nonvital teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,112,548-554.
- SILVA AC, FARIA MR, FONTES A, CAMPOS MS, CAVALCANTI BN. (2009) Interleukin-1 beta and interleukin-8 in healthy and inflamed dental pulps. *J Appl Oral Sci*,17,527-532.
- SORSA T, TJÄDERHANE L, SALO T. (2004) Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral diseases*,10,311-318.
- SORSA T, UITTO VJ, SUOMALAINEN K, VAUHKONEN M, LINDY S. (1988) Comparison of interstitial collagenases from human gingiva, sulcular fluid and polymorphonuclear leukocytes. *Journal of periodontal research*,23,386-393.
- SORSA T, HERNÁNDEZ M, LEPPILAHTI J, MUNJAL S, NETUSCHIL L, MANTYLA P. (2010) Detection of gingival crevicular fluid MMP- 8 levels with different laboratory and chair- side methods. *Oral Diseases*,16,39-45.
- SORSA T, DING YL, INGMAN T, SALO T, WESTERLUND U, HAAPASALO M, TSCHESCHE H, KONTTINEN YT. (1995) Cellular source, activation and inhibition of dental plaque collagenase. *Journal of clinical periodontology*,22,709-717.
- SPOTO G, FIORONI M, RUBINI C, TRIPODI D, DI STILIO M, PIATTELLI A. (2001) Alkaline Phosphatase Activity in Normal and Inflamed Dental Pulps. *Journal of Endodontics*,27,180-182.
- STASHENKO P, TELES R, D'SOUZA R. (1998) Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med*,9,498-521.
- SUNDQVIST G. (1994) Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,78,522-530.
- SWIFT M, BYERS M. (1992) Effect of ageing on responses of nerve fibres to pulpal inflammation in rat molars analysed by quantitative immunocytochemistry. *Archives of oral biology*,37,901-912.

- TABA M, JR., KINNEY J, KIM AS, GIANNOBILE WV. (2005) Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dent Clin North Am*,49,551-571.
- TAKAHASHI K, TANAKA A, HARA M, NAKANISHI S. (1992) The primary structure and gene organization of human substance P and neuromedin K receptors. *European journal of biochemistry*,204,1025-1033.
- TAKAMORI K. (2000) A histopathological and immunohistochemical study of dental pulp and pulpal nerve fibers in rats after the cavity preparation using Er: YAG laser. *Journal of Endodontics*,26,95-99.
- TAKAYAMA S, MIKI Y, SHIMAUCHI H, OKADA H. (1996) Relationship between prostaglandin E2 concentrations in periapical exudates from root canals and clinical findings of periapical periodontitis. *J Endod*,22,677-680.
- TANCHAROEN S, TENGRUNGSUN T, SUDDHASTHIRA T ve ark. (2014) Overexpression of receptor for advanced glycation end products and high-mobility group box 1 in human dental pulp inflammation. *Mediators Of Inflammation*,2014,754069-754069.
- TAVARES WL, DE BRITO LC, HENRIQUES LC, TELES FR, TELES RP, VIEIRA LQ, RIBEIRO SOBRINHO AP. (2012) Effects of calcium hydroxide on cytokine expression in endodontic infections. *J Endod*,38,1368-1371.
- TAVARES WL, DE BRITO LC, HENRIQUES LC, OLIVEIRA RR, MACIEL KF, VIEIRA LQ, SOBRINHO AP. (2013) The impact of chlorhexidine-based endodontic treatment on periapical cytokine expression in teeth. *J Endod*,39,889-892.
- TJÄDERHANE L, LARJAVA H, SORSA T, UITTO VJ, LARMAS M, SALO T. (1998) The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *Journal of dental research*,77,1622-1629.
- TONETTI M, FREIBURGHANUS K, LANG N, BICKEL M. (1993) Detection of interleukin- 8 and matrix metalloproteinases transcripts in healthy and diseased gingival biopsies by RNA/PCR. *Journal of periodontal research*,28,511-513.
- TORABINEJAD M, FOUAD A, WALTON RE. (2014) Endodonti Temel İlkeler ve Uygulamalar Nobel Kitabevi,, İstanbul, s:49-68.
- TROWBRIDGE HO, KIM S. (1994) Pulp development, structure and function. Cohen S. and Burns RC. Pathways of the Pulp.6th ed, Elseiver, St. Louis,296-336.
- TSAI CH, CHEN YJ, HUANG FM, SU YF, CHANG YC. (2005) The upregulation of matrix metalloproteinase-9 in inflamed human dental pulps. *J Endod*,31,860-862.
- TÜZÜN C. (2002) Biyokimya Palme Yayıncılık.
- VERTUCCI FJ, WILLIAMS RG. (1974) Furcation canals in the human mandibular first molar. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,38,308-314.
- VISSE R, NAGASE H. (2003) Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation research*,92,827-839.

- VON BÖHL M, REN Y, FUDALEJ PS, KUIJPERS-JAGTMAN AM. (2012) Pulpal reactions to orthodontic force application in humans: a systematic review. *Journal of Endodontics*,38,1463-1469.
- WAHLGREN J. (2003) Matrix metalloproteinases in pulpitis, chronic apical periodontitis and odontogenic jaw cysts, Academic dissertation, Helsinki.
- WAHLGREN J, SALO T, TERONEN O, LUOTO H, SORSA T, TJADERHANE L. (2002) Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and periapical root-canal exudates. *Int Endod J*,35,897-904.
- WAHLGREN J, MAISI P, SORSA T, SUTINEN M, TERVAHARTIALA T, PIRILA E, TERONEN O, HIETANEN J, TJADERHANE L, SALO T. (2001) Expression and induction of collagenases (MMP- 8 and- 13) in plasma cells associated with bone- destructive lesions. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*,194,217-224.
- WAKISAKA S. (1990) Neuropeptides in the dental pulp: distribution, origins, and correlation. *Journal of endodontics*,16,67-69.
- WALTON RE, LANGELAND K. (1978) Migration of materials in the dental pulp of monkeys. *Journal of endodontics*,4,167-177.
- WALZ A, PEVERI P, ASCHAUER H, BAGGIOLINI M. (1987) Purification and amino acid sequencing of NAF, a novel neutrophil-activating factor produced by monocytes. *Biochemical and biophysical research communications*,149,755-761.
- YOLKEN RH. (1980) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): a practical tool for rapid diagnosis of viruses and other infectious agents. *The Yale journal of biology and medicine*,53,85.
- YOSHIMURA T, MATSUSHIMA K, TANAKA S, ROBINSON EA, APPELLA E, OPPENHEIM JJ, LEONARD EJ. (1987) Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,84,9233-9237.
- YU C, ABBOTT PV. (2007) An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. *Aust Dent J*,52,S4-16.
- ZEHNDER M, WEGEHAUPT FJ, ATTIN T. (2011) A first study on the usefulness of matrix metalloproteinase 9 from dentinal fluid to indicate pulp inflammation. *J Endod*,37,17-20.
- ZEHNDER M, DELALEU N, DU Y, BICKEL M. (2003) Cytokine gene expression—part of host defence in pulpitis. *Cytokine*,22,84-88.
- ZEHNDER M, RECHENBERG DK, BOSTANCI N, SISMAN F, ATTIN T. (2014) Comparison of vehicles to collect dentinal fluid for molecular analysis. *J Dent*,42,1027-1032.

ÖZGEÇMİŞ

Gözde AKBAL DİNÇER 29.09.1989 tarihinde İstanbul'da doğdu. İlköğrenimini 50. Yıl Feridun Tümer İlköğretim Okulu'nda bitirdikten sonra Maltepe Kadir Has Anadolu Lisesi'nden 2007 yılında mezun oldu. 2014 yılında Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ni bitirdi. 2016 yılından bu yana Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

Evrak Tarih ve Sayısı: 27/06/2019-E.20767



T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 60821397-299-
Konu : Çalışma isminin değiştirilmesi hk.

Sayın Prof. Dr. Ali ERDEMİR
Endodonti Anabilim Dalı Başkanı

İlgi : 24.06.2019 tarihli dilekçe.

Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığından 06.03.2018 tarihli ve 04/01 karar numarası ile onayı alınan "Sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpal kan ve DOS örneklerinde IL-8, MMP-8, NKA, SP değişimlerinin karşılaştırılması, isimli çalışma adının jüri üyelerinin önerileri üzerine "Sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpa doku ve DOS örneklerinde NKA, SP, IL-8, MMP-8 değişimlerinin karşılaştırılması, olarak değiştirilmesi talebiniz, 27.06.2019 tarihli Etik Kurul toplantısında görüşülerek 27.06.2019 tarihli ve 14/09 sayılı Karar Numarası ile uygun görülmüştür.

Bilgilerini ve gereğini rica ederim.

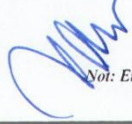
e-İmzalıdır
Prof. Dr. Osman ÇAĞLAYAN
Etik Kurulu Başkanı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpal kan ve DOS örneklerinde IL-8, MMP-8, NKA, SP değişimlerinin karşılaştırılması,	
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	Yenişehir Mahallesi Tahsin Duru Caddesi No:14 YAŞİHAN/KIRIKKALE
	TELEFON	0 318 333 50 10/5733
	FAKS	0 318 224 07 86
	E-POSTA	ketik@kku.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ali ERDEMİR				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Endodonti				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi				
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-				
	DESTEKLEYİCİ	Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi Koordinasyon Birimi				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi Koordinasyon Birimi				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>			
FAZ 4		<input type="checkbox"/>				
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>				
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>				
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>				
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>				
Diğer ise belirtiniz						
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>		

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ
İmza:



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpal kan ve DOS örneklerinde IL-8, MMP-8, NKA, SP değişimlerinin karşılaştırılması,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Ocak 2018	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Ocak 2018	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU	Ocak 2018	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:04/01	Tarih: 06.03.2018					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ	Göğüs Hastalıkları	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Figen ÇOŞKUN	Acil Tıp	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Hakan BOYUNAĞA	Tıbbi Biyokimya	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. H. Ebru OLGUN	Periodontoloji	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. M. Faik ÖZVEREN	Beyin ve Sinir Cerrahisi	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Meral SAYGUN	Halk Sağlığı	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Gülten KARACA	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Aslı Fahriye CEYLAN IŞIK	Tıbbi Farmakoloji	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpal kan ve DOS örneklerinde IL-8, MMP-8, NKA, SP değişimlerinin karşılaştırılması,							
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU									
Doç. Dr. Gökçe ŞİMŞEK	KBB	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç. Dr. Faruk Metin ÇOMU	Fizyoloji	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Faruk PEHLİVANLI	Genel Cerrahi	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Burhan BİRİCİ	Serbest Eczacı	Kırıkkale- Merkez	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. Halil MUTLU	Hukuk	Kırıkkale-Merkez	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yakup DOĞAN	Fakülte Sekreteri	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK-2

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

Araştırma hakkında bilgi

Pulpa hastalıkları toplumda sık karşılaşılan hastalıklardandır. Pulpa hastalıklarının iltihabi süreci geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olmak üzere safhalardan oluşmaktadır ve hastalığın tedavi şekli bulunduğu safhaya göre farklılık göstermektedir. Günümüzde hastalığın safhasını klinik ve radyografik bulgularla ayırt etmekteyiz

Araştırmanın amacı

Araştırmanın amacı sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpal kan ve DOS örneklerinde moleküler belirteçlerdeki değişim arasında bir korelasyon olup olmadığının araştırılmasıdır.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni

- Sağlıklı ve geri dönüşümsüz akut pulpitis tanısı konmuş dişlere kök kanal tedavisi planlanmış olması

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz izniniz doğrultusunda aşağıda tanımlanan işlem(ler) uygulanacaktır

- Kök kanal tedavisi esnasında zaten çıkartılan pulpa dokusu araştırma için kullanılacaktır. Sonrasında dişiniz için planlanan kök kanal tedavisi aynen devam edecektir.
- Kanal tedavisine başlanmadan ve 2. seansta dişeti oluğu sıvısı örnekleri toplanacaktır.

Uygulamanın katılımcıya getirebileceği muhtemel olumsuz durumlar

Herhangi bir olumsuz durum olmayacaktır

Araştırmanın size kesinlikle maddi bir yükü olmayacaktır. Araştırmadan elde edilen kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir. Bu çalışma sırasında size ait elde edilmiş tüm bilgi gizli kalacaktır. Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Alınan doku örneği üniversitemizin biyokimya laboratuvarında araştırma amacıyla kullanılacaktır.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sayın Prof. Dr.Ali ERDEMİR, Dt. Gözde AKBAL tarafından Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti A.D.'da, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.'da tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (gönüllü) olarak davet edildim.

EK-2

Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dt Gözde AKBAL'ı 5376602170 numaralı telefonda arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, alınan örneğin bana herhangi bir zarar ya da fayda sağlamayacağını, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum

Tarih:

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Katılımcı ile görüşen Hekim

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

ÇOCUK HASTALARDA YAPILACAK KLİNİK ARAŞTIRMALAR İÇİN**“EBEVEYN” BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**

Değerli anne ve babalar;

Çocuğunuzun, kliniğimizde yapılması planlanan “sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpal kan ve DOS örneklerinde moleküler belirteçlerdeki değişimin karşılaştırılması” isimli bir çalışmada yer alabilmesi için sizden izin istiyoruz. Bu çalışma, araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır.

Aşağıdaki bilgileri sizden okumanızı istiyoruz. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir. Araştırmaya katılım gönüllülük ilkesine bağlıdır ve sadece siz izin verdiğiniz takdirde çocuğunuz bu çalışmaya dahil edilecektir. Bu araştırma hakkında çocuğunuza da bilgi vereceğiz ve ondan da bu çalışmaya katılımı için izin isteyeceğiz. Lütfen net olmayan bir durum ya da öğrenmek istediğiniz başka bir sorunuz varsa doktorunuza sorunuz.

Araştırma hakkında bilgi

Pulpa hastalıkları toplumda sık karşılaşılan hastalıklardandır. Pulpa hastalıklarının iltihabi süreci geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olmak üzere safhalardan oluşmaktadır ve hastalığın tedavi şekli bulunduğu safhaya göre farklılık göstermektedir. Günümüzde hastalığın safhasını klinik ve radyografik bulgularla ayırt etmekteyiz.

Araştırmanın amacı

Araştırmanın amacı sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin pulpal kaynaklı kan örnekleri ve DOS örneklerinde moleküler belirteçlerdeki değişim arasında bir korelasyon olup olmadığının araştırılmasıdır.

Çocuğunuzun araştırmaya dahil edilmek istenilmesinin nedeni

- Sağlıklı ve geri dönüşümsüz akut pulpitis tanısı konmuş dişlere kök kanal tedavisi planlanmış olması

Bu çalışmaya hem yetişkin hem çocuk hastalar dahil edilmektedir. Toplam 40 kişinin bu çalışmaya dahil edilmesi planlanmaktadır. Çalışmanın benzerleri daha önce yapılmıştır. Yapılan bütün çalışmalarda genel olarak farklı klinik durumdaki dişlerin aynı bölgesinden alınan örneklerde (örneğin pulpal kaynaklı kan örnekleri veya DOS örnekleri) moleküler

belirteçlerin farklı ekspresyonları araştırılmıştır. Yapacağımız çalışmanın diğer çalışmalardan farkı ise sağlıklı dişler ile akut geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş dişlerin DOS örnekleri ve pulpa doku örnekleri arasında moleküler belirteçlerdeki değişim arasında bir korelasyon olup olmadığının araştırılmasıdır.

Eğer çocuğunuzun araştırmaya katılmasını kabul ederseniz izniniz doğrultusunda aşağıda tanımlanan işlem(ler) uygulanacaktır

- Kök kanal tedavisi esnasında zaten çıkartılan pulpa dokusu araştırma için kullanılacaktır. Sonrasında çocuğunuzun dişi için planlanan kök kanal tedavisi aynen devam edecektir.
- Kanal tedavisine başlanmadan ve 2. seansta dişeti oluğu sıvısı örnekleri toplanacaktır.

Çocuğum bu çalışmaya katılmalı mı?

Çocuğunuzun bu çalışmada yer alıp almaması tamamen size ve çocuğunuza bağlıdır. Eğer katılmasına izin verirsiniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda çocuğunuzu çalışmadan çekebilirsiniz. Eğer katılmasını istemezseniz veya çalışmadan ayrılırsanız, doktorunuz tarafından çocuğunuz için en uygun tedavi planı uygulanacaktır. Aynı şekilde çalışmayı yürüten doktor çocuğunuzun çalışmaya devam etmesinin yararlı olmayacağına karar verebilir ve onu çalışma dışı bırakabilir.

Uygulamanın çocuğunuza getirebileceği muhtemel olumsuz durumlar

Herhangi bir olumsuz durum olmayacaktır

Araştırmanın size kesinlikle maddi bir yükü olmayacaktır. Araştırmadan elde edilen kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir. Bu çalışma sırasında size ait elde edilmiş tüm bilgi gizli kalacaktır. Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Alınan doku örneği üniversitemizin biyokimya laboratuvarında araştırma amacıyla kullanılacaktır

(Katılımcı çocuğun ebeveyninin beyanı)

Sayın Prof. Dr.Ali ERDEMİR, Dt. Gözde AKBAL tarafından Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti A.D.'da, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.'da tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı.

Çocuğumun araştırmaya katılması konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer çocuğumun çalışmaya katılmasını reddedersem, bu durumun çocuğumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında çocuğumun kişisel bilgilerinin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden çocuğumu araştırmadan çekebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca çocuğumun tıbbi durumuna herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle çocuğumda meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında çocuğum bir sağlık sorunu ile karşılaştığında; herhangi bir saatte, Dt Gözde AKBAL'ı 5376602170 numaralı telefonda arayabileceğimi biliyorum.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla, çocuğumun söz konusu klinik araştırmaya katılmasını gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Tarih:

Velinin,

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Görüşme tanığı,

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim,

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

