

T.C
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ENDODONTİ ANABİLİM DALI

**FARKLI DİREKT KUAFAJ MATERYALLERİNİN
PULPAYA ETKİLERİNİN STEREOLOJİK YÖNTEMLE
İNCELENMESİ**

EKİM ONUR ORHAN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

YRD. DOÇ. DR. MURAT MADEN

2011- ISPARTA

T.C

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENDODONTİ ANABİLİM DALI

**FARKLI DİREKT KUAF AJ MATERYALLERİNİN
PULPAYA ETKİLERİNİN STEREOLOJİK YÖNTEMLE
İNCELENMESİ**

EKİM ONUR ORHAN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

YRD. DOÇ. DR. MURAT MADEN

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 1947- D- 09 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No: 70

2011- ISPARTA

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Endodonti Anabilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25/11/2011

Tez Danışmanı: YRD. DOÇ. DR. MURAT MADEN

T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : PROF. DR. ZUHAL KIRZIOĞLU

T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : DOÇ. DR. ÖZGÜR ER

T.C. Erciyes Üniversitesi

Üye : DOÇ. DR. AYŞE DİLJİN KEÇECİ

T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : YRD. DOÇ. DR. GÜL ÇELİK ÜNAL

T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu' nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora eğitimime başladığım günden itibaren, bilgi paylaşımını ve desteğini her an hissettiğim değerli tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Murat MADEN'e

Tezimin tüm aşamalarında yardım ve desteğini esirgemeyen, görüşlerine başvurduğum Doktora Tez İzleme Komitesi Üyesi değerli hocalarım Prof.Dr. Zuhâl KIRZIOĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Gül ÇELİK ÜNAL'a ve Prof.Dr. Alparslan GÖKÇİMEN'e,

Tez çalışmamızın planlanmasında, deney aşamalarının gerçekleşmesinde ve tüm tez çalışmam sırasında kendisinin sahip olduğu imkânları bana açan ve kısıtlı zamanında bile bana vakit ayıran Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Tülin OYGÜR'e, Dr. Burcu SENGÜVEN'e, Dr. Emre BARIŞ'a,

Doktora süresince değerli bilgilerini her zaman benimle paylaşan Doç.Dr. Ayşe Diljin KEÇECİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Buğlem ÜREYEN KAYA'ya,

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım S.D.Ü. Tıp fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Hakan DARICI'ya

Tez çalışmamızda görüntü ve fotoğrafları profesyonel olarak alabilmemizi sağlayan değerli arkadaşım Dt. Erdal SARITEKİN'e,

Hayvan deneyleri araştırma ve uygulama laboratuvarında görev yapan, *in vivod* deneylerde yardımlarını esirgemeyen Ayşegül ÖZKAN'a,

Tez projemize maddi destek sağlayan S.D.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Tüm yaşamımda sevgi ve destekleriyle yanımda olan, özveri ve sabırla beni yetiştirerek bugünlere gelmemi sağlayan, sevgili aileme, gösterdikleri sabır, anlayış ve eksikliğini hiç hissettirmedikleri maddi manevi desteklerinden dolayı,

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Dt. Ekim Onur ORHAN

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Pulpo-dentinal kompleks	4
2.1.1. Diş pulpası	4
2.1.1.1. Pulpanın tabakaları	5
2.1.1.2. Pulpanın histolojik yapısı	6
2.1.1.2.1. Odontoblast hücresi	6
2.1.1.2.2. Odontoblast benzeri hücreler	7
2.1.1.2.3. Fibroblastlar	8
2.1.1.2.4. Savunma hücreleri	9
2.1.1.2.5. Farklılaşmamış mezenşim hücreleri	9
2.1.1.2.6. Diğer hücreler	9
2.1.2. Dentin dokusu	10
2.1.2.1. Dentin dokusu fonksiyonu	11
2.1.2.1.1. Primer dentin	11
2.1.2.1.2. Sekonder dentin	12
2.1.2.1.3. Tersiyer dentin	12
2.1.2.1.4. Tamir dentini (Tersiyer Dentin)	13
2.2. Direkt pulpa kaplaması	14
2.2.1. DPK uygulamasında başarıyı etkileyen faktörler	16
2.2.1.1. Pulpanın kontamine olmaması	16
2.2.1.2. Çevresinde çürük dentinin/eski restorasyonun bulunmaması	16
2.2.1.3. Kanamanın kontrolü	17

2.2.1.4. DPK materyalinin açılan pulpa yüzeyi ile olan teması	17
2.2.1.5. Özel dentinojenik cevabı uyaracak materyalin seçimi	17
2.2.1.6. Kavite dezenfeksiyonu	17
2.2.1.7. Uygulama yapılan dişin süt ya da daimi diş olması	18
2.2.1.8. Dişin ve bireyin yaşı	18
2.2.2. DPK ajanı olarak kullanılan maddeler	18
2.3. Kalsiyum hidroksit	19
2.3.1. Kalsiyum hidroksitin kullanım şekilleri	21
2.3.2. Hızlı sertleşen kalsiyum hidroksit formülleri	21
2.3.3. Kalsiyum hidroksitin etki mekanizması	22
2.3.4. Dentin matris oluşumu ve matrisin kalsifikasyonu	23
2.3.5. Dentin köprüsü oluşumu	24
2.3.6. Dezavantajı	25
2.4. Mineral Trioksit Agregat	26
2.4.1. Mineral Trioksit Agregatın bileşimi ve fiziksel özellikleri	27
2.4.2. Mineral Trioksit Agregatın sertleşme mekanizması	28
2.4.3. Mineral Trioksit Agregatın etki mekanizması	29
2.4.4. Mineral Trioksit Agregatın mikrosızdırmazlık özelliği	30
2.4.5. Mineral Trioksit Agregatın antibakteriyel aktivitesi	31
2.4.6. Dezavantajları	32
2.4.7. Mineral Trioksit Agregatın <i>vitro</i> biyouyumluluk çalışmaları	32
2.4.8. Mineral Trioksit Agregat ile ilgili <i>in vivo</i> çalışmalar	33
2.5. Mine matris proteinleri	35
2.5.1. Mine matris türevi (EMD)-Emdogain® Jel	37
2.5.2. Mine matris türevinin Periodontolojide etki mekanizması	38
2.5.3. Mine matris türevinin vital pulpa tedavilerinde etki mekanizması	39
2.6. Trombositten zengin plazma (TZP)	40
2.6.1. Trombositler	41
2.6.1.1. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)	43
2.6.1.2. Dönüştürücü büyüme faktörü-beta ailesi (TGF-βs)	43
2.6.1.3. Trombosit kaynaklı epidermal büyüme faktörü (PDEGF)	44
2.6.1.4. Trombosit kaynaklı anjiogenezis faktör (PDAF)	44
2.6.1.5. İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF)	45

2.6.1.6. Trombosit faktör 4 (PF-4)	45
2.6.2. Trombositten zengin plazmanın elde edilmesi	45
2.6.3. Trombositten zengin plazmanın klinik uygulama alanı	47
2.6.4. Trombositten zengin plazma kullanımının olası riskleri	48
2.7. Stereolojik yöntem	48
2.7.1. Kesit örnekleme payı	49
2.7.2. Diş hekimliği alanında Stereolojik yöntem	49
2.8. Histomorfometrik görüntü analiz sistemleri (Image Analysis)	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM	51
3.1. Çalışma için gerekli belgelerin elde edilmesi	51
3.2. Deney hayvanları	51
3.3. TZP hazırlanması	56
3.4. Çalışma gruplarına göre materyallerin uygulanması	58
3.5. Örneklerin hazırlanması	64
3.6. Tanecik sayım cetvelinin özellikleri	72
3.7. Kullanılan istatistiksel yöntem	74
4. BULGULAR	75
4.1. Çalışma ve kontrol gruplarının ölçüm değerlerine göre karşılaştırılması	75
4.2. Gruplara göre odontoblast sayı dağılımları	90
4.3. Gruplara göre tersiyer dentin kalınlığı dağılımları	96
5. TARTIŞMA	110
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	147
ÖZET	151
ABSTRACT	152
KAYNAKLAR	153
EKLER	187
Ek 1: HADYEK proje onayı	187
Ek 2: Hayvan deneyleri uygulama sertifikası	189
Ek 3: Stereoloji uygulayabilme sertifikası	190
ÖZGEÇMİŞ	191

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	: Alfa
Å	: Angstron
ACD-A	: Antikoagülan Sitrat Dekströz A
ADA	: Amerikan Diş Hekimleri Birliği
Al	: Alüminyum
β	: Beta
bFGF	: Bazal fibroblast büyüme faktörü
BMP	: Bone morphogenic protein, Kemik morfojenik protein
°C	: Santigrat Derece
Ca(OH) ₂	: Kalsiyum Hidroksit
Ca ₁₀ [PO ₄] ₆ [OH] ₂	: kalsiyum hidroksiapatit kristali
CaCl ₂	: Kalsiyum klörür
CH ₂ O ₂	: Formik asit
CO ₂	: Karbondioksit
CaCO ₃	: Bikarbonat
Da	: Dalton
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPK	: Direkt pulpa kaplaması
DSPP	: Dentin sialofosfoprotein
EMD	: Enamel matrix dervative (Mine Matris Türevi)
EGF	: Epidermal büyüme faktör
FDA	: İlaç ve Gıda Birliği (FoodandDrug Administration)
FDI	: Dünya Diş Hekimleri Federasyonu (World Dental Federation)
GF	: Büyüme faktörü (Growth factor)
GPa	: Gigapaskal
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	: İnterlökin

IRM	: Intermediate restorative material, geçici dolgu materyali
kDa	: Kilodalton
KH	: Kalsiyum Hidroksit
KHN	: Knoop sertlik değeri
M	: Mol kütlesi
Mg /L	: Miligram/litre
mm	: Milimetre
µm	: Mikrometre, mikron
µm/gün	: mikron/gün
MTA	: Mineral Trioksit Agregat
nm	: Nanometre
Ort	: Ortalama
OH-AP	: Hidroksiapatit
OP	: Osteojenik proteinler
p	: İstatistiksel önem derecesi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu (polymerease chain reactions)
PDAF	: Trombosit kaynaklı anjiogenezis faktör
PDGF	: Trombosit kaynaklı Büyüme Faktörü
PDEGF	: Trombosit kaynaklı epidermal büyüme faktörü
PF-4	: Trombosit faktör 4
pH	: Hidrojenin gücü
S.s	: Standart sapma
TCF	: Tetra Kalsiyum Fosfat
TFP	: Trombositten fakir plazma
TGF-β ₁	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta-1(Transforming growth factor beta 1)
TGF-β ₂	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta-2(Transforming growth factor beta 2)
TGF-β ₃	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta-3(Transforming growth factor beta 3)
TGF-β _s	: Dönüştürücü büyüme faktörü betaizomer ailesi (Transforming growth factor beta superfamily)
TZP	: Trombositten zengin plazma

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 : Çalışma materyallerine göre ratların gruplandırılması.	53
Şekil 2 : Kontrol gruplarına ait dişlerin dağılımı.	53
Şekil 3 : EMD grubu enflamasyon parametrelerine göre grup ortalamaları.	81
Şekil 4 :TZP grubu enflamasyon parametrelerine göre grup ortalamaları.	84
Şekil 5 : MTA grubu enflamasyon parametrelerine göre grup ortalamaları.	87
Şekil 6 : KH grubu enflamasyon parametrelerine göre grup ortalamaları.	89
Şekil 7 : Gruplara göre tersiyer dentin görülme sıklığı gösterilmektedir.	90
Şekil 8 : Negatif kontrol grubuna ait odontoblast sayıları.	91
Şekil 9 : EMD gruplarına göre odontoblast benzeri hücre sayıları	92
Şekil 10:TZP gruplarına göre odontoblast benzeri hücre sayıları.	92
Şekil 11:MTA gruplarına göre odontoblast benzeri hücre sayıları.	92
Şekil 12:KH gruplarına göre odontoblast benzeri hücre sayıları.	93
Şekil 13:Gruplara göre odontoblast sayı ortalamaları.	93
Şekil 14: Tersiyer dentin kalınlık skorlarının ortalamaları.	96

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1	: Denev hayvanlarının barınma ortamı.	51
Resim 2	. Klinik çalışmada kullanılan el aletleri.	51
Resim 3	:Ratlara genel anestezi uygulanması.	52
Resim 4	: TZP kiti bölümleri.	56
Resim 5	: Rat kafatasının görünümü.	57
Resim 6	: Rat kafatasında çalışma öncesinde yapılan kavite hazırlığı	58
Resim 7	: Operasyon takip listesi.	59
Resim 8	: Kollajenin küçük parçalara ayrılması.	60
Resim 9	: Deneklere izolasyon uygulanması.	61
Resim 10	:A. KH'ın polimerizasyonu, B. MTA.	62
Resim 11	: Rat dişleri üzerindeki uygulama ortamı.	62
Resim 12	:Sol;Etiketlenmiş steril idrar kabı, Sağ; Histolojik doku kasetleri.	63
Resim 13	:Demineralizasyonun formik asit ile sağlanması.	64
Resim 14	: Sol; demineralizasyonun radyografikkontrolü, Sağ; yatay olarak kesiler yapılmasının şematik görünümü.	64
Resim 15	: Örneklerin, boyutsal standardizasyonu.	65
Resim 16	: Otomatik doku takip cihazı.	66
Resim 17	: Parafine gömülen dokular.	67
Resim 18	: Mikrokatör ile parafin bloklardan kesit alınması.	67
Resim 19	:Deparafinizasyon.	68
Resim 20	: Kesitlerin Hematoksilen & Eozin ile boyanması.	69
Resim 21	: Kesitlerin boyandıktan sonraki lamelle kapatılmış görünümüleri.	69
Resim 22	: Fotoataçmanlı ışık mikroskobu.	70
Resim 23	: LeicaQWin Plus v3.3.1 görüntü analizi programı.	72
Resim 24	:Tanecik sayım cetveli.	73
Resim 25	: MTA 28.güne ait 1. örneğin histolojik kesiti.	97
Resim 26	: MTA 28.güne ait 1. örnekte tanecik sayım cetveli.	98
Resim 27	: MTA 28.28.güne ait 1. örnekte odontoblast sayımı.	99

Resim 28	:KH 28.güne ait 7. örneğin histolojik görünümü.	100
Resim 29	: Negatif kontrol grubuna ait 4. örneğin histolojik görünümü.	101
Resim 30	: TZP 7.güne ait 2. örnekte pulpanın histolojikgörünümü.	102
Resim 31	: EMD 28.güne ait 4. örnekte pulpanın histolojikgörünümü.	103
Resim 32	:EMD 7.güne ait 6.örnekte pulpanın histolojikgörünümü.	104
Resim 33	:KH 28.güne ait 10.örneğin histolojik görünümü.	105
Resim 34	: KH 7.güne ait 8. örnekte odontoblast benzeri hücre sayımı.	106
Resim 35	:MTA 7.güne ait 12.örneğin histolojik görünümü.	107
Resim 36	:TZP 28.güne ait 12. örnekte odontoblast benzeri hücre sayımı.	108
Resim 37	:EMD 7.güne ait 6. örnekte odontoblast benzeri hücre sayımı.	109
Resim 38	: Sol; pozitif kontrol grubunun histolojik görünümü. Sağ; negatif kontrol grubununhistolojik görünümü.	110

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1	:Genel anestezi miktarları.	54
Tablo 2	: Boyama protokolü.	68
Tablo 3	: Histolojik incelemede kullanılan kriterler.	70
Tablo 4	:Histomorfometrik skorlamada kullanılan kriterler.	71
Tablo 5	: Enflamasyon parametrelerine göre frekans ve yüzde dağılımları.	77
Tablo 6	:Enflamasyon parametrelerine göregrupların karşılaştırılması.	78
Tablo 7	:EMD grubunun 7.gün ve 28.gün istatistikleri.	80
Tablo 8	:EMD grubunun negatif kontrol grubu ile karşılaştırılması.	80
Tablo 9	:EMD grubununikili grup karşılaştırması.	80
Tablo 10	:TZP grubunun 7.gün ve 28.gün istatistikleri.	82
Tablo 11	:TZP grubununikili grup karşılaştırması.	83
Tablo 12	:EMD grubunun negatif kontrol grubu ile karşılaştırılması.	83
Tablo 13	:MTA grubunun 7.ve 28.gün istatistikleri.	86
Tablo 14	: MTA grubununikili karşılaştırması.	86
Tablo 15	: KH grubunun 7. ve 28.gün istatistikleri.	88
Tablo 16	: KH grubunun ikilikarşılaştırması.	89
Tablo 17	:Gruplara göre odontoblast sayısı dağılımı.	94
Tablo 18	:Odontoblast benzeri hücre sayısının farklılaşma analizi.	95

1. GİRİŞ

Diş hekimliğinde endodontik tedaviler vital tedaviler ve vital olmayan tedaviler şeklinde iki başlık altında incelenebilir. Vital endodontik tedavilerin başarısında pulpa hücrelerinin onarım mekanizmalarının rolü büyüktür. Odontoblastlar, dentinin düzenli olarak yapımından ve onarımından sorumlu hücrelerdir (Murray et al., 2000a). Pulpada bulunan fonksiyonel hücrelerin, özellikle de odontoblastların sayılarının, çürük, atrizyon, abrazyon, erozyon, doku hasarı ve travma gibi etkenler varlığında, pulpa ve dentinin yapısal onarım cevabını oluşturmada önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir (Murray et al., 2000b, About et al., 2001).

Dentin yaralanmalarında, zarar görmüş dentinin onarılması ve yaralanmaya neden olan uyarın ile pulpa arasındaki dentin bariyerinin arttırılması, bölgede tersiyer dentini oluşturacak odontoblast hücre tabakasının canlılığına bağlıdır (Linde and Lundgren 1995, Smith et al., 1995).

Direkt pulpa kaplaması (DPK), dentinojenik yeteneğini kaybetmemiş ve enfekte olmamış pulpanın travmayla veya kavite preperasyonu sırasında perfor edilmesi veya yaralanması halinde doku dostu bir kimyasal maddeyle örtülerek canlılığını korumasını sağlamak amacıyla yapılan tedavidir (Alaçam 2000). DPK tedavilerinde, sonuçların önceden tahmin edilebilmesi ve dişin normal fizyolojik durumunun korunabilmesi için biyolojik olarak uyumlu yeni materyallerin geliştirilmesi, diş hekimliği uygulamalarında *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların güncel ve popüler konu başlığı haline gelmiştir.

Vital pulpa tedavilerinde hasar görmüş diş dokularının geleneksel yöntemler ile uzaklaştırılmasının ardından, kalan sağlam dentin ve pulpa dokusunun biyolojik olarak uyumlu rejeneratif bir ajanla kapatılması sonucu tersiyer dentin oluşumunun uyarılması amaçlanmaktadır. Çeyrek yüzyılı aşkın süredir odontoblast biyolojisi, dentinogenezis, pulpa biyolojisi ile tersiyer ve tamir dentini oluşumu geniş ölçüde incelenmiştir (Lesot et al., 1993, Linde and Goldberg 1993, Ruch et al., 1995, Smith and Lesot 2001). Tıpkı diğer yumuşak dokularda meydana gelen yaralanmalarda olduğu gibi pulpal yaralanmalarda da ortamda bulunan büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin, kaybolan hücrelerin yenilenmesi için hücre bölünmesini uyaracağı ve dentin ekstrasellüler matriksinde bulunan hücrelerden büyüme faktörleri ve iyileşmede

rol alacak proteinlerin üretilmesini sağlayacağı bildirilmiştir (Hu et al., 1998). Bununla birlikte büyüme faktörlerinin tamir dentin oluşumununuyarılması amacıyla yüzeysel uygulanmalarında, morfojenin yarılanma ömrünün sınırlı olması ve uygun bir taşıyıcı gereksinimi ile birlikte oldukça yüksek yoğunluklara ihtiyaç duyulması hem maliyeti arttıran hem de etkinliğini zorlaştıran durumlardır. Diğer birolumsuz durum da, ideal bir pulpa kaplama ajanında aranan anti-inflamatuar ve hemostatik özelliklerin büyüme faktörlerinin tek başlarına kullanılmalarıyla elde edilememesidir. Bu olumsuzluklar dışında terapötik yaklaşımlarda büyüme faktörlerinin kullanımı, vücudun fizyolojik süreçleriniindüklemeye çalışan vazgeçilmez düzenleyici ve uyarıcılar olarak karşımıza çıkmaktadır.

Yüksek yoğunlukta trombosit içeren otolog kan kitlesi olarak tanımlanan trombositten zengin plazmanın (TZP) terapötik anlamda kullanımında temel amacın, trombosit sayısının uygulama alanındaki artışı sağlanarak yara iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunda, bu trombositlerden salınan büyüme faktörlerinin olumlu katkılarından yararlanmak olduğu bildirilmektedir (Gentry 1992). Hemostaz ve enflamasyona ilave olarak trombositlerin aynı zamanda yara iyileşmesi ve mineralize dokuların rejenerasyonunda yer aldıkları bilinmektedir. Trombositler yaralanma alanında aktive olduklarında hücresele kemotaksisi, proliferasyonu ve farklılaşmasını tetikleyen büyüme faktörlerini salgılamaktadırlar.TZP'nin mitojenik etkiye sahip olduğubirçok çalışmada; fibroblastlar, osteoblastlar ve mezenşimal hücreler gibi hücreler üzerinde gösterilmiştir (Liu et al., 2002, Gruber et al., 2004).

Amelogenin, mine dokusunun temel proteini olup, embriyolojik dönemde, amelogenezis esnasında, salgılanan mine matriks proteinlerinin %90'ına yakını bu proteini oluşturmaktadır (Fincham et al., 1999). Ayrıca amelogenin proteininin odontoblastların son farklılaşma aşamasında ve dentinogenezis esnasında etkili olduğu (Papagerakis et al., 2003), odontoblastların amelogenin proteinini aktif olarak sentezlediği ve salgıladığı bildirilmiştir (Ye et al., 2006). Mine Matriks Türevi (EMD), ticari sekli ile Emdogain® jel (Biora AB, Malmö, İsveç), ileri periodontitis vakalarında periodontal ligamentin rejenerasyonu ve sement oluşumu için gerekli olan mezenşim hücre farklılaşmasını uyarmak için kullanılmaktadır (Pontoriero et al., 1999, Heijl et al., 2004). Mine matriks makro moleküllerinin, normal odontogenezi taklit eden işlemleri kontrol eden ve yönlendiren karşılıklı ekto-mezenşim kaynaklı

sinyallere ve hücre-matriks etkileşimlerine katıldıkları düşünülmektedir (Hammarström 1997, Hammarström et al., 1997, Lyngstadaas et al., 2001, Hoang et al., 2002).

Çalışmamızın hipotezi, otolog büyüme faktörleri ve mine matriks türevi ile yapılan direkt pulpa kaplamaları sonrasında pulpal iyileşme gözlenebileceğidir.

Bu tez çalışmamızın amacı, rat kesici dişlerindeki kalsiyum hidroksit (KH), Mineral Trioksit Agregat (MTA), trombosit zengin plazma (TZP) ile mine matriks türevinin (EMD), direkt pulpa kaplama tedavisi üzerindeki etkilerinin, stereolojik tekniklerin yardımıyla histolojik-histomorfometrik olarak karşılaştırılarak incelenmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Pulpo-Dentinal Kompleks

Dentin ve pulpa dokularının embriyolojik kökenleri, anatomik, biyolojik ve kimyasal yapıları yönünden farklılık göstermelerine rağmen fizyolojik ve patolojik durumlar karşısında oldukça hassas bir denge içerisinde, tek bir doku gibi hareket ederler. Sert ve yumuşak dokuların bu uyumu ve etkileşimi içindeki pulpa ve dentin dokuları, pulpo-dentinal kompleks olarak da isimlendirilmektedir (Hargeravas and Goodis 2002).

2.1.1. Diş Pulpası

Diş pulpası bir bağ dokusudur ve diğer bağ dokulardan farklı olarak çevresi mineralize dentin dokusu içerisinde hapsedilmiştir. Diğer bağ dokularına benzemesine rağmen, sert doku ile sınırlanmış olması, diş pulpasına diğer bağ dokularından farklı özellikler kazandırmıştır. Pulpa dokusu, dentin dokusundan yapısal olarak oldukça farklıdır.

Pulpa, içerik olarak %25'i organik yapı ve %75'i ise sudan oluşan özelleşmiş bir bağ dokusudur (Nicholson 1996). Pulpa dokusunda diğer bağ dokularına benzer olarak kan ve lenf damarları, sinir lifleri, kollajen lifler ve hücrelerin içerisinde bulunduğu bir ana madde mevcuttur (Nicholson 1996). Ana maddenin %90'ı sudan, %10'u ise glikoproteinler, mukopolisakkaridler ve diğer proteinlerden oluşur (Alaçam 2000). Pulpaya etki eden olaylarda, kollajen fibrillerle desteklenmiş olan bu ana madde etkili olup, bir iletişim aracı rolü üstlenir(Alaçam 2000).

2.1.1.1. Pulpanın Tabakaları

Pulpa, genel olarak dört farklı tabakada incelenir (Trowbridge et al., 2002, Mejare 2003)

Santral Tabaka: Pulpa dokusunun en iç tabakasıdır. Kan ve lenf damarları ile sinirler bulunur. Bu tabakada bağ dokusu hücreleri de mevcuttur (Trowbridge et al., 2002).

Hücreden Zengin Tabaka: Farklılaşmamış mezenşimal hücreler ve fibroblastların yoğunlukta olduğu bu tabaka, makrofajlar ve lenfositler de yer almaktadır. Kron pulpasında, kök pulpasına oranla daha belirgindir. Genel olarak bu tabaka yıkıma uğramış odontoblast hücrelerinin yerlerine yenilerinin yapımından sorumludur (Fitzgerald et al., 1990, Alaçam 2000).

Hücreden Fakir Tabaka: "Weil tabakası" veya "subodontoblastik tabaka" olarak da adlandırılan hücreden fakir tabaka, hücreden zengin tabakanın etrafında yer alır. Özellikle dentin oluşumunun hızla devam ettiği genç pulpalarda ve reparatif dentin yapımının olduğu bölgelerde çoğu zaman görülmeyebilir. Bu tabakada kapiller kan damarları ve miyelinsiz sinir lifleri yaygın olarak bulunur (Trowbridge et al., 2002).

Odontoblastik Tabaka: Bu tabaka pulpanın dış çevresinde, preentinin hemen altında silindirik odontoblast hücre gövdelerinin yan yana dizilmesi ile meydana gelmektedir. Histolojik olarak bakıldığında 3-5 hücre kalınlığında oldukça ince bir tabaka görünümü vermektedir (Mjör 2002).

Odontoblast hücreleri dişlerin koroner bölgesinde, özellikle de pulpa boynuzlarında yoğunlaşmıştır ki bu nedenle buradaki görünümü çok tabakalıdır. Koroner pulpadaki odontoblast tabakası, kök pulpasından daha yoğundur. Odontoblast hücreleri birbirlerine birleştirici yapılar ile bağlıdır ve aralarında 300-400 Angstrom(Å) hücreler arası boşluklar vardır (Cohen and Burns 2002).

Hücreden fakir tabakadan gelen miyelinsiz sinir liflerin % 10-20'si odontoblast uzantıları ile birlikte dentin kanalları içerisine uzanmaktadır (Trowbridge et al., 2002). Odontoblastik tabakada, odontoblast hücrelerinin gövdesi, üzerlerinde sonlanmış sinirler ve kapillerle birlikte görülmektedir (Cohen and Burns 2002, Hargreaves and Goodis 2002, Mjör 2002).

2.1.1.2. Pulpanın Histolojik Yapısı

2.1.1.2.1. Odontoblast Hücresi

Pulpada odontoblastlar farklılaşma sonucunda bölünme yeteneklerini kaybetmiş özel hücrelerdir. Görevleri dentin matriksi yapımıdır ve morfolojik yapıları dişin çeşitli kısımlarında değişiklik göstermektedir. Koronal pulpada yüksek silindirik olan odontoblastlar, kök pulpasının orta kısmında silindirik ve kökün uç kısmındaki pulpada ise kısa, kübik şekilde bir görüntü sergilerler. Pulpanın periodontal ligamente yaklaştığı en uç kısmında ise düzleşerek fibroblastlara benzer bir görünüm kazanırlar. Histolojik doku kesitlerinde odontoblastların görünüşü fiksasyon yapılan kısma, boyamaya ve kesit düzlemine göre değişir. Çoğu kez yalnız hücre çekirdeği görülebilir (Bayırlı 1999, Cox et al., 2002, Mjör 2002).

Odontoblast uzantısı, hücre gövdesinden düz bir şekilde uzanır ve dentin kanalları içine girerler. Çapları, pulpa-predentin sınırında 3-4 µm'dir. Uzantıların yan dalları sayesinde diğer odontoblastların dallarıyla temas sağlayabilirler. Hücre gövdesinin aksine uzantılar, ana organellerden yoksundur. Genellikle predentin seviyesinde olmak üzere, endoplazmik retiküluma, mitokondriye ve ribozom benzeri granüllere zaman zaman rastlanabilir. Bu organellerden yoksunluğun aksine uzantılar, uzun ekseni boyunca paralel dizilmiş mikro liflerle ve mikro kanallarla dolu olan iyi gelişmiş bir hücre iskeleti yapısındadır (Garant 1972, Holland 1976, Frank and Steuer 1988).

Birbirine temas halindeki odontoblastlar arasında birçok tipte hücre bağlantıları görülebilir. Odontoblastların yan yüzeyleri boyunca, sıklıkla dezmozom benzeri bağlantılar görülür (Takuma and Nagai 1972, Sasaki et al., 1982, Calle 1985). Bu temaslar hücreler arası adezyonu arttırabilir ve odontoblastların polarizasyonunda önemli rol oynayabilir. Aynı zamanda odontoblastların yan yüzeyleri arasında oluk şeklinde bağlantılar da tanımlanmıştır (Sasaki et al., 1982, Calle 1985). Bu tipteki bağlantılar, iyonların ve düşük molekül ağırlığındaki suda çözünebilen metabolitlerin hücre içine geçişini sağlayarak, odontoblastların hücre farklılaşmalarının kontrolünde ve dentin mineralizasyonunda önemli rol oynar ve hücre içi yanıtların koordinasyonuna yardım ederler.

Pulpadaki mevcut olan odontoblastlar (primer odontoblastlar) ve yeni oluşan odontoblastlar (sekonder odontoblastlar veya odontoblast benzeri hücreler), mineralize dentin dokusunu meydana getirebilirler (Arana-Chavez and Massa 2004).

Dental işlemler esnasında, odontoblast tabaka etkilenebilmektedir. Derin olmayan kaviteler, odontoblastlar arasındaki bağlantıların bozulmasına, derin kaviteler ise odontoblast hücre uzantılarının dentin kanallarından pulpaya doğru çekilmesine ve sitoplazmik yapının çökmesisonucunda hücre ölümüne (lisis) neden olmaktadır (Smith et al., 1995).

Dokuda meydana gelen yaralanmanın şiddetine, büyüklüğüne ve süresine bağlı olarak primer odontoblastlar geri dönüşümlü(reversible) olarak zarar görebilir veya tamamen ölebilirler. Sonraki durumda ölü hücreler yeni dentin matriksi oluşturmak için odontoblast benzeri hücreler ile yer değiştirir(Smith et al., 1995).

Pulpa hücrelerinin odontoblast benzeri hücelere farklılaşması olayının bütün mekanizması tam olarak aydınlatılamamasına rağmen, hücre çoğalması, kemotaksis, hücre göçü(migrasyon), hücre adhezyonu ve sitodiferansiyasyon gibi sayısız olayları tetikleyen büyüme faktörleri (Growth Factors: GF)ile yeni hücreler oluşabilmektedir(Smith et al., 1995).

Pulpada geri dönüşsüz iltihabi bir durumun olmaması ve yeterli oksijen miktarının bulunması gibi etkenlerin, sekonder odontoblastların sitodiferansiyasyonunu başlattığı görülmektedir(Tziafas 1995). Yeni oluşan odontoblast benzeri hücrelerin aktivasyonu ile yara bölgesinin dentin duvarında yeni dentin meydana gelir. Yaralanmaya cevap olarak oluşturulan bu dentin tersiyer dentin olarak adlandırılır (Tziafas 1995). Primer odontoblastik hücre morfolojisinden farklı olarak odontoblast benzeri hücreler, silindirik yapıları daha az belirgin olup birbirlerine primer odontoblastlar kadar yakın bir dizelenme göstermezler (Fitzgerald et al.1990, Hargreaves and Goodis 2002).

2.1.1.2.2. Odontoblast Benzeri Hücreler

Herhangi bir nedenle pulpa ağız ortamına açıldığında ilgili bölgeye ait primer odontoblast hücreleri de hasara uğrar ya da ölürlür. Yüksek derecede farklılaşmış olan

komşu odontoblast hücrelerinin çoğalma özelliği olmadığından, bu primer hücrelerin yeni nesil odontoblast benzeri hücreler tarafından telafi edilmesi gerekmektedir (Tziafas et al., 2000).

Odontoblast benzeri hücrelerin; immün sisteme bağlı hücrelerden, perivasküler hücrelerden, farklılaşmamış mezenşim hücrelerden, subodontoblastik tabakadaki hücrelerden veya pulpa fibroblastlarından farklılaştığı düşünülmektedir (Goldberg and Smith 2004).

Odontoblast tabakasına komşu, hücreden zengin tabakadaki (Höhl tabakasında) bulunan farklılaşmamış mezenşim hücrelerinin, odontoblast benzeri hücrelere farklılaşabilen en uygun rezerv hücre grubu olarak görülmektedir (Hargreaves and Goodis 2002).

2.1.1.2.3. Fibroblastlar

Diş pulpasındaki hücreler arasında en çok bulunan hücreler fibroblastlardır. Fibroblastlar pulpanın kollajen liflerinin üretiminden sorumludurlar. Aynı zamanda kollajeni çözdüklerinden kollajenin yaşam döngüsünden sorumludurlar. Pulpada en çok hücreden zengin tabakasında bulunurlar (Cox et al., 2002, Mjör 2002).

Işık mikroskopunda Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyalı rutin preparatlarda fibroblast hücrelerinin gövdesi görülmemektedir, sadece eliptik şekilli hücre çekirdeği görülür. Çekirdeğin uzunluğu 10-12 mikrondur (μ) (Bayırlı 1999).

Fibroblastlar ekstrasellüler matriks bileşenlerinin azaltılmasından sorumlu olduklarından, bağ dokuların reorganizasyonu için gereklidirler. Kollajen liflerini fagosite ederler ve lizozomal enzimleriyle hücre içinde sindirirler. Bu fibroblast hücreleri, kollajenler ve proteoglikanlar gibi matriks makro moleküllerinin miktarını azaltırlar. Aynı zamanda matriks proteinazları olarak adlandırılan bir grup çinko enziminin de kaynağını oluşturmaktadırlar (Tziafas 1995).

in situ hücre kültürü çalışmalarında pulpa fibroblastlarından matriks metalloproteinaz oluşumunun, iltihabi sitokinlerle, bakteriyel elemanlarla ve fosfolipidlerle stimülasyonu sonrasında artış gösterdiği ortaya konulmuştur (Panagakos et al., 1996, Sawa et al., 2003, Gruber et al., 2004). Bu bulgular,

fibroblastların, pulpa iltihabı sırasında stimüle olarak pulpa bağ dokusu miktarının azalmasında ve pulpa onarım mekanizmasında rol oynadığı fikrini desteklemektedir.

2.1.1.2.4. Savunma Hücreleri

Canlı diş pulpasındaki hücrelerin bazıları savunma hücreleridir. Histiyositler kapiller yakınında bulunurlar; uzun, silindirik şekilli hücrelerdir, dışarıya uzantılar verirler ve gerektiğindemakrofajlara farklılaşabilirler (Bayırlı 1999, Mjör 2002).

2.1.1.2.5.Farklılaşmamış Mezenşim Hücreleri

Pulpadaki hücreden zengin tabakanın çoğunu, diğer bağ dokularında da olduğu gibi farklılaşmamış mezenşim hücreleri oluşturmaktadır. Bunlar farklılaşma potansiyeline sahip hücrelerdir. Bu farklılaşmamış mezenşimal hücreler; fibroblastlara, odontoblastlara ya da osteoklastlara(odontoklastlara) dönüşebilirler (Bayırlı 1999, Cox 2002).

2.1.1.2.6. Diğer Hücreler

Sağlıklı kuron pulpasında lenfositlerin ve plazma hücrelerinin büyük bir çoğunluğu Weil tabakasında görülmektedirler. Pulpanın doku lenfositleri kan dolaşımından yara kenarlarına doğru göç ederler. Sitoplazmaları ince uzantılar verir. Koyu çekirdek, hücrenin hemen hemen tamamını doldurur (Bayırlı 1999, Mjör 2002).

Pulpa bağ dokusunun makrofajları, kapiller dışına çıkmış monositlerdir. Bu hücreler çoğunlukla sağlıklı pulpada bulunurlar. Lenfositler, plazma hücreleri ve eozinofiller yaralanan pulpabağ dokusunda bulunmaktadırlar (Bayırlı 1999).

2.1.2. Dentin Dokusu

Dentin, kütle olarak % 70'i inorganik, %20'si organik maddeden oluşan dentinin % 10'unu ise su oluşturmaktadır (Avery 1992, Jansen van Rensburg 1995).

Dentinin inorganik yapısını, genellikle kalsiyum hidroksiapatit kristalleri ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$) meydana getirir. Mineye oranla inorganik içeriği daha az ve hidroksiapatit kristallerinin boyutları daha küçük olan dentin dokusu, bu nedenlerden dolayı mineye göre sertliği daha düşüktür (Sturdevant et al., 2002). Dentinin mikrosertliği 68 KHN (Knoop sertlik değeri) ve elastisite modülü 13-17 Gigapascal (GPa)'dır (Sano et al., 1994, Hall et al., 2000). Dentin yapısındaki hidroksiapatit kristallerinin uzunlukları 200-1000 Å, genişlikleri ise 30 Å kadardır (Sturdevant et al., 2002). Sement ve kemikteki hidroksiapatit kristallerinin boyutları ile benzerlik göstermesine rağmen inorganik yapı oranının farklılığından dolayı dentin, bu dokulardan daha serttir (Avery 1992, Sturdevant et al., 2002).

Dentinin organik yapısının %93'ünü kollajen liflerden oluşturmaktadır. Kollajen yapının büyük kısmı Tip I kollajen olmakla birlikte az miktarda Tip V kollajen de mevcuttur (Avery 1992, D'Souza 2002). Organik dentin yapısının diğer bileşenleri ise fosfoproteinler (Jansen van Rensburg 1995, Trowbridge et al., 2002), glikozaminoglikan (Okiji 2002), proteoglikanlar (Linde and Goldberg 1993, Okiji 2002), asidik glikoproteinler (Linde and Goldberg 1993, Okiji 2002), büyüme faktörleri (Linde and Goldberg 1993) ve yağlardır (Linde and Goldberg 1993, Jansen van Rensburg 1995, Trowbridge et al., 2002).

Diş yüzeyinden pulpal yüzeye doğru farklı seviyelerde dentinin organik ve inorganik yapılarının oranları değişkenlik gösterir. Derin dentin dokularında tübül sayısı ve yoğunluğu arttığından, yüzeysel dentine göre daha fazla su içerirken, mineralize doku oranları düşüktür. Aynı şekilde derin dentinde tübül çapının artması, intertübüler dentin kalınlığının azalmasına ve kollajen miktarının yüzeysel dentine oranla daha az görülmesine neden olur (Marshall et al., 1997).

Dentin, pulpa dokusunun en dış tabakasında yan yana dizilenmiş olan odontoblast hücrelerinin sentezlediği kollajen ağ üzerine hidroksiapatit kristallerinin birikmesi sonucunda oluşur (Nicholson 1996). Odontoblast hücre çekirdekleri, hücrelerin mineralizasyonu ile pulpa dokusuna doğru yer değiştirir ve insan dişinde

günde ortalama 4µm hız ile primer dentin yapımı gerçekleşir (Kawasaki et al., 1980, Avery 1992, Jansen van Rensburg 1995, Mjör and Nordal 1996). Böylece dentin, her yönde birbirleri ile bağlantılı durumdaki mikroskobik dentin kanalları oluşur (Avery 1992, Jansen van Rensburg 1995, Nicholson 1996).

Dentin kanalları içerisinde bulunan dentinlenfi, pulpa içerisindeki kapiller damarlardan kaynaklanan, kalsiyum ve fosfat iyonlarıyla doymuş bir plazma sıvısıdır (Cuicchi 1995, Camps et al., 2000). Bu sıvı, dişin dış yüzeyine doğru ortalama 14 cm H₂O (10,3 mm Hg) basınçla hareket eder (Cuicchi 1995, Camps et al., 2000).

Sağlıklı dentin, “intertübüler dentin” ve “peritübüler dentin” olmak üzere iki farklı yapısal kısımda incelenebilir (Nicholson 1996). Organik yapıyı oluşturan kollajen ağ üzerine çökelmiş olan hidroksiapatit kristallerinin oluşturduğu dentin, “intertübüler dentin” olarak adlandırılır. intertübüler dentin tüm dentin dokusunun esas kütleini oluşturur (Pashley et al., 1978, Pashley 2002).

Dentin, dişlerin dış etkenlere maruz kalması sonucunda oluşan hipermineralize bir dokudur (Mjör 2002). Tübüllerin içerisinde ise kollajenden fakir, hipermineralize, bir halka gibi tübülün kendisini saran çok farklı bir dentin bulunmaktadır ve “peritübüler dentin” olarak adlandırılır (Nicholson 1996, Perdigao and Lopes 1999) ve intertübüler denetinden yaklaşık 5 kat daha serttir (Pashley 2002).

2.1.2.1. Dentin Dokusu Fonksiyonu

Dentin dokusu, oluşumu ve özelliklerinden dolayı dörde ayrılarak incelenebilir: Primer, sekonder, tersiyer ve tamir dentini.

2.1.2.1.1. Primer Dentin

Primer dentin diş germinin oluşumundan itibaren, dişin sürmesine kadar yapılan tübüler dentindir. Mantle (manto) dentin olarak adlandırılmaktadır ve çevresindeki dentine göre yaklaşık olarak %4 daha az mineralizedir (Hargreaves and Goodis 2002).

Yeni farklılaşmış olan odontoblast hücreleri tarafından salgılanan ilk dentindir ve yaklaşık olarak 150 µm kalınlığında olup, 1-2 µm çapında dentin tübüllerinden meydana gelmektedir(Herr et al., 1986).

2.1.2.1.2. Sekonder Dentin

Dişin apeksogenezisin tamamlanmasıyla, fizyolojik sekonder dentinogenezis başlamaktadır ve daha düşük bir hız ile pulpa canlılığını devam ettirdiği sürece ömür boyu devam etmektedir. Sekonder dentinogenezisteki hızın azalması, odontoblastların sentezleme ve salgılama kapasitesinde ve odontoblast hücrelerinin morfolojik yapısında değişiklikler göstermesi ile sonuçlanır. Hücre gövdesi kısalmış, hücrenin sentezleme ve salgılama organelleri de sayıca azalmıştır (Linde and Goldberg 2000).

2.1.2.1.3. Tersiyer Dentin

Tersiyer dentin, Primer ve Sekonder dentinde görülen tübüler bir yapıya benzeyen, bazen de tübüler olmayan bir yapıya kadar uzanan tüm dokugörünümlerini kapsayabilmektedir. Tersiyer dentin, dış etkenin şiddetine ve ona karşı gelişen biyolojik olaylara bağlı olarak, kendi içinde tepkisel ve tamir dentini olarak iki alt sınıfta değerlendirilmektedir (Hargreaves and Goodis 2002).

Tamir dentini, sağlıklı pulpa dokusunun bulunduğu; çürük, atrizyon, abrazyon, erozyon, dental tedaviler ve diş yüzeyine uygulanan materyaller gibi etkenlere yanıt olarak, sert doku şekillenmesi ile görülen ve etkenin o bölgeyle, sınırlı olduğu durumda tersiyer dentin matris oluşumu görülmektedir(Tziafas et al., 2000).

Hafif yaralanmalarda, odontoblastlar zarar görmediğinden, bunlar uyarılarak yaralanma bölgesine komşu bölgede lokalize tersiyer dentin salgırlar ve dentin tübül yapısında bir devamlılık söz konusudur (Tziafas et al., 2000).

2.1.2.1.4. Tamir Dentini

Şiddetli yaralanmalarda, yaralanma bölgesinin altındaki primer odontoblastlar hasara uğrayabilmektedir. Böyle bir durumda, pulpa için canlılığını koruyabileceği uygun bir ortam söz konusu ise, içindeki rezerv hücrelerden yeni nesil odontoblast benzeri hücreler oluşabilmektedir ve tamir dentinini salgılamaktadır (Mjör 2002).

Dental bir travmaya bağlı olarak, primer odontoblastlar geri dönüşümsüz olarak zedelendiğinde, odontoblast benzeri hücreler, tamir dentinin sentezinden ve salgılanmasından sorumludur. Bu tip sert doku üretiminin amacı pulpa dokusunu dış etkenlerden koruyabilecek sert bir doku bariyerinin oluşturulmasıdır (Hargreaves and Goodis 2002, Mjör 2002).

Yaralanma şiddetinin artışına bağlı olarak, tamir dentinogenezisi, tersiyer dentin oluşumundan daha karmaşık biyolojik aşamaları içermektedir. Oluşacak olan yeni dokunun kalınlığı ve miktarı, yaralanmanın doğasına ve büyüklüğüne, ayrıca yaralanan pulpanın yapısına bağlıdır. Burada odontoblast benzeri hücrelerin gelişebilmesi için, önce hücrel bir göçün ve hücre farklılaşmasının gerçekleşmesi, sonra da matriksin salgılanabilmesi için özelleşmenin olması gerekmektedir (Tziafas et al., 2000).

Pulpa dokusunda, yaralanma bölgesine komşu alandan kaynak alan bu hücreler, odontoblast benzeri hücrelere dönüşmektedir. Odontoblast benzeri hücreler, “Osteodentin” adı verilen ve kemik dokusuna benzeyen bir mineralize doku meydana getirmektedir, çünkü hücreler oluşan dokunun içindedir. “Ortodentin” ise, dentin yapımının osteodentinden sonraki aşaması olup, hücre gövdeleri kalsifiye dokunun dışında konumlanmaktadır ve düz tübülleri olan bir dokudur (Ørving 1967).

Ishizeki ve arkadaşları (1989), yaralanma bölgesine aktarılmış primer odontoblastların, tübül dentin oluşturduğunu ve buna karşılık pulpanın merkezinden kaynaklı hücrelerin, osteodentin oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Tamir dentinogenezisinde, rezerv hücrelerin yaralanmış pulpa yüzeyine göç etmesi için uygun kemotaktik ajanlar gereklidir. Cilt yaralanmalarında, dönüştürücü büyüme faktörü beta-1 (TGF- β_1)’in bağ dokusu hücreleri için kemotaktik ajan olduğu bilinmektedir (Hargreaves and Goodis 2002). Pulpal yaralanmalarda da TGF- β_1 , inflamatuvar hücrelerin yara yüzeyine göçünde ve diğer hücrelerin kemotaksisinde

etkilidir. Pulpadaki öncü(prekürsör) hücreleri dahil olmak üzere bütün pulpal hücreler de aynı şekilde TGF- β s ve diğer büyüme faktörlerinden etkilenmektedirler (Schuurs et al., 2000). Fibronektin, pulpa dokusunun glikoproteinlerinden biridir ve dişin gelişimi ile dişin yara iyileşmesinde etkilidir. Fibronektin, TGF- β s bağlamaktadır ve odontoblast benzeri hücrelerin, hücrel ve fonksiyonel farklılaşmalarına neden olduğu düşünülmektedir (Schuurs et al., 2000).TGF- β_1 'in subodontoblastik tabakadaki hücreler için mitojenik olayları etkileyebildiği gösterilmiştir. Subodontoblastik tabakaya olan etkisi TGF- β_1 'in belki de öncü hücrelerin göç etmesi için bir uyarıcı olmakta ve var olan öncü hücre topluluğunun çoğalmasını uyarıcı bir etki görevi üstlenmektedir (Melin et al., 2000).

Tamir dentinogenezisi, önce fibrodentin veya kemik yapısında bir matriks oluşturmaktadır (Tziafas et al., 2000). Fibrodentin, bu aşamada tamir dentinogenezisin başlayabilmesi için mutlak gerekli bir ara matriks tabakasıdır ve oluşmakta olan dokuya mekanik destek sağlar. Fibrodentin yapıdaki bu öncü matriksatübüldür ve az gelişmiş organelleri olan kübik hücrelerden gelişmektedir. Tübüler dentinin oluşması ise, daha polarize hücreler tarafından oluşmaktadır; daha sonra fibrodentinin üzerinde izlenmektedirler (Tziafas 2004).

Tamir dentinin salgılanması esnasında oluşan matriks, bu yapıyı salgılayan odontoblast benzeri hücrelerin morfolojisine ve salgılama davranışlarına bağlı olarak değişik şekillerde görülebilir. Bu matriks çeşitliliği,tübüler bir matriksten, oldukça displastik, atübüler matrikse ve içeriğinde hücrel inklüzyonlar barındıran bir yapıya kadar geniş bir yelpazede gözlenebilir (Hargreaves and Goodis 2002).

2.2. Direkt Pulpa Kaplaması

Pulpaya yakın, dentin çürüklerinde, çürük temizlenmesinden sonra, pulpayı korumak amacıyla kavite tabanına biyoyumlu bir maddenin yerleştirilip üzerine dolgu yerleştirilmesiyle yapılan tedaviye endirekt pulpa kaplaması adı verilmektedir. Direkt pulpa kaplaması(DPK) ise, dentin oluşturma yeteneğini kaybetmemiş olan bir pulpanın, herhangi bir nedenle açıldıktan sonradışin canlılığını koruyabilmek amacıyla

uygulanan, üzerinin dentin oluşumunu tetikleyecek bir madde ile örtülmesini kapsayan bir tedavi yöntemidir (Mjör 2002).

DPK; travma sonucu veya iatrojenik olarak meydana gelen pulpa perforasyonlarında, kök gelişimini tamamlamış veya tamamlamamış dişlere uygulanabilir. Endikasyonları ve kontrendikasyonları aşağıdaki gibi sıralanabilir (Çalışkan 2006);

Endikasyonları

1. Diş vitalite testlerine olumlu yanıt vermelidir.
2. Spontan ağrı olmamalıdır.
3. Dişteki doku harabiyeti vital pulpa tedavisinden sonra restore edilebilecek düzeyde olmalıdır.
4. Perküsyon ve palpasyon uygulamalarında ağrı olmamalıdır.
5. İleri düzeyde periodontal doku kaybı olmamalıdır.
6. Radyografik muayenede, intraradiküler ve periradiküler dokular normal izlenmelidir.
7. Girişim sonucu pulpaya ait kanama 3-5 dakika içinde durmalıdır ve püiçermemelidir.

Kontrendikasyonları

1. Spontan ağrı söz konusu olduğunda,
2. Dişte mobilite gözleendiğinde,
3. Diş vitalite testlerine geç yanıt verdiğinde veya hiç yanıt vermediğinde,
4. Radyografik muayenede periodontal aralığın genişlemiş olduğu, pulpada veya periapikal dokuda yıkımın gözleendiği vakalarda,
5. Perforasyon bölgesindeki kanama kontrol altına alınamayacak kadar çok olduğunda,
6. Perfore olmuş pulpadan seröz veya pürülen eksüda çıktığında vital pulpa tedavisi endike değildir(Çalışkan 2006).

2.2.1. DPK Uygulamasında Başarıyı Etkileyen Faktörler

DPK uygulamasında ve dikkat edilmesi gereken faktörler;

1. Pulpanın kontamine olmaması,
2. Çevresinde çürük dentinin ya da eski restorasyonun bulunmaması,
3. Kanamanın kontrolü,
4. Kaplama materyalinin açılan pulpa yüzeyi ile olan teması,
5. Özel dentinojenik cevabı uyuracak materyalin seçimi,
6. Kavite dezenfeksiyonu,
7. Uygulama yapılan dişin süt ya da daimi diş olması,
8. Dişin ve bireyin yaşı (Tziafas et al., 2000, Mjör 2002).

2.2.1.1. Pulpanın Kontamine Olmaması

DPK materyalinin etkinliğinin incelenmesinde birçok faktörün bulunduğu ancak en önemlisinin bakteriyel sızıntıyı engelleyecek kapama özelliğinin olduğu bildirilmektedir. Bakteriyel sızıntı ile pulpanın kontamine olması, tamir dentin oluşumunu engelleyebilmektedir ve bu durumda pulpa korunamadığı için postoperatif komplikasyonlarla karşılaşılabilir (Cox et al., 2002, Mjör 2002, Murray et al., 2002).

2.2.1.2. Çevresinde Çürük Dentinin ya da Eski Restorasyonun Bulunmaması

DPK' da kullanılan materyallerinin iyileşme döneminde açılan bölgeyi sızdırmaz şekilde kapatmalı ve bir yandan tamir dentini oluştururken öte yandan da pulpayı bakteri sızıntısından korumalıdır. Yapılan DPK esnasında, perforasyon alanına yakın bir bölgede kalan çürük dentin ve eski başarısız bir restorasyon sızıntıya neden olabilecek bu da tedavinin başarısını olumsuz yönde etkileyecektir (Christensen 1998, Mjör 2002).

2.2.1.3. Kanamanın Kontrolü

Pulpa perforasyon sahası küçük, kırmızı veya pembe renkte ve kanama yoksa ya da kanama 2-3 dakika içerisinde kontrol edilebiliyorsa DPK işlemi göz önünde bulundurulabilmektedir. Bu durumda tedavinin başarılı sonuçlar vereceği bildirilmektedir. Bu duruma karşı olarak eksudasyon varlığı veya kanamanın kolayca kontrol altına alınamaması,DPK uygulamasının başarı ihtimalinin çok düşük olacağını düşündürmektedir (Christensen 1998, Stockton 1999, Mjör 2002, Murray 2002).

2.2.1.4.DPKMateryalinin Açılan Pulpa Yüzeyi ile Olan Teması

DPK kullanılacak olan ajanın, uygulama sırasındaki basınç nedeni ile pulpa dokusunun içerisine itilmesinin, derin bölgelerinde iyileşmeyi ve tamir dentini oluşumunu olumsuz yönde etkileyeceği belirtilmiş ve açığa çıkan pulpa yüzeyine DPK materyalinin hafifçe yerleştirilmesini önermişlerdir (Stockton 1999).

2.2.1.5. Özel Dentinojenik Cevabı Uyaracak Materyalin Seçimi

DPK kullanılan materyallerinden tamir dentin köprüsü oluşurken, pulpayı bakteri infiltrasyonundan, sızdırmaz şekilde örtüleyerek korumalıdır.Kullanılan DPK materyalinin tamir dentin köprüsünün oluşumunu uyarıp uyarmadığını inceleyen birçok çalışma yapılmıştır. Kalsiyum hidroksit, Mineral Trioksit Agregat ve büyüme faktörleri dışındaki DPK materyallerin bunu gerçekleştiremediği bildirilmiştir (Heitmann and Unterbrink 1995, Cox et al., 2002).

2.2.1.6. Kavite Dezenfeksiyonu

DPK başarısı, tamir dentininin oluşumu ile pulpanın kendisini bakteriyel iritasyondan korunması ve bu sayede canlılığını devam ettirmesine bağlıdır. Başarı şansını yükseltmek için kavitenin dezenfeksiyonu sağlanmalı ve bakterilerin pulpaya

ulaşma riski en aza indirilmelidir. Bu nedenle glutraldehit içerikli materyallerin üstün bakterisidal etkilerinden dolayı tercih edilmeleri gerektiği ileri sürülmektedir (Heitmann and Unterbrink 1995, Niinuma 1999, Cox et al., 2002).

2.2.1.7. Uygulama Yapılan Dişin Süt ya da Daimi Diş Olması

Süt dişi pulpasındaki farklılaşmamış mezenşim hücrelerinin rğe ve DPK materyaline karşı yanıt olarak, odontoklastik hücelere dönüşmeleri sonucunda, i kkrezorpsiyonu, kronik pulpa enflamasyonu veya nekroz meydana gelebilmektedir. Bu nedenlerle stdişlerinde DPK yöntemi önerilmemektedir(Kopel 1992, Cam 1994).

2.2.1.8. Dişin ve Bireyin Yaşı

DPK' da bireyin yaşının tedavinin başarisında önemli bir faktör olduğunu, iyileşmenin genbireylerde, yaşlı insanlara oranla daha iyi olduğu bildirilmiştir (Murray 2000).

2.2.2. DPKajamı Olarak Kullanılan Maddeler

DPKajamı olarak kullanılacak maddelerinin sadece birkaç tanesi uygun madde özelliklerini kapsamaya yaklaşmaktadır. DPK tedavilerinde kullanılan maddenin özellikleri, elde edilecek tedavi sonuçlarını etkilemektedir. Bu nedenle kullanılacak olan maddelerde bazı özellikler aranmaktadır, bunlar;

1. Açılan pulpa dokusunu rtmeli ve tamir dentin yapımını uyarmalıdır.
2. Biyoyumlu olmalıdır.
3. Antibakteriyel etkinliği olmalıdır.
4. Bakteriyel sızıntıyı önleyecek nitelikte olmalıdır.
5. Pulpayı fiziksel ve termal etkenlerden korumalıdır.

6. Alkalemi reaksiyona göstermelidir.
7. Çürük asitlerini nötrale etmelidir.
8. Sedatif olmalıdır.
9. Hazırlanması ve kullanımı kolay olmalıdır(Çalışkan 2006).

DPK için deneysel ve tedavi amaçlı kullanılmış ajanlar;

- 1) Kalsiyum hidroksit
- 2) Adeziv sistemler
- 3) Büyüme Faktörleri
 - i) Dönüştürücü büyüme faktörü beta 1 (TGF- β 1)
 - ii) Osteojenik proteinler (OP)
 - iii) Kemik morfojenik proteinler (BMP)
 - iv) Epidermal büyüme faktör (EGF)
 - v) Bazal Fibroblast Büyüme Faktör (bFGF)
 - vi) Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör BB (PDGF-BB)
 - vii) İnsülin benzeri Büyüme Faktör II (IGF-II)
- 4) Hidroksiapatit (OH-AP)
- 5) Tetra Kalsiyum Fosfat (TCF)
- 6) Mineral Trioksit Agregat (MTA) olarak sıralanabilmektedir(Çalışkan 2006).

2.3. Kalsiyum Hidroksit

1930'lerden bu güne kadardirekt pulpa kaplaması uygulamalarında büyük bir çoğunlukla kalsiyum hidroksit içerikli patlar ilk tercih edilen ajanlar olmuştur (Fava 'deki doymuş pH'sı yaklaşık 12.4 olup, 11.5 ile 12.4 arasında değişen pH formlarına da rastlamak mümkündür (Alaçam 2000).

KH'in genel yararlarını sıralayacak olursak: antiinflamatuvar etkisi ile hastayı postoperatif hassasiyetten korumak, tersiyer ve tamir dentin oluşumunu uyarmak, dentin tübüllerinde skleroza neden olmak, antimikrobiyel tabaka oluşturarak ve odontoblast benzeri hücreleri uyararak dentin köprüsü oluşumunu sağlamaktır (Çalışkan 2006).

Tersiyer dentin yapımını stimule etmek amacıyla KH,DPK endikasyonu var olan ve açığa çıkmış pulpa üzerine uygulanır (Levine et al., 1988). Mekanizması tam olarak açıklanamamasına rağmen, KH'in pulpa dokusu üzerinde alkalen pH'sından kaynaklanan bir kostik etki yarattığı ve bu kostik etki sonucunda oluşan kazeifikasyon nekrozunun dentin köprüsü yapımı için uyarıcı bir etki gösterdiği ileri sürülmektedir (Foreman and Barnes 1990, Heide 1991, Snuggs et al., 1993, Siqueira and Lopes 1999, Alaçam 2000a). KH, dentin matriks içeriğinden hücre bölünmesinden ve farklılaşmasından sorumlu büyüme faktörlerinden TGF- β_1 çözebilecek niteliktedir ve dolayısıyla hücresel aktivitelerde önemlidir (Smith and Smith 1998, Graham et al., 2006). Yapılan çalışmalarda KH'in, fibroblastlarda farklılaşmaya neden olduğu *in vitro* olarak gösterilmiştir (Hanks 1983, Torneck et al., 1983) ve maymun pulpasının fibroblast ve endotelial hücrelerinde DNA sentezini arttırdığı bildirilmiştir (Fitzgerald 1979).

Dentin köprüsünün oluşumu konusunda birçok farklı görüş söz konusudur. KH'e bağlı olan doku değişiklikleri, başlangıçta hidroksil iyonu konsantrasyonuna bağlıdır. Hidroksil iyonları, enflamasyonun gözlemlendiği alanlarda ortamdaki pH'ı değiştirerek hücrelerin bölünmesi ve matriksin kalsifikasyonu için ortamı uygun hale getirir (Çalışkan 2006). KH pulpada, dentin köprüsü oluşumunu uyardığı ancak mineralizasyon sırasındaki kalsiyum iyonlarının KH'den değil, dolaşım yolu ile tamir bölgesine geldiği ileri sürülmüştür (Alaçam 2000). Böylece KH'in mineralizasyon için bir kaynak oluşturmadığı, daha çok bu oluşumu stimule eden bir ekzajenöz aracı madde olduğu bildirilmektedir (Heide 1991, Alaçam 2000).

KH, antimikrobiyal aktivitesini hem yüksek alkalen özelliği, hem de reaktif bir serbest radikal olan hidroksil iyonunun salgılanmasını takiben çeşitli biyomoleküller ile reaksiyona girmesi ile göstermektedir (Fava and Saunders 1999). KH'den ayrılan hidroksil iyonları, bakteri hücrelerinin sitoplazmik membranlarına zarar vererek protein denatürasyonuna ve DNA hasarına neden olurlar (Siqueira and Lopes 1999).

KH'in bir özelliği de, canlı ve ölü dokuları farklı şekillerde etkilemesidir. Ölü dokuların karbondioksit(CO₂) miktarı sabittir ve KH teması sonrasında, bu dokuları CO₂ ve amonyağa parçalamaktadır. Buna karşın canlı dokuda CO₂ çeşitli yollardan temin edilmektedir. KH'in CO₂'e olan ilgisinin, canlı dokudan olabildiğince CO₂ ile bağlanmasına ve CaCO₃ oluşturmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda sınırlı bir

nekrobiyotik alan oluşmaktadır. Bu kimyasal yaralanmada hidroksil iyonları plazma proteinlerini nötralize etmektedir(Cengiz 1996).

Vital pulpa tedavilerinde KH'nın başarısızlıkları genellikle oluşan dentin köprüsünün sıklıkla pöröz olmasından ve dentin yüzeyine bağlanmamasına bağlı olarak uzun dönemde mikrosızıntıya direnç göstermeyip pulpayı yeterince koruyamamasından kaynaklanmaktadır (Holland et al., 1979, Cox et al., 1982).

2.3.1. Kalsiyum Hidroksitin Kullanım Şekilleri

KH birçok şekilde kullanılmaktadır. Toz halindeki KH'in, serum fizyolojik ve distile su ile taşınabilen veya simana eklenmiş türleri de vardır. Bu farklı türdeki KH formüllerinin pulpada oluşturduğu doku yanıtları da farklılık yaratmaktadır. Genel olarak basit formüldeki KH ürünleri standart bilinen yanıtlara neden olurken, diğer ürünler çeşitli pulpal reaksiyonlarına neden olabilmektedir(Lado et al., 1986).

Farklı ürünler birbirlerinden farklı miktarlarda kalsiyum serbest bırakırken, aynı zamanda farklı antibakteriyel özellikler de sergilemiştir (Lim and Kirk 1987). Siman formundaki KH'ler, daha çok bakterisidaldir ve antibakteriyel etkilerini arttırmak için eklenen katkı maddelerinin, pulpa iyileşmesini de geciktirdiği rapor edilmiştir(Lado et al., 1986).

2.3.2. Hızlı Sertleşen Kalsiyum Hidroksit Formülleri

Hızlı sertleşen KH ürünleri, KH'ten farklı içeriklere sahip olup açılmış pulpa yüzeyine uygulandığında, nekrotik bir tabaka meydana getirmemektedir ve madde yumuşak dokuda en az reaksiyonu oluşturacak şekilde pulpa dokusuna temas etmektedir (Mjör 1991, Kitasako et al., 2000a). Hızlı sertleşen KH ürünleri ile yapılan vital tedavilerde, dentin köprüsü gelişimi gözlemlenmiştir (Stanley and Lundy 1972, Sübay ve Aşcı 1993).

Su ile karıştırılmış olan KH'in pH'ı 12.4'tür. Buna karşın hızlı sertleşen KH preparatlarının pH'ı 9.0-11.5'tir (Çalışkan 2006). KH ürünleri arasındaki pH

farklılıkları nedeniyle, pulpa dokusunda izlenen iyileşme yapıları farklılık göstermektedir (Stanley 1989, Foreman and Barnes 1990).

Hızlı sertleşen KH ürünleri 2 yıl içerisinde çözünmektedir. Mikrosızıntıya bağlı olarak, pulpa enfekte olabilmekte veya nekroze olabilmektedir (Cox et al., 1985). Sübay ve ark. (1995), parsiyel pulpotomi uygulamış oldukları insan dişlerinde, hızlı sertleşen KH ürünlerinin bakteriyel mikrosızıntı önleğinde pulpanın iyileştiğini bildirmiştir.

2.3.3. Kalsiyum Hidroksitin Etki Mekanizması

Uygulanan KH maddesine bağlı olarak, dentin köprüsünün oluşumunda, iki farklı tip reaksiyon izlenmektedir. KH kanamanın kontrol altına alındığında, DPK maddesi ile doğrudan temas edecektir ve temas yüzeyinde alkalen pH'dan dolayı sınırlı bir nekrotik tabaka oluşacaktır. Bu nekrotik doku, altındaki pulpa dokusunda belirgin farklılaşmalara neden olmaktadır(Mjör 2002).

Kanama kontrolünü takiben KH uygulanması ile birlikte, pulpa ile DPK maddesi arasında ilk 24 saat içinde küçük fibrin pıhtısı meydana gelmektedir. Pıhtı tabanı 48 saatte pulpaya doğru yoğunlaşarak, çıkıntılı alanlar oluşturur ve 72 saatte pıhtı küçülerek 96 saatte tamamen çözülür (Schröder 1985). Schröder ve Granath (1971), pulpa dokusunun yüzeyinde üç katlı bir nekroz tabakası tanımlamışlardır.

KH'e en yakın tabaka obliterasyon zonedir. Bu zon KH parçaları, kan pıhtısı, kanama ve kan pigmentleri içermektedir (Masterton 1966, Schröder 1973). DPK ajanının uygulanma basıncı ve hidroksil iyonlarının konsantrasyonuna bağlı, kimyasal yaralanmadan dolayı izlenmektedir. Bu zon, uygulamadan bir saat sonra gözlenmektedir (Masterton 1966, de Feritas 1982).

İkinci tabaka ise koagülasyon nekroz zonedir. Obliterasyon zonunda, hidroksil iyonlarının kısmen nötralize olması nedeniyle, kimyasal etki zayıflayarak koagülasyon nekrozu ile tromboz oluşur (Masterton 1966, Schröder 1973). Bu zon, yaklaşık olarak insan dişinin pulpasında 0.3-0.7 mm kalınlığındadır. Koagülasyon nekroz zonedir en

derin seviyesi ile vital pulpa dokusu arasındaki sınır çizgisi ise, demarkasyon hattı olarak adlandırılmaktadır.

Glass ve Zander (1949), bu çizginin KH ve doku proteinlerinin birleşmesiyle oluşan, kalsiyum proteinattan meydana geldiğine inanmaktadır. Holland et al. (1982) ise, bu sınırın KH ve karbondioksitin birleşmesinden meydana gelen, kalsiyum karbonat olduğunu ileri sürmüştür. Bu kesin ve sınırlı nekroz, pulpada hafif irritasyona neden olarak, pulpa hücrelerini savunma ve tamir reaksiyonlarına yöneltmektedir.

Pulpa yüzeyinde odontoblastların farklılaşması ve dentin mineralizasyonu için uygun bir matriksinin oluşumu ile KH'in pulpa üzerindeki etkisi kaybolmaktadır (Glass ve Zander 1949, Masterton 1966, Schröder 1973).

2.3.4. Dentin Matriks Oluşumu ve Matriksin Kalsifikasyonu

KH'in uygulanmasından yaklaşık olarak 1-2 gün sonra, demarkasyon hattının altındaki mezenşimal hücrelerin proliferasyonu izlenir. İzleyen 2. günden sonra bağ dokusu liflerinde birikim izlenir ve bu lifler organize olup kollajen ağı oluşturur. Yaralanma bölgesine komşu bağ dokusu hücreden zengin tabakadaki mezenşim hücreleri ve fibroblastların sayıca artmasıyla, preodontoblastlara ve odontoblast benzeri hücrelere farklılaşma gözlemlenmiştir (Masterton 1966, Fitzgerald 1979).

Daha alt tabakada ise arjirofilik lifler daha yoğun olup sınır çizgisine dik olacak şekilde organize olurlar. Korff'un lifleri olarak da adlandırılan bu lifler, yayılarak kollajenin karakteristik özelliklerini almaya başlar. Liflerin yayılımı ile kollajen matriks içindeki dağınık tübüler formasyonla sağlanır. Yedinci gün matriks kalınlaşıp değiştikçe, hücresel inklüzyonlar daha yüzeyde yer alarak, görevi sona eren kapiller damarlar kısmen ve tamamen tıkanır (Çalışkan 2006).

Kalsifikasyon teorileri içinde en geçerlisi olan epitaktik mekanizmaya göre, kalsifikasyonun başlaması için kalsiyum ve fosfat iyonlarını bağlayabilen kimyasal gruplar içeren bir kristal çekirdeğe ihtiyaç vardır. Ayrıca kollajenin kendisi ve onunla bağlantılı mukopolisakkaritlerin de bu kalsifikasyona katıldıkları düşünülmektedir. İlk oluşan ince dentin tabakasında gözlenen ve kalsifikasyonun ilk başladığı kabul edilen

50-200 nm çapındaki matriks veziküllerinin, odontoblast ve uzantıları tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir (Prosser et al., 1982).

2.3.5. Dentin Köprüsü Oluşumu

DPK uygulamasını takiben bir ay sonra, oluşan dentin köprüsünün koroner bölümü, hücresel yapılar içeren düzensiz yapıda osteodentin benzeri dokudan; pulpaya ait yüzeyi ise, odontoblastlardan oluşan predentin tabakasından oluşur. Uygulamadan 3 ay sonra ise, kalınlığı artan köprüde iki bölge arasında sınır belirginleşmektedir ve pulpaya bakan yönde düzgün kanallar içeren dentin benzeri bir doku izlenmektedir. İlk başta izlenen yapı, doku reaksiyonunun şiddetli ve hızlı olmasına bağlanmaktadır (Çalışkan 2006).

Yapılan immünohistokimyasal çalışmalar, KH uygulanması sonucu pulpa yüzeyinde duran enzimatik faaliyetlerin, ancak yedi gün sonra başladığını ve farklılaşan bu yeni hücrelerin, ancak 28. günde orijinal hücrelerin enzimatik faaliyet düzeyine ulaştığını göstermiştir. Stanley et al. (1966), çalışmalarında ilk tamir dentinini 12. günde gözlediklerini bildirmişlerdir. 27. ve 28. güne kadar oluşum hızı devamlı artarak 3.5 µm/gün'e ulaştığını ve bu hızın 48. güne kadar devam ettiğini bildirmişlerdir. Daha sonra günlük dentin oluşum hızının giderek azalarak 72. günde 0.74 µm/gün, 132. günde 0.23 µm/gün'e düştüğünü rapor etmişlerdir. Buna göre 2,5 ay içinde 0.15 mm ve 6 aylık süre sonunda 0.25 mm'lik dentin kalınlığı elde edilebileceği sonucuna ulaşmışlardır.

KH ile oluşturulmuş olan köprülerde üç tabaka izlenmektedir. Franz et al. (1984), DPK uygulamasından 6 haftadan sonra alınan kesitlerde, en yüzeyde doku debrizlerinden ve KH'ten oluşan amorf bir tabaka, orta bölgede fibrodentinden oluşmuş kaba bir ağ ve en içte tübüler osteodentin tabakası olduğunu gözlemlemişlerdir. 4 ile 15 hafta sonrasında izlenen oluşumları değerlendirmiş ve tümünde tam bir köprü oluşumu izlemişlerdir. Ayrıca sürenin artmasıyla, dentin köprüsünün kalınlığının arttığını bildirmişlerdir (Franz et al., 1984, Franz et al., 1985). Benzer şekilde Çalışkan ve Öztop (1989), histolojik olarak inceledikleri dentin köprülerinde üç tabaka tespit etmişlerdir.

Mekanik açılma sonrası oluşturulan pulpal yaralanmaya bağlı olarak salınan enflamatuar medyatörlerin, dentin tamirini uyaracak güçte olduğu düşünülmektedir. Kakehashi et al. (1965) ve Kakehashi et al. (1969) yapmış oldukları çalışmalarda, herhangi bir madde uygulaması yapmadan, Germ-free farelerde dentin tamiri izlenmiştir. Bunun tersi olarak da konvansiyonel farelerde, böyle bir iyileşme görülmemiştir. Bu da yara enfeksiyonunun önemini ortaya koymaktadır.

Heys et al. (1990) teflon diskleri ile yapmış oldukları çalışmalarında; iyileşme süreçleri, sertleşen KH patları ile aynı yönde ilerlemesine rağmen, tamir işlemi ile ilişkili olan odontoblastların son farklılaşma aşamaları gerçekleşmediğini rapor etmiştir. Benzer bulgular amalgam kullanıldığında izlenmiştir (Cox et al., 1987).

Dentin tamir işlemi başlatmak için farklı bir uyaran gerekli olduğu Cox et al. (1987) tarafından gösterilmiştir. Yaptıkları çalışmada, maymun keser dişlerine KH yaklaşıp birkaç dakika uygulanıp uzaklaştırıldıktan sonra teflon uygulanmış ve dentin köprüsü izlenmiştir. Çalışma sonucunda dentin köprüsünün oluşabilmesi için, düşük düzeyde bir irritasyonun olması gerektiği önerilmiştir (Cvek et al., 1987).

2.3.6. Dezavantajı

KH enflame bir pulpayı iyileştirme özelliği taşımamakla birlikte DPK uygulamalarındaki kullanımı ya tamamen sağlıklı ya da bakterilerin derine penetre olmadığı, yüzeysel olarak kontamine olmuş pulpa ile sınırlıdır (Foreman and Barnes 1990).

Birçok çalışmacı KH esaslı materyallerin tamir dentini bariyeri sentezleyebilen tek materyal olmadığı, KH altındaki dentin köprülerinde tünel defektleri olabileceği (Cox and Suzuki 1994, Cox et al., 1996, Murray et al., 2002), dentin yüzeyine zayıf “Van der Waals” bağlarıyla bağlandıkları, mikrosızıntıyı önleyemeyerek, kısa bir süre sonra restorasyon altında çözündükleri (Mc Comb 1983, Hwas and Sandrick 1984, Tam et al., 1994) ve adeziv restorasyonlarda hibridizasyon kalitesini düşürdükleri (Fusayama 1987, Feilzer et al., 1993) yönünde çalışmaları bulunmaktadır.

Yaklaşık 20 yıldır KH'in bu olumsuzluklarına karşı alternatif olabilecek birçok DPK materyali deneysel olarak uygulanmıştır (Sübay ve Aşçı 1993, Moritz et al., 1998, Smith et al., 2001, Goldberg et al., 2003, Accorinte et al., 2005).

Bunlar arasında, hidroksi apatit kristalleri (Jaber et al., 1991, Jaber et al., 1996), mine matriks türevi (Nakamura et al., 2001, Ishizaki et al., 2003), rekombinant insan osteojenik proteinleri (Rutherford et al., 1993, Rutherford et al., 1995, Nakashima 1994, Jepsen et al., 1997, Decup et al., 2000), kemik sialoproteinleri (Decup et al., 2000), demineralize dentin matriksi (Oguntebi et al., 1993, Oguntebi 1995, Stanley et al., 2001), KH içerikli rezinler (Niinuma 1999), tetrakalsiyumfosfat simanlar (Yoshimine and Maeda 1995), hiyaluronik asit (Sasaki et al., 1995), büyüme faktörleri (Hu et al., 1998, Lovschall et al., 2001) ve MTA (Pitt Ford et al., 1996, Tziafas et al., 2002, Faraco and Holland 2004, Bodem et al., 2004) sayılabilir.

2.4. Mineral Trioksit Agregat

1993 yılında Mineral Trioksit Agregat adı verilen materyal, kök kanal sistemi ve dişin ağız ortamına açılan yüzeyi arasındaki ilişkiyi kesmek amacıyla Loma Linda Üniversitesi'nde geliştirilmiştir (Abdullah et al., 2002). Ticari olarak patenti 1995 yılında alınmış, 1998 yılında "Amerikan Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA)" onaylandıktan sonra MTA, geniş çapta kullanım alanı bulmuştur (Torabinejad and Chivian 1999).

MTA ilk olarak retrograd dolgu materyali olarak kullanılmış (Torabinejad et al., 1993), sonrasında DPK, kök ucu kapatılması ve furkal perforasyonların tamiri gibi çeşitli klinik uygulamalarda da alternatif olarak uygulanmıştır (Torabinejad and Chivian 1999, Abdullah et al., 2002, Perez et al., 2003). MTA genel olarak;

*Ortogradyolla ve cerrahi yaklaşımlarda retrograd dolgu materyali olarak (Torabinejad et al., 1993, Torabinejad et al., 1994, Torabinejad et al., 1995, Bates et al., 1996, Fisher et al., 1998),

*İyatrojenik perforasyonların tamirinde (Lee et al., 1993),

*Diş rezorpsiyonlarının tamirinde (White et al., 2002, Hsien et al., 2003),

*DPK maddesi olarak (Aeinehchi et al., 2003, Agamy et al., 2004),

*Apeksifikasyon tedavisinde (El-Meligy and Avery 2006),

*İntrakoronel ağartmada kanal tedavisinin örtülenmesinde (Tselnik et al., 2004)

kullanılmaktadır.

2.4.1. Mineral Trioksit Agregat'ın Bileşimi ve Fiziksel Özellikleri

MTA, ilk başta gri renkli olarak üretilmiş olup özellikle ön dişlerde renklenmeye neden olduğu için, daha sonra beyaz renkli MTA (MTA Blanco®) piyasaya sürülmüştür (Camilleri et al., 2005). Her iki türün ağırlık açısından brüt formülasyonu %75 Portland Simanı, %20 bizmut oksit ve %5 alçı taşıdır (Ferris and Baumgartner 2004). Üreticiye firma bilgilerine göre her iki türün de; trikalsiyum silikat, dikalsiyum silikat, trikalsiyum alüminat, trikalsiyum oksit, silikat oksit, kalsiyum sülfat dihidratana bileşenlerinden oluşmaktadır. Materyale radyoopasite sağlamak amacıyla, bizmut oksit katılmaktadır. Beyaz renkli MTA'da tetrakalsiyum alüminoferrit gibi demir içerikli bileşenlerin olmadığı ve beyaz MTA'nın gri renkliye göre daha küçük partiküller içerdiği bildirilmiştir (Tselnik et al., 2004, Ferris and Baumgartner 2004).

MTA tozu 1:3 oranında su ile karıştırıldığında iki kristal yapı ortaya çıkmaktadır. Bunlardan biri %87 kalsiyum, %2,47 silika ve geri kalanı ise oksijen içerikli kristallerdir. Diğer yapı ise; %33 kalsiyum, %49 fosfat, %2 karbon, %3 klorid ve %6 silikadan oluşan amorf yapıdır (Koh et al., 1997, Schmitt et al., 2001).

MTA karıştırıldığında pH değeri 10,2'ye kadar çıktığı, 3 saat içinde pH'nın 12,5'e yükseldiği ve bu değerde kaldığı bildirilmiştir (Torabinejad et al., 1995). MTA ve KH materyallerinin benzer pH derecelerine sahip olması, her iki materyalin de DPK uygulamasından sonra sert doku oluşumunu indüklemeye özelliğini artırdığını düşündürmektedir (Torabinejad et al., 1995, Schwartz et al., 1999, Schmitt et al., 2001)

Bizmut oksit, MTA ya radyopak özelliği kazandırdığı bildirilmektedir (Schwartz et al., 1999, Schmitt et al., 2001). Ortalama radyoopasitesi, 7,17 mm alüminyum kalınlığında olduğu bildirilmiştir. MTA bazı radyopak dental

materyaller ile karşılaştırıldığında, amalgamdan (>10 mm) daha az radyopak, guta perkadan (6,14 mm), IRM'den (5,3 mm), Süper-EBA'dan (5,16 mm) ve dentinden (0,7 mm) daha fazla radyopak olarak görülmektedir (Torabinejad et al., 1995).

MTA'nın sertleşme süresinin çeşitli materyallerle karşılaştırıldığı bir çalışmada, sertleşme zamanları amalgamda 4 dakika \pm 30 saniye, Süper-EBA'da 9 dakika \pm 30 saniye, IRM'de 6 dakika \pm 30 saniye ve MTA'da 2 saat 45 dakika \pm 5 dakika olarak bildirilmiştir(Torabinejad et al., 1995).

Dental restorasyonlarda uygulanan her materyalin sertleştikten sonra okluzal kuvvetlere karşı gösterdiği direnç büyük önem taşımaktadır. İlk 24 saat içinde MTA, amalgam, IRM ve Süper-EBA ile karşılaştırıldığında oklüzal basınca en düşük direnci göstermektedir. 21 gün sonra basınç kuvvetinin yaklaşık 70 MPa kadar arttığı, IRM ve Süper-EBA ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğu, ancak amalgamdan anlamlı derecede düşük olduğu bildirilmiştir(Torabinejad et al., 1995).

Çinko fosfat siman, cam iyonomer siman ve MTA'nın bağlanma kuvvetlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, çinko fosfat ve camiyonomer simanların MTA'dan daha üstün tutuculuk özelliği gösterdiğirapor edilmiştir (Vargas et al., 2004).

2.4.2. Mineral Trioksit Agregat'ın Sertleşme Mekanizması

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, MTA tozu 3:1 oranında steril suyla, cam ya da yağlı kağıt üzerinde plastik veya metal spatül ile karıştırılarak hazırlanmalıdır. Sertleşme reaksiyonu boyunca, MTA'nın fazla miktarda kan ürünleri ve suyla temas etmemesi önerilmektedir (Torabinejad and Chivian 1999, Schmitt 2001). Toz/likitoranı değiştikçe MTA'nın çözünürlüğünün ve pörözitesinin arttığı görülmüştür (Fridland and Rosado 2003).

Klinik uygulamalarda, MTA'nın temas yüzeyine nemli bir pamuk konularak geçici olarak kapatılması ve sertleşme süresince hastanın ilgili bölgeyi 3-4 saat boyunca kullanmaması önerilmektedir (Torabinejad and Chivan 1999). Bu durum üzerine yapılan bir çalışmada furkal perforasyonu MTA ile kapladıkları *in vitro* bir çalışmada, materyalin üzerini bir grupta kuru pamukla, diğer grupta nemli pamukla kapatmışlar, 24 ve 72 saatlik takipten sonra tutuculuk özelliklerini

değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışma sonuçlarına göre, MTA'yı perforasyon bölgesinde uygularken nemli pamukla kondanse etmeyi, kuru veya nemli bir pamuk ve geçici restorasyonla kavitenin kapatılıp, daimi restorasyonun 72 saat sonra yapılmasını önermişlerdir(Sluyk et al., 1998). Matt et al.(2004), açık apeksli dişleri MTA ile tek seansta doldurmak yerine ilk seansta MTA uygulanmasını, üzerine nemli pamuk konularak 24 saat bekletilmesini, sonra kök kanal dolgusunun yapılmasını önermektedirler.

MTA bileşiklerinin yapısının toz/likit oranına, ısıya, ortamdaki nem miktarına ve ortam asiditesine göre değişebildiği bildirilmiştir (Torabinejad et al., 1995, Torabinejad and Chivan 1999, Fridland et al., 2003, Lee et al., 2004). Torabinejad ve Chivian (1999), MTA'nın enflamasyonun fazla olduğu bölgelere uygulandığında, 5,5-5,6 asidik pH varlığında sertleşemeyebileceğini bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, MTA'nın ana yapısından trikalsiyum silikat kompleksinin %20 salisilik asit veya %20 maleik asit içinde çözünebildiği bildirilmiştir (Lee et al., 2004).Değişik fizyolojik ortamlarda MTA'nın mikro yapısını ve suya olan ilgisini inceledikleri çalışmalarında, MTA'yı distile su, salin solüsyonu, pH'sı 7 olan nötral solüsyonda ve pH'sı 5 olan asidik solüsyonda bekletmişler, 7 günlük ölçüm sonrasında asidik solüsyonda bekletilen MTA'nın kristal yapısının bozulduğunu bildirmişlerdir(Lee et al., 2004).

2.4.3. Mineral Trioksit Agregat'ın Etki Mekanizması

MTA'nın etki mekanizmasının genel olarak kalsiyum hidroksit ile benzerlik sergilediği belirtilmektedir (Pitt Ford et al., 1996, Moretton et al., 2000). Holland et al. (1999), MTA ve KH materyallerinin tavşan bağ dokusuna etkisini araştırdıkları çalışmada, her iki materyalin sert doku oluşumunu indükleme mekanizmasında benzerlikler görüldüğünü bildirilmiştir.

Holland et al.(2001) yaptıkları bir başka çalışmada MTA'nın bağ dokusu üzerine uygulamasından sonra sertleşme reaksiyonunu incelemiştir. Aslında, MTA'nın KH içermediği, ancak MTA karıştırıldıktan sonra, kalsiyum oksit ve kalsiyum fosfat olarak iki faza ayrıldığını, kalsiyum oksitin doku sıvıları ile reaksiyona girip KH oluşturduğu ve oluşan KH'in de kalsit kristalleri oluşturabileceği bildirmişlerdir.

Bu kalsit kristalleri ve fibrinonektin ile birlikte, MTA'nın sert doku üretimi için gerekli biyolojik aktif substrat sağladığı tespit edilmiştir. Şekillenmiş apatit kristallerinin arasına fibronektin yığılmasının, pulpadaki odontoblastlarda, periodonsiyumdaki sementoblastlarda olduğu gibi, hücreler arası adezyona ve hücre farklılaşmasına yol açtığı belirtilmiştir (Pitt Ford et al., 1995, Pitt Ford et al., 1996).

2.4.4. Mineral Trioksit Agregat'ın Mikrosızdırmazlık Özelliği

İyi bir retrograd dolgu maddesi, biyouyumlu, antibakteriyel, kolay çözünmeyen, boyutsal stabilitesi iyi, uygulaması kolay ve örtücü özelliği çok iyi olmalıdır. MTA, bu özellikleri içeren bir retrograd dolgu maddesi olarak savunulmaktadır (Andelin et al., 2002, Valois and Costa 2004). Valois ve Costa (2004), kök ucu bölgesinde çeşitli kalınlıklarda MTA uygulayarak apikal sızıntıyı değerlendirmişlerdir. Sonuçta retrograd dolgu maddesi olarak en ideal kalınlığın 4 mm olduğunu bildirmişlerdir.

MTA biyomateryalinin belli bir oranda mikrosızıntı göstermesine rağmen, diğer kullanılan retrograd dolgu maddelerinden amalgam ve çinko oksit öjenol simanıyla karşılaştırıldığında çok daha az mikrosızıntı değerlerini gösterdiği bildirilmiştir (Torabinejad et al., 1994, Torabinejad et al., 1995, Fischer et al., 1998). Torabinejad et al. (1995), bakteri penetrasyonu tekniği kullanarak mikrosızıntıyı değerlendirdikleri çalışmalarında, 3 mm kalınlığında amalgam, IRM, Süper-EBA ve MTA'dan *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) bakteri penetrasyonu için geçen süreyi sırasıyla 28,5 gün, 15 gün, 34 gün, 90 gün olarak bildirmektedirler. Başka bir çalışmada *Serratia marcescens* (*S. marcescens*) bakterisinin penetrasyonu için geçen süre, sırasıyla 10-63 gün, 28-91 gün, 42-101 gün, 49 gün olarak bildirilmektedir (Fischer et al., 1998).

Endotoksin, gram negatif bakteri hücre duvarının bir bileşeni olup, kök ucu lezyonlarının patogeneğinde görülmektedir. Tang et al. (2002) tarafından yapılan çalışmada MTA'nın amalgam, Süper-EBA, IRM'e göre endotoksin sızdırmazlığında daha etkin olduğu gösterilmiştir.

Periodontal bölgede bir iyileşme sağlanabilmesi için, materyalin perforasyonun olduğu bölgeyi çok iyi örtmesi gerekmektedir. Furkal perforasyonlarda MTA'nın amalgam, adeziv sistemler ve Süper-EBA ile karşılaştırıldığı çalışmalarda daha az mikrosızıntı gösterdiği bildirilmektedir (Pitt Ford et al., 1995, Weldon et al., 2002, Hardy et al., 2004).

Furkal perforasyonlara farklı iki MTA preparatı uygulanmış ve sızdırmazlık açısından değerlendirildiğinde aralarında herhangi bir fark bulunamamıştır (Ferris and Baumgartner 2004). İki farklı MTA'nın retrograd dolgu materyali olarak kullanıldığı bir çalışmada ise, gri renkli MTA'nın beyaz renkli MTA'dan daha az mikrosızıntı oluşturduğu gözlenmiştir. MTA'nın mikrosızıntısı, polimeraz zincir reaksiyon(PCR) analiziyle incelendiğinde, açık kök ucu olan dişlerde MTA'nın apikal 1/3 bölgesini ideal olarak örtbildiği bildirilmiştir (de Leimburg et al., 2004). Araştırmacılar, MTA'nın en fazla 3 aya kadar koronal örtüleme materyali olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Tselnik et al., 2004).

2.4.5. Mineral Trioksit Agregat'ın Antibakteriyel Etkisi

Endodontik enfeksiyonlardan, birçok farklı aerob ve anaerob mikroorganizma sorumludur. Bunların arasında en sık izole edileni *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)'tir. MTA'nın antibakteriyel özelliğini incelendiği bir çalışmada MTA'nın *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) bakterileri üzerinde etkili olmadığını rapor edilmiştir (Torabinejad et al., 1995)

MTA, kök kanal medikamenti olan KH, hızlı sertleşen KH, KH esaslı kök kanal dolgu patı ve Portland simanı materyallerinin antimikrobiyal özellikleri karşılaştırıldığında en iyi antibakteriyel özelliği KH gösterdiği belirtilmiştir (Estrela et al., 2000). Buna karşın Stowe et al. (2004), beyaz renkli MTA'nın antimikrobiyal özelliğini araştırdıkları çalışmalarında, MTA'nın steril su yerine 0,12'lik kloreksidin glukonat ile taşıyarak test edilen sekiz mikroorganizma (*A. odontolyticus*, *F. nucleatum*, *S. sanguis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*) üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir.

MTA'nın antifungal etkisinin incelendiği çalışmalar yapılmıştır (Al-Nazhan et al., 2003, Mohammadi et al., 2006). Bir *in vitro* çalışmada, MTA'nın yüzeyinde 1 saat, 24 saat, 3 gün boyunca mantar gelişimi varlığı gözlenmiştir. Sonuçlar, MTA'nın *C. albicans* üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Al-Nazhan et al., 2003).

2.4.6.Dezavantajları

Ekonomik nedenlerden dolayı MTA'ya alternatif olabilecek materyal arayışı devam etmektedir. Bu nedenle MTA'nın ağırlığının yaklaşık olarak %75'ini oluşturan Portland simanıve MTA ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda etkileyici sonuçlar elde edilmiştir (Wu et al., 1998, Estrela et al., 2000, Holland et al., 2001, Saidon et al.,2003). MTA ambalajının açıldığında taze olarak kullanılması (Schmitt et al., 2001, Saidon et al.,2003), MTA'nın karıştırma zorluğu, uzun sürede sertleşmesi, taşıma ve yerleştirme güçlüğü de diğer dezavantajları olarak belirtilmiştir (Joffe 2003).

2.4.7.Mineral Trioksit Agregat'ının *vitro*Biyouyumluluk Çalışmaları

Biyouyumluluk çalışmalarında sıklıkla materyalin sitotoksitesi üzerinde çalışılmaktadır. Materyalin geliştirilme amacı göz önüne alınarak, retrograd dolgu maddesi olarak kullanılan diğer maddeler ile karşılaştırılmaların yapıldığı görülmektedir (Torabinejad et al., 1995, Wu et al., 1998, White et al., 2002, Huang et al., 2005).

Doku cevabını etkileyen çalışmalarında fibroblast, osteoblast, sementoblast gibi hücreler kullanılarak biyouyumluluk araştırılmaktadır (Olsson 1981, Phillipps 1991, Balto 2004, Koulaouzidou et al., 2005).

MTA sitotoksik açıdan ilk kez Torabinejad et al. (1995) tarafından üç farklı retrograd dolgu maddesiyle karşılaştırılarak incelenmiştir. Sonuçlarda MTA en az toksik madde olmuş, onu sırayla amalgam, Süper-EBA, IRM takip etmiştir. MTA'nın toksitesi incelenirken çeşitli hücre tipleriyle çalışılmıştır (Torabinejad et al., 1995, Osorio et al., 1998, Keiser et al., 2000, Asrari et al., 2003). Asrari et al., (2003)

serebro-kortikal hücre kültüründe MTA, amalgam, Süper- EBA, Diaket'i nöronlar üzerine nörotoksisitesini değerlendirmişler, MTA uygulanan kültürde yeni karıştırıldığında ve 7.gün sonrasındaki sonuçlar nöron ölümü açısından anlamlı bulunmazken, amalgam, Süper-EBA ve Diaket uygulanan kültürlerde anlamlı derecede nöron ölümü gözlenmiştir.

Kettering et al. (1995), MTA'nın mutojenitesini standart mutojenite testi ile sık kullanılan retrograd dolgu materyalleri ile karşılaştırmışlar, deney materyallerinin *Salmonella typhimurium* üzerinde mutojenik etki yaratmadığını bildirmişlerdir.

MTA, çinko oksit ojenol siman ve cam iyonmer simanının fibroblastlar üzerinde antiproliferatif etkilerinin incelendiği bir çalışmada, antiproliferatif etki en az MTA'da görülmüş olup, elde edilen sonuca göre MTA ve Cam iyonmer simanın biyouyumlu, IRM ise sitotoksik olduğu bulunmuştur (Koulaouzidou et al., 2005).

MTA'nın sert doku yapımını stimüle ettiği birçok çalışmada da ayrı bildirilmektedir. Aynı zamanda MTA, osteoblastları etkileyebilmektedir (Koh et al., 1997, Koh et al., 1998, Mitchell et al., Holland et al., 1999). Osteoblast(MG 63 osteoblast hücreleri) hücre kültüründe yapılan çalışmalarda MTA eklenmesinden sonra IL-1, IL-6, IL-8 üretiminin arttığı gözlenmiştir. Bu durumun osteoid dokuyu uyararak iyileşmeyi hızlandırıcı etkisi olduğu anlamına gelmektedir. Buna ek olarak MTA'nın sementoblast hücrelerine bağlanabildiği ve çoğalmasını sağlayabildiği bildirilmiştir. Sement oluşumunu artırıcı özellikte olduğu rapor edilmiştir (Thomson et al., 2003).

2.4.8. Mineral Trioksit Agregat ile İlgili *in vivo* Çalışmalar

Yapılan *in vivo* çalışmalarda materyalinin, klinik kullanıma benzer koşulların deney hayvanı modeli kullanılarak oluşturulmasıyla materyalin biyouyumluluğu araştırılması amaçlanmaktadır.

Retrograd dolgu materyali olarak deney hayvanı modeli sıklıkla kullanılmıştır. Bu amaçla MTA'nın sağlıklı köpek dişlerinde retrograd dolgu materyali olarak kullanımının değerlendirildiği çalışmanın sonucunda, MTA gruplarında materyal üzerinde sement varlığı ve minimal iltihap ile başarılı bir iyileşmenin gözlendiği

bildirilmiştir (Economides et al., 2003). Benzer sonuçlar Apaydın ve ark. (2004) tarafından köpeklerin 24 alt çene küçük azı dişlerinde elde edilmiştir. Kök çevrelerindeki doku reaksiyonlarının maymunun üst çene kesici dişlerinde incelendiği bir çalışmada, MTA, amalgam ile karşılaştırılmış ve çok daha üstün özellikler gösterdiği rapor edilmiştir (Torabinejad et al., 1997).

Başka bir çalışmada, köpeklerin 28 adet alt çene küçük azı dişlerinde, MTA furkal perforasyon tamir materyali olarak kullanılmış, MTA'nın amalgamdan daha uygun bir materyal olduğunu belirtilmiştir (Pitt Ford et al., 1995). Benzer bir başka çalışmada 48 köpek dışında lateral kök perforasyonları oluşturulmuş, MTA ile yapılan perforasyon tamirinin, bir KH esaslı kök kanal dolgu materyaline göre daha başarılı olduğu rapor edilmiştir (Holland et al., 2001).

Pitt Ford et al. (1996), maymununların 12 adet alt çene kesici dişinde MTA ve KH ile DPK uygulamışlardır. Çalışma sonunda, MTA örneklerinin neredeyse tamamında enflamasyon gözlenmeksizin sert doku oluşumu meydana geldiği, buna karşın KH uygulanmış örneklerin altısında enflamasyon gözlendiği ve sadece iki dişte dentin köprüsü oluşumunun gözlendiği bildirilmiştir.

Faraco ve Holland (2004), sağlıklı köpek dişlerine, MTA ve KH ile uygulanan DPK sonrası, histolojik değişiklikleri değerlendirmiş, Pitt Ford et al. (1996) bulgularına benzer şekilde, MTA örneklerinin tamamında enflamasyon gözlenmediğini ve tam bir sert doku köprüsü oluşumu gözlemlemişlerdir. KH grubuna ise neredeyse tamamında enflamasyon gözlendiği ve beş örnekte dentin köprüsü oluşumunu gözlediklerini bildirmişlerdir. Her iki çalışmada da, MTA gruplarında meydana gelen sert doku köprülerinin devamlılığı ve kalınlığının daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Pitt Ford et al., 1996, Faraco and Holland 2004).

Köpek dişlerine MTA uygulanan pulpa kaplamasını takiben, erken yara iyileşmesi ile tamir dentini oluşumunu tetikleyebileceği bildirilmiştir (Tziafas et al., 2002). Etkin bir DPK olan MTA'nın deneysel olarak dentin oluşumunu göstermek amacı ile rat dişlerinde immünohistokimyasal olarak Dentinsialofosfoprotein (DSPP) işaretlemesi kullanılmıştır (Andelin et al., 2003). Yapılan boyamalar sonrasında MTA gruplarındaki köprülerin, çevrelerindeki dentin ile benzer yapıda olduğu tespit edilirken, BMP-7 grubundaki sert doku köprülerinin dentin dokusundan çok kemik ile benzerlik gösterdiği rapor edilmiştir.

Deneysel olarak *in vivo*, *in vitro* ve *in situ* çalışmalarında uzun süredir kullanılan MTA ile az sayıda insan çalışması olduğu, bu araştırmaların çoğunluğunun olgu bildirimleri ile histolojik değerlendirmelerden oluştuğu, uzun dönem takipli insan çalışmalarının ise çok az sayıda olduğu görülmektedir (Eidelman et al., 2001, Aeinehchi et al., 2003, Agamy et al., 2004, Main et al., 2004).

MTA'nın insanlarda DPK ajanı olarak KH ile karşılaştırıldığı histolojik bir çalışmada, MTA da, daha kalın dentin tabakası ile daha sık odontoblastik tabaka formasyonu gözleendiği, pulpada ayrıca daha az hiperemi, daha az nekroz ve daha az enflamasyon oluştuğu bildirilmiştir. Sonuç olarak DPK uygulamasında, MTA'nın KH'ten daha başarılı olduğu bildirilmiştir (Aeinehchi et al., 2003).

MTA ve IRM'nin retrograd dolgu maddesi olarak kullanımındaki başarısının değerlendirildiği iki yıllık takibi yapılan insan çalışmasında, iki grup arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığını rapor etmişlerdir (Chong et al., 2003). Main et al. (2004) MTA'nın perforasyon tamir materyali olarak uzun dönem klinik ve radyografik başarısını değerlendirilmiş, çalışma sonuçlarına göre, MTA'nın perfore dişlerin iyileşmesinde etkili olduğu bildirilmiştir.

2.5. Mine Matriks Proteinleri

Dentin dokusu, kollajen yapı ağırlıklı mineralize matriksten meydana gelirken; mine, kollajenden yoksun ve çoğunlukla hidrofobik proteinler olarak bilinen amelogenin ve nonamelogeninlerden oluşmaktadır (Zeichner 2001). Dişin gelişimi süresince ameloblast hücreleri, mine-dentin sınırında depolanan organik ekstraselüler matriksin sentezini ve salgılanmasını kontrol etmektedirler (Gestrelus et al., 2000, Zeichner 2001).

Omurgalı sınıfında diş minesini, diğer sert doku yapıları ile büyük farklılıklar sergilemektedir. Bu, mine dokusunun kollajen yapıda olmayıp epitelyal kökenli olmasından ve diş dokusundaki rezorpsiyon ile remodelasyon görülmemesinden kaynaklanmaktadır (Fincham 1999).

Ektodermal kökenli dokulardan gelişen mine dokusu, çok özel organik matriksi ve kalsifikasyonu ile diğer dokulardan ayrılmaktadır. Yakın geçmişte yapılan

çalışmalar, ameloblast hücrelerinin birkaç çeşit proteini salgılama aşamasını serbestleştirdiğini göstermiştir. Bu salgılanan proteinlerin bazılarının sadece mine matriksine özgü oldukları düşünülmektedir.

Deakins (1942), biyomineralize bir matriksiçeren mine dokusunu ilk kez tanımlayarak, gelişimini tamamlamamış diş dokusunun kütlece yaklaşık %20 sinin organik kompozisyonu oluşturduğunu belirtmiştir. Eastoe (1963) ve Eastoe(1965), fetal diş minesini proteini olan “Amelogenin”i tanımlamıştır. Bunun prolinden zengin, glutamil, histidin ve lösin artıkları içeren özel bir yapıda olduğunu bildirmiştir.

Termine et al. (1980), amelogeninden farklı olarak gelişimini tamamlamamış mine matriks örneklerini inceleyerek aspartilden zengin, serin ve glisin amino asit artıkları içeren ve “*Enamelin*” olarak adlandırılan protein bulunmuştur. Domuz dişlerinde üzerine yapılmış bir çalışmada ise ilk kez bir mine matriks protini olan “*Ameloblastin*” tanıtılmıştır(Krebsbach et al., 1996). Bu proteine aynı zamanda“*amelin*”(Cerny et al.,1996) ve “*sheathlin*”(Hu et al., 1997) adı verilmektedir.

Minenin organik matriksi kollajeniçermeyen proteinlerden oluşmaktadır(Nanci 2003). Mine matriksinin esas proteini,protein kompozisyonunun %90’ını oluşturan *amelogenin*lerdir. Kalan %10’luk kısmını ise, non-amelogeninlerden protein olarak bilinentuftelinden(Diekwisch et al., 1997), tuft proteininden (Robinson 1975), serum proteini olan albümininden (Limeback et al., 1989), fosfolipitten(Shapiro et al., 1966) ve tükrük proteinlerinden meydana gelmektedir (Brookes et al., 1995, Robinson et al., 1998, Hu et al., 2001, Nanci 2003).

Amelogeninler 30 kDa molekül ağırlığına (Deutsch et al., 1995) sahip olup, ameloblastlar tarafından salgılanan hidrofobik proteinlerdir(Lau et al., 1989, Zeichner 2001, Hu et al., 2001, Nanci 2003, Foster and Somerman 2005, Margolis et al., 2006). Yapısal kompozisyonu prolin (%25), glutamin (%14), lökin (%9), histidinden (%7) oluşmakta veX-kromozomu üzerinde taşınmaktadır (Hu et al., 2001, Nanci 2003). X-kromozomu üzerindeki amelogenin genindeki bir mutasyona bağlı olarak, herediteramelogenezis imperfekta ortaya çıkmaktadır (Lagerström et al., 1991). Mine kristallerinin düzenlenmesi, şekillenmesi ve yer değiştirmesinde görev aldıkları bilinmektedir (Zeichner 2001, Nanci 2003,Papagerakis et al.,2003). Bununla birlikte amelogenin geni adli tıpta ve antropolojide cinsiyetin belirlenmesindekullanılmaktadır (von Wurmb-Schwark et al., 2007).

Oida et al. (2002), ameloblast içermeyen gelişimini tamamlamış domuz 1. molardışinde odontoblastlardan amelogenin geninin salgılanmasını göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarını destekleyecek biçimde bir başka çalışmada ise insan diş gelişimi sırasında, odontoblastlardan amelogenin proteini sentezlediğini ve salgılandığı bildirilmiş amelogeninlerin pulpada hücre proliferasyonunu sağlayabildiği öne sürülmüştür (Ye et al., 2006).

Nonamelogenin proteinlerinden ameloblastin, 65 ila 70 kDa arasında değişen moleküler ağırlığa sahip olup, diş gelişimi döneminde mine salgılanması sırasında görev aldığı düşünülmektedir(Simmons et al., 1998, Bleicher et al., 1999, Margolis et al., 2006).

Ameloblastinin dentin oluşumundaki fonksiyonu konusunda henüz bir açıklama olmamasına rağmen, dentin ile ilişkili olduğu yönünde çeşitli çalışmalar rapor edilmiştir(Fong et al., 1996, Bègue-Kirn et al., 1998, Spahr et al., 2002). Ameloblastinin, salgılama aşaması ve lokalizasyon olarak değerlendirildiğinde, dentin mineralizasyonunda görev alabileceği yönünde düşünceler ortaya çıkmaktadır (Fong et al., 1996, Bègue-Kirn et al., 1998).

İnsan dişlerinde travma sonucunda tamir dentini oluşumunda ameloblastinin varlığı *in situ* hibridizasyon ve immünohistokimyasal yöntem kullanılarak gözlemlenerek, tersiyer dentinogenezis aşamasında görevi olabileceği bildirilmektedir (Spahr et al., 2002).

Enamelinler, 125 kDa moleküler ağırlığa sahip hidrofilik glikoprotein yapıda olup mine organik kompozisyonunun %1 ila 5 'ini oluşturmaktadır (Fukae and Tanabe 1987).Enamelin proteinlerinin, mine kristalleriningelişiminde ve mineralizasyonunda görev aldığı düşünülmektedir (Fukae et al., 1993, Yamakoshi et al., 1995, Hu et al., 2001, Margolis et al., 2006).

2.5.1. Mine Matriks Türevi(EMD)-Emdogain® Jel

Periodontal cerrahi tedaviler için destekleyici bir materyal olarak geliştirilen ve mine matriks proteinlerinin türevi(Enamel Matrix Derivative-EMD) olanEmdogain®jel(Biora AB, Malmö, İsveç) “propilen glikol aljinat” isimli bir

taşıyıcının içerisinde amelogenin proteininden(yaklaşık olarak %90) ve amelin proteininden oluşmaktadır.

Emdogain® jel, 1996'da FDI tarafından onaylanmasının ardından diş hekimliğinde özellikle periodontoloji alanında kullanılmaktadır.

Diş mine matriks proteinleri, embriyolojik döneminde serbestkalmaktadır. İnsan ve domuz diş mine matriks proteinleri arasında yapısal benzerlik vardır (Kirkham et al., 1988, Slavkin and Diekwisch 1996). Domuz amelogenin mRNA'sı bütün gelişim dönemi boyunca salgılanmamaktadır(Wakida et al., 1999).Bu sebepler ile EMD altı aylık domuz dişlerinin, diş tomurcuklarındanelde edilebilmektedir.

100 sağlıklı bireyeintradermalolarak uygulanan 0,1 mg Emdogain® jel sonrasında Tip I hipersensivite reaksiyonları gözlenebilirken Tip IV hipersensivite reaksiyonuna rastlanmamıştır ve düşük immünolojik potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Zetterström et al., 1997).

Emdogain® jeli çıkış amacına bağlı olarak, periodontal cerrahi bölgesine kolayca taşınabilen“propilen glikol aljinat” (PGA) sulu çözeltisinin, olduğu gösterilmiştir (Gestrelus et al., 1997).

Propilen glikol aljinatıda ve eczacılık sektöründe, kıvam arttırıcı ajan olarak kullanılanaljinik asidin propilen glikol esteridir. Esterleşme sonrasında makromoleküler açığa çıkar ve yüksek viskoziteye neden olmaktadır(Gestrelus et al., 1997).

Propilen glikol aljinat'ın ortamın asiditesi ve sıcaklığa bağlı olan viskozitesi değişmektedir. Periodontal cerrahi alanına (pH:7.4 ve 37°C), kök ve/veya dentin yüzeyinein vivoolarak uygulandığında içinde barındırdığı EMD'yiortamda serbestleştirerek yüzeye bağlanmasına ve çözünmez bir çökelti oluşturmalarına izinvermektedir(Fincham et al., 1994, Gestrelus et al., 1997).

2.5.2. Mine Matriks Türevinin Periodontolojide Etki Mekanizması

Periodontal cerrahi sırasında açığa çıkmış kök yüzeylerine, EMD uygulandığında, kök yüzeyinde bir protein matrikstabakası bırakılmaktadır(Gestrelus et al., Hammarstöm 1997). Bu tabaka EMD ile kaplanan kök yüzeyine periodontal

dokudan mezenşim hücrelerinin göçünü başlamaktaadır. Kök yüzeyine göç eden hücrelerin kök yüzeyine tutunmasından sonra hücresele çoğalması gerçekteşmektedir. Ortama TGF- β_1 ve PDGF-AB büyüme faktörleri serbestleşerek sement matriksinin oluşumu ile sementoblastların farklılaşması gerçekteşmektedir. Daha sonra defekt alanı periodontal liflersement yüzeyine bağlanmasının ardından alveol kemiği bu bölgede şekillenerek yeni bağ dokusu ataçmanı oluşmaktadır (Hägewald et al.,2004, Emdogain User's Manual, Biora AB, Malmö, İsveç).

2.5.3. Mine Matriks Türevinin Vital Pulpa Tedavilerinde Etki Mekanizması

Çeşitli büyüme faktörleri kullanılarak yapılan parsiyal pulpotomi çalışmalarında, özellikle TGF- β_1 , PDGF-BB, EGF ve BMP-2-7 moleküllerinin dentin yapımından sorumlu hücreleri stimüle ettiklerini, çoğalmaya ve farklılaşmaya sebep oldukları birçok çalışmada gösterilmiştir (Nakashima 1990, Nakashima 1994, Vaahtokari et al., 1991, Cam et al., 1997, Hu et al., 1997, Cassidy et al.,1997, Tziafas et al., 1998,Tziafas et al., 2000, Rutherford and Gu 2000, Smith and Lesot 2001).

Periodontal lif hücre kültüründe, EMD gibi çözünebilir büyüme faktörleri serbestleştirilmiştir. TGF- β_1 , PDGF-BB, interlökin (IL)-6 (Suzuki et al., 2005). Jiang et al. (2006), EMD'nin odontoblast proliferasyonunasebep olduğunu göstermiştir.

Nakamura et al. (2001), rat 1. molarları üzerine yaptıkları parsiyel pulpotomi çalışmalarında, bir gruba hızlı sertleşen KH uygulanırken, diğer gruba ise EMD uygulamışlar ve 2-4 haftalık sonuçları histolojik olarak değerlendirmişler, EMD uygulanan dişlerde tersiyer dentin oluştuğu ve pulpa dokusunda onarım mekanizmasının tetiklendiğini bildirilmişlerdir.

Nakamura et al. (2002)ratmandibular kesici dişlerine hızlı sertleşen KH kontrollü EMD materyalleri ile DPK uygulamış ve tamir dentini oluşum sürecini incelemişlerdir. 14 gün sonunda EMD grubunda perforasyonun dentin köprüsü ile örtüldüğü ve bunun pulpal perforasyon sahasında sınırlı kaldığını bildirilmişlerdir. KH kontrol grubunda ise bütün kök kanalı boyunca dentin oluştuğu ve miktarını deney

grubuna göre daha az olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar EMD nin DPK uygulamalarında kullanılabilir bir materyal adayı olduğunu bildirilmektedir.

Çekim endikasyonu konulmuş insan süt dişlerine EMD ile amputasyon tedavisi gerçekleştirilmiş, 1.hafta, 2. hafta ve 6. ay sonrası histolojik değerlendirme sonrasında, EMD nin dentin oluşumunda etkili olan ve pulpa dokusunun canlılığını koruyan bir materyal olduğu bildirilmiştir (Sabbarini et al., 2007).

Rat mandibular 1. molar dişlerine EMD ile DPK uygulanan bir başka çalışmada ise 7., 14. ve 28. günlerde histolojik inceleme sonucunda özellikle 28. Günsonunda tamir dentininin, diş kuron kısmından kök kanalına doğru oluştuğu, bu süreçte makrofajların EMD ile stimülasyonu sonrasında BMP üretiminin artışının rol oynadığı düşünülmüştür(Kaida et al., 2008).

2.6. Trombositten Zengin Plazma(TZP)

Trombosit Zengin Plazma(TZP), donörden alınan venöz kanın kademeli olarak bir dizi santrifüj ve ayrıştırma işlemlerine tabi tutularak kan elemanlarından trombosit elde edilen, yumuşak ve sert dokularda hemostaz ve yara iyileşmesinde belirli avantajlar sağlayan bir ajandır. Bununla birlikte TZP elde edilmesi ile PDGF ve TGF- β gibi büyüme faktörlerinin “otolog” olarak elde edilmesi için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir(Turk et al., 1993, Tassani et al., 1997, Kanno et al., Ogino et al., 2005).

Biyolojik olarak aktif cerrahi ürünler, enflamasyonu azaltmak ve iyileşmeyi hızlandırmak için uzun yıllar denenmeye ve geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu anlamda fibrin adeziv materyalleri birçok alanda başarılı sonuçlara ulaşılmasını sağladıkları halde kontaminasyon, çapraz doku enfeksiyonu ve materyalin uygulama gücü gibi olumsuzluklardan dolayı çok fazla ilgi odağı olamamıştır.Yakın geçmişte ise trombosit elde edilme biçimi ve istenilen konsantrasyonlarda elde edilebilme yöntemleri kolaylaştırılarak belirli bir uygulamaya kavuşturulmuştur(Marx 2004, Doha et al., 2006).

Whitman et al.(1997) tarafından TZP'nin ilk olarak *in vivo* olarak otojen kemik grefti ile birlikte yara iyileşmesini hızlandırmak için operasyon sahasına uygulanmasının ardından,fibrin adezivlerine otojen bir alternatif olarak görmüştür.

Marx et al. (1998) TZP kompozisyonu ve avantajlarını içeren bir makalesinin yayınlanması ile oral ve maksillofasiyal cerrahide oldukça popüler olmaya başlamıştır.

Trombosit zengin plazmanın olumlu yönleri arasında;

1- Cerrahi uygulama sırasında ve sonrasında kanamanın azaltabilmesi,

2- Yara iyileşmesini hızlandırılabilmesi,

3- Adeziv etkisi ile greft materyalinin uygulama bölgesinde sabitlenmesini arttırabilmesi,

4- Serbestleşen büyüme faktörleri ile iyileşmekte olan dokuların vaskülarizasyonunun hızlandırılabilmesi,

5- Kemik greft materyalleri ile birarada kullanılarak rejenerasyona yardımcı olabilmesi,

6-Cerrahi uygulamaöncesinde veya esnasında kısa sürede hazırlanabilmesi,

7- Dokuya biyolojik olarak uyumlu olması,

8- Otolog yolla hazırlandığı için immünolojik reaksiyonlara neden olmaması,

9- Toksik olmaması,

10- Kontaminasyon ve enfeksiyon geçiş riskinin bulunmaması olarak

sayılabilmektedir (Tözüm ve Demiralp 2003, Ferreira et al., 2005).

Cerrahi operasyondan öncesi venöz kan alınarak 30-40 dk. içerisinde TZP elde edilmektedir. TZP hazırlanmasındaki temel amaç büyüme faktörleri içeren trombositlerinkonsantrasyonunun artırılmasıdır. Trombositlerin α granüllerinden serbestleşen ve yara iyileşmesinitetikleyen büyüme faktörlerinin etkileri bu yolla artırılmaktadır(Marx, 2004).

2.6.1. Trombositler

Trombositler kemik iliğindeki megakaryositlerin parçalanmasıyla oluşmaktadır. Trombositler, kırmızı kan hücreleri gibi çekirdeksiz hücreler olarak dolaşıma katılır ve sınırlı bir yaşam siklusları vardır. Trombositlerin kan hücrelerinin yaşam süreleri 7-10 gün arasındadır. Çekirdeksiz hücre yapısında oluşuna rağmen aktif bir metabolizmaya sahiptirler (Marx 2004).

Doku yaralanmalarında subendotelyal dokunun ortaya çıktığı durumlarda trombositlerin birikimi ve dokuda çözülmeyen protein fibrinleri içeren primer tıkaçın oluşumunu sağlamaktadırlar. Bu şekilde yara iyileşmesi başlar ve yine trombositlerden salgılanan büyüme faktörleri tarafından devamı getirildiği düşünülmektedir(Carlson and Roach 2002).

Trombositler; salındıkları zaman hücre mitozu, kollajen yapımının artması, hasarlı bölgeye diğer hücrelerin göçü, damarsal iç büyümenin başlatılması ve hücre farklılaşması gibi önemli büyüme faktörlerine sahiptirler. Trombosit konsantrasyonunun hasarlı bölgede artışı ile yara yerinin hızlı ve daha iyi iyileşmesi sağlanır. Büyüme faktörleri sistemik yoldan etki edebileceği gibi lokal olarak da fonksiyon gösterebilirler(Carlson and Roach 2002).

Trombositlerin çok sayıda sitoplazmik uzantılara sahiptir ve hücre yapısı doğal su süngerine benzemektedir. Hücre içerisinde “internal veziküller” bulunmaktadır. Bu veziküller üç tip granüliçerir, bunlar:

- 1-Lizozomal granüller,
- 2-Densgranüller,
- 3-Alfa (α) granüllerdir.

Lizozomalgranüller içinde sindirim enzimleribulunurken,Densgranülleri hücre içi yüksek enerji bağlarına sahip çift fosfat bağlı molekül olan adenosin difosfat (ADP) içermektedirler. ADP trombositlerin aktivatörleri sayılmaktadırlar.Alfa(α) granülleri ise büyüme faktörlerinin taşınmasından sorumludurlar. Bu granüller içinde trombositen türetilen büyüme faktörünün 3 izomeri olan PDGF-AA, PDGF-AB ve PDGF-BB, dönüştürücübüyüme faktörünün 2 izomeri olan TGF β_1 ve TGF β_2 , trombosit kaynaklı anjiogenezis faktör PDAF, trombosit kaynaklı epitelyal büyüme faktörü PDEGF, insilin benzeri büyüme faktörü IGF ve trombosit faktör 4 bulunmaktadır (Marx 2004).

2.6.1.1.Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

PDGF'ler trombositlerin α granüllerinde bulunurlar ve pıhtılaşmasında salınırlar(degranülasyon). Pıhtıda en çok izole edilen polipeptit yapıda pozitif yüke sahip biyoaktif bir molekül olan PDGF, A ve B olmak üzere iki protein zincirinden meydana gelmektedir. Trombositlerin özelleşmiş veziküllerinin dışında savunma hücrelerinden monositler ve makrofajlarda, düz kas hücreleri ile endotel hücrelerinde de bulunmaktadır. Mezenşimal hücreler ve fibroblastlar üzerinde yüksek mitojenik etkiye sahip aynı zamanda da güçlü bir kemotaktik ajan olduğu gösterilmiştir (Lind 1996, Marx et al., 1998, Sanches et al.,2003, Soffer et al., 2003, Kanno et al., 2005).

PDGF'nin etkinliği, ortamda bulunan diğer büyüme faktörlerinin varlığına da bağlı olarak değişmektedir (Sanches et al.,2003, Soffer et al., 2003, Kanno et al., 2005). Bunlara ek olarak, anjiyogenik özellikleri sayesinde kollajen ve matriks formasyonunu stimüle ettiği bildirilmiştir (Soffer et al., 2003).

2.6.1.2.DönüştürücüBüyüme Faktörü-Beta Ailesi (TGF- β s)

TGF- β ailesi(TGF- β s) otokrin ve parakrin mekanizmalar ile etki gösteren önemli düzenleyici moleküllerdir(Sanchez et al., 2003).Moleküler ağırlığı 25.000 dalton olup polipeptit yapıdadır. TGF- β_1 , TGF- β_2 ve TGF- β_3 olmak üzere üç farklı izomeri bulunmaktadır. Bu izomerlerden TGF- β_1 'in trombositlerde ve osteoid dokuda yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu bildirilmiştir (Sanchez et al., 2003).

Makrofajlar ve trombositler tarafından serbestleşen TGF- β s etkilerini yakın çevresindeki fibroblastlar, kemik iliği kök hücreleri, endotelial hücreler ve preosteoblastlar üzerinde gösterirler(Murray et al.,2000, Tziafas et. Al., 2000, Smith et al., 2001).

TGF- β s'nin anjiyogenezisi, bağ dokusu proteinleri ve lifleri olan fibronektin, glikozaminoglikan ve kollajen sentezini stimüle ederler, ayrıca osteoblast prekürsörlerinin mitojenezini ve kemotaksisinde sinyal molekülü olarak görev yapmaktadırlar(Sanchez et al., 2003, Kanno et al., 2005).

TGF- β çeşitli büyüme faktörleri ile kombinasyonu sonucu aynı hücre gruplarında farklı olaylara neden olduğu gözlemlenmiştir. *in vitro* olarak PDGF ile kombinasyonu fibroblastların büyümesini stimüle ederken PDEGF ile kombine edildiğinde aynı hücreleri inhibe etmektedir(Sanchez et al.,2003).

TGF- β_1 , bağ dokusu iyileşmesi ve kemik oluşumunu sağlar. Osteoklast oluşumu ve kemikrezorpsiyonunu inhibe eder. Böylece rezorpsiyonu önleyerek kemikoluşumunu sağlar (Lind 1996).

2.6.1.3. Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü(PDEGF)

PDEGF, 1962 yılında ilk kez gözlemlenmiştir ve tanımlanan ilk büyüme faktörü olma özelliği taşır. Bu büyüme faktörü, yumuşak dokuda yara iyileşmesinde keratinositlerin ve dermal fibroblastların proliferasyonunu uyararak, epidermal rejenerasyonda görev yapmaktadır(Cohen and Burns 2002). PDEGF, ortamda bulunan diğer büyüme faktörlerinin etkinliğini de değiştirebilmektedir(Sanchez et al.,2003).

2.6.1.4. Trombosit Kaynaklı Anjiogenezis Faktör (PDAF)

PDAF'nin devaskülarize doku hasarında damarlanmayı artırıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir(Wang et al., 2004). Devaskülarize olmuş dokuyu doğrudan veya dolaylı yoldan etkileyerek yeni kan damarlarının gelişmesini sağlarlar. TGF- β , PDGF, PDEGF, interleukin 1 beta (IL-1 β) ve temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi çeşitli sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin düzenlenmesinde de görev almaktadır(Sanchez et al., 2003).

2.6.1.5. İnsülin Benzeri Büyüme faktörü (IGF)

Hepatosit ve fibroblastlar tarafından sentezlenerek, fibroblast proliferasyonunu uyarmada PDGF ile birlikte çalışır (Lawrence and Diegelman 1994).

2.6.1.6. Trombosit Faktör 4 (PF-4)

Trombositlerin α granüllerinden salınan PF-4 nötrofillerin ve fibroblastlarınkemotaksisinde görev alan bir sinyal molekülüdür. Bununla birlikte bağ dokusunda etkili bir antiheparin ajandır(Sanchez et al.,2003).

2.6.2. Trombositten Zengin PlazmanınElde Edilmesi

TZP elde edebilmek için birçok yöntem tanımlanmasına rağmen sıklıkla iki yöntem tercih edilmektedir. Bu yöntemlerden ilki hematolojik hücre ayırıcıları kullanılarak TZP elde etmek ki bu yöntem oldukça karmaşıktır. Diğerisi ise TZP toplama kiti kullanılarak daha kolay elde edilmesi sağlayan yöntemdir(Marx and Garg 2005).

Oral cerrahi girişimlerde artan TZP gereksinimi, daha az miktarda hasta kanı gerektiren klinik araçların yapımını sağlamıştır (Marx and Garg 2005). Diş hekimliği alanında kullanılacak sistemlerin bazıları; Platelet Concentrate Collection System-PCCS (3i Implant Inovations, Palm BeachGardens, Florida ABD) ve Curasan (Curasan, Pharma GmbH AG, Lindigstrab, Almanya) TZP toplama kiti bunlar arasındadır.

TZP toplama kiti kullanılarakademeli iki santrifüjuygulaması ile istenilen trombosit konsantrasyonu eldeedilmektedir. TZP toplama kitinde yer alan antikoagulan(heparin) içeren tüpler ile venöz kan alındıktan sonra ilk santrifüj(soft spin)ile bu kan hücreleri üç ayrı tabakaya ayrılmaktadır. Bunların %55'i kırmızı kan hücreleri(eritrositler), %40'ı trombositten fakir plazma(TFP) ve %5'i "buffy coat" adı verilen trombositler ve lökositlerin kombinasyonudur(Marx and Garg 2005).

Donörden alınan venöz kan örneği TZP toplama kitinin ilk tüpüne aktarılmaktadır. Periodontal rejeneratif tedaviler için 8-10 ml arası venöz kandan hazırlananTZP'nin yeterli olduğu bildirilmiştir (Tözüm ve Demiralp 2003). Steril kit içerisindeki bir şırınga kullanılarak PPP, PRP ve bir kısım kırmızıkan hücresi çekilerek antikoagulan içermeyen bir diğer işlemde kullanılacakikinci tüpe aktarılır. Buraya alınan kan daha uzun süren ve hızlı bir santrifüj(hard spin)işleminedaha tutulur. Bu işlemle birlikte trombositler tüpün tabanına çökmesi sağlamaktadır.

Burada da üç tabaka oluşur. Toplam hacminin %80'nini oluşturan TFP en üstte, manüplasyona bağlı olarak kırmızı kan hücreleride tütün tabanına çökebilir, ortada ise TZP birikmektedir (Doha et al., 2006).

Günümüzde, kan bankaları trombosit transfüzyonu için trombosit koruyucu solüsyonu olarak yalnızca “Antikoagülan Sitrat Dekströz A (ACD-A)” kullanılmaktadır. Bu şekilde steril olarak hazırlanmış TZP içindeki trombositler oda sıcaklığında 8 saate kadar biyoaktif özelliğini korur. Bunun dışında TZP kriyopresipitat olmadan 8 saatten fazla saklanırsa trombosit membranları zarar görmektedir, 8 saati aşan beklemelemlerden sonra yeniden bir TZP hazırlanması daha iyi olur (Marx and Garg 2005).

TZP hazırlanmasında antikoagülan olarak kullanılan ACD-A, kalsiyumu bağlayarak pıhtılaşmayı engellediğinden, “TZP'nin aktivasyonu” için kanın pıhtılaşma faktörleri ve “kalsiyumun” yerine konulması gerekmektedir. Bu 5ml %10'luk $CaCl_2$ çözeltisine 5.000 Ü yüzeyine sığır trombin eklenmesi gerekmektedir. Bir kabın içine yerleştirilen TZP üzerine 1-2 damla $CaCl_2$ -trombin çözeltisi damlatılır ve TZP yoğunlaşarak jelleşmesi sağlanır, hemostatik ve adeziv özelliği artarak aktive olan TZP dokuya taşınır. $CaCl_2$ -trombin çözeltisinin uygun miktarda kullanımı TZP'yi pıhtılaştırır ve buna “akıllı pıhtı” denir (Marx and Garg 2005).

Marx et al. (1998) yaptıkları bir çalışmada, TZP uygulama sonrasında aralanma alanındaki trombosit miktarının kontrol grubuna göre %338 arttığı rapor edilmiştir.

2.6.3. TZP'nin Klinik Uygulama Alanı

TZP yumuşak dokuda yara iyileşmesini arttırabilmesi sebebi ile tam veya yarı kalınlıktaki mukoza ve deri greftlerinde, mukozal fleplerde, dermal yağ greftlerinde, yüz gerdirmede ve lazer cilt düzeltme cerrahisinde kullanılabilir (Marx and Garg 2005).

TZP uygulamalarında, skar dokusunun ve pigmentasyon kaybının TZP olmayan alanlarda, TZP'li alanlara göre daha fazla gözlemlenmiştir ve TZP uygulanmayan girişimlerde daha fazla pigment kaybı vardır. TZP'nin bu

çalışmanın sonucunda daha hızlı ve etkin iyilesmeye sebepolduğu bildirilmiştir (Marx 2004).

Günümüzde TZP'nin sert doku rejenerasyonunda kullanımı, dental implant cerrahisi öncesinde veya esnasında yerleştirilecek alana, kemik greftleri ile kombine edilerek sinüs lifting ve alveol kemik ogmentasyonunda, kemik rejenerasyon kalitesini artırmak için önerilmektedir (Whitman et al., 1997, Anitua 1999, Kassolis et al., 2000,de Obarrio et al.,2000, Kassolis et al.,2000, Landesberg et al., 2000, Man et al., 2001, Kim et al., 2002,Robiony et al., 2002,Aghaloo et al., 2002,Hiramatsu et al.,2002,Wiltfang et al., 2004,Butterfield et al., 2005,Mannai 2006). TZP bu uygulama alanlarına ek olarak immediat implantyerleştirilmesi ve periimplantis tedavisinde tek başına ya da greft-membran ile bir arada kullanılabileceği bildirilmektedir (Park et al., 1995, Garg et al., 2000, Camargo et al., 2002).

Garget al. (2000), TZP emdirilmiş resorbe olabilen bariyer membranlarınkombinasyonunu önermektedirler. Böylece trombositlerin 3-4 gün arasında degranülasyonunun olabileceği ve büyüme faktörü salgılamaaktivitesinin ise 10 gün süreceğinden kısa zamanlı biyolojik bariyer olarak da görev yapacağını öne sürmüşlerdir.

TZP, çeşitli kemik otogreft ve allogreftlere ile birlikte kullanıldığında daha hızlı epitelizasyon, daha yoğun osteoid doku oluştuğu belirtilmektedir (Kassolis et al., 2000, Robiony, et al., 2002,Sammartino et al., 2005).

2.6.4. Trombositten Zengin Plazma Kullanımının Olası Riskleri

TZP'nin jel haline getirilmesi için en son aşamada CaCl₂veya topikalbovin(sığır) trombin (TBT) kullanılmaktadır. TBT, yabancı protein kaynaklı immün sistemreaksiyonuna, koagülopatilere neden olabilecek faktör 5, 11 ve trombin antikorlarını hareketegeçirebileceği rapor edilmiştir (Landesberg et al., 2000, Sanchez et al., 2003).

Bu olumsuzlukların ardından TBT ürününe ITA jelleştirici ajan(Natrex Technologies Inc. Greenville NC, ABD) eklenerek TZP'nin jelleştirilme miktarı

korunurken koagülopati riskini ortadankaldırıldığı bildirilmiştir(Landesberg et al., 2000).

2.7. Stereolojik Yöntem

Stereoloji, iki boyutlu doku kesitlerinden elde edilen bilgileredayanarak, kapiller yüzeyalanı, damar uzunluğu veya organdaki toplamspesifik hücre sayısı gibi üç boyutlu parametrelerin tarafsız ve kesin olarakölçülmesi tekniğidir (Howell et al., 2002).

Mikroskobik çalışmaların geçmişten günümüze kadar ilgilibiyolojik yapı içerisindeki hücrelerin sayısını bulmak için, değişik yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemler arasında en son geliştirilen ve en doğru hücre sayma tekniklerinden biri olan"disektör" sayım metodu, gerçekte üç boyutlu olan yani uzunluk, genişlik vederinliğe sahip biyolojik yapıları, sahip oldukları boyut özelliklerini göz ardietmeden saymaktadır (Stereo 1984).

Toplam hücre sayısının hesaplanması için, kullanılan disektör yönteminin uygulanma biçimlerinden biri, parçalama yaklaşımı ile yapılanörnekleme uygulamalarıdır. Bu metotta, incelenen bölgede, yapının birparçasında bulunan hücrelerin sayılması söz konusudur.

Toplam hücre sayısı çalışılan parçadan elde edilen verilerin, toplam yapıya oranlanmasıyla elde edilebilir. Yapılan parçalama işleminde belirlenen örnekleme aralığıyeterli ise hesaplar doğru ve güvenilir olacaktır (West 1993).

2.7.1. Kesit Örnekleme Payı

İlgili biyolojik alanda toplam tanecik sayısını en doğru biçimde gösterilmek üzere sistematik bir kesit örnekleme uygulanmaktadır. Yapıdaki toplam tanecik sayısını hesaplamak için;

- (i) İlgilenilen yapı başından sonuna kadar kesilir,
- (ii) Elde edilen tüm kesitlerden sistematik rastgele örnekleme ile en az 10 kesit elde kalacak şekilde kesit örnekleme yapılır,

- (iii) Örneklemenin sistematikliği belli bir kesit aralığında örnekleme yapılması ile sağlanır,
- (iv) Kesitlerin sistematik rastgele örnekleme çizelgesi ile örneklenmesi neticesinde, yapının her yerinin eşit kesilme olasılığına sahip olması sağlanır (Gundersen 1986).

2.7.2. Diş Hekimliği Alanında Stereolojik Yöntem

Dental implant yerleştirme sonrasında çevre dokuların iyileşme özellikleri (Steflik et al., 1998, Schou et al., 2003) ile kemik yoğunluğunun hesaplanması (Kingsmill and Boyde 1998) ve diş hekimliğinde rutin kullanılmakta olan bazımaddelerin mekanik özelliklerinin incelenmesi (Mackert and Williams 1996, Mackert et al., 2001) konularında yapılan araştırmalar tespit edilmiştir.

Diş dokularının histolojik özellikleri ile ilgili olarak, son yıllarda sıçanlarda yapılan bir çalışmada, ortodontik kuvvet uygulanan diş pulpalarında bulunan kan damarlarının, kuvvet öncesi ve sonrası hacim yoğunluğu, Stereolojik metotla hesaplanmış ve ilk 6 saat içerisinde % 10 oranında yoğunluk artışı olduğu gösterilmiştir (Santamaria et al., 2006).

2.8. Histomorfometrik Görüntü Analiz Sistemleri (Image Analysis)

Image analysis olarak adlandırılan sistemler, kullanılan mikroskop, kamera ve program göre değişik isimlerle anılmaktadır. Fakat genel olarak bu sistemlerin temel prensibi bir mikroskop, mikroskoba bağlı bir kamera ve bu kamera aracılığı ile hazırlanan anatomik preparatların, görüntü olarak bilgisayara aktarılması ve bilgisayarda bir program ile kullanıcı tanımlı, yarı otomatik ya da otomatik olarak analizlerin yapılması esasına dayanmaktadır. Histomorfometrik görüntü analizi için Leica QWin Plus v3.3.1 görüntü analizi programı, (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Almanya) resim formatında olan ve ışık mikroskopunda çekilmiş resimlerin, incelenmesinde ve değerlendirilmesinde kullanılan bir programdır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma İçin Gerekli Belgelerin Elde Edilmesi

“Farklı direkt kuafaj materyallerinin pulpaya etkilerinin stereolojik yöntemle incelenmesi” başlıklı tez projemizi gerçekleştirmek için gerekli olan “Deney hayvanları uygulama sertifika programı” ile “Stereoloji sertifika programı” katılımları sonrasında bu alanlarda uygulama yeterlilik belgeleri temin edildi(Ek:1 ve Ek:2).

Projemizin etik kurallara uygunluğu “T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu” tarafından “08.12.2009 tarih”, “karar numarası 9” ve “referans numarası 1101531123159569-143” ile onaylanmıştır(Ek:3).

3.2. Deney Hayvanları

Projemizin *in vivo* aşamasında 36 adet “*rattus norvegicus*” soyu olan Wistar Albino rat, “T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi” tarafından temin edildi. Deney hayvanları ile ilgili operasyonların tümü, operasyon öncesi ve sonrası bakım, barınma yine aynı araştırma ve uygulama merkezinde gerçekleştirildi (Resim 1).

36 adet 1 yaşını doldurmuş, yetişkin erkek ratların 144 adet orta kesici dişleri seçildi, canlı ağırlıkları ölçülerek kuyruk kısımlarından numaralandırıldı ve anestezi dozları hesaplandı (Tablo 1). Deney hayvanı adedini azaltmak için her bir deney hayvanının 4 adet orta kesici diş kullanıldı.

Çalışma alanında kullanılan bütün malzemeler önceden otoklav ile steril edildi. Tek kullanımlık malzemeler ise asepsi kurallarına uygun olarak açıldıve uygulandı(Resim 2). Deney hayvanlarına, 45 dk çalışma süresi sağlayacak dozda intraperitoneal olarak enjekte edilen 40 mg/kg. Ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar[®], Parke Davis&Co. Detroit, Michigan, ABD) ve 2 mg/kg Xylazin HCl (23.32mg/ml Rompun[®], Bayer AG, Leverkusen, Almanya) anestezisi uygulandı (Resim 3). Anesteziyi takiben ratların ağız içleri ile alt, üst kesici dişlerinin labial yüzeyleri iyodin solüsyonu ile dezenfekte edildi.Serum fizyolojik soğutmalı yüksek devirlidöner alete

takılan ISO 010 ve 004 (Mani Dia-Burs, Mani Inc, Tochigiken, Japonya) elik rond frezler ile labial yüzlerde dişetine sınırina yakın1x1x1mm boyutlarında sınıf V kaviteler hazırlanarak 0.4 mm'lik perforasyonlar oluşturuldu.



Resim 1. Deney hayvanlarının barınma ortamı.



Resim 2.Klinikalışmada kullanılan el aletleri



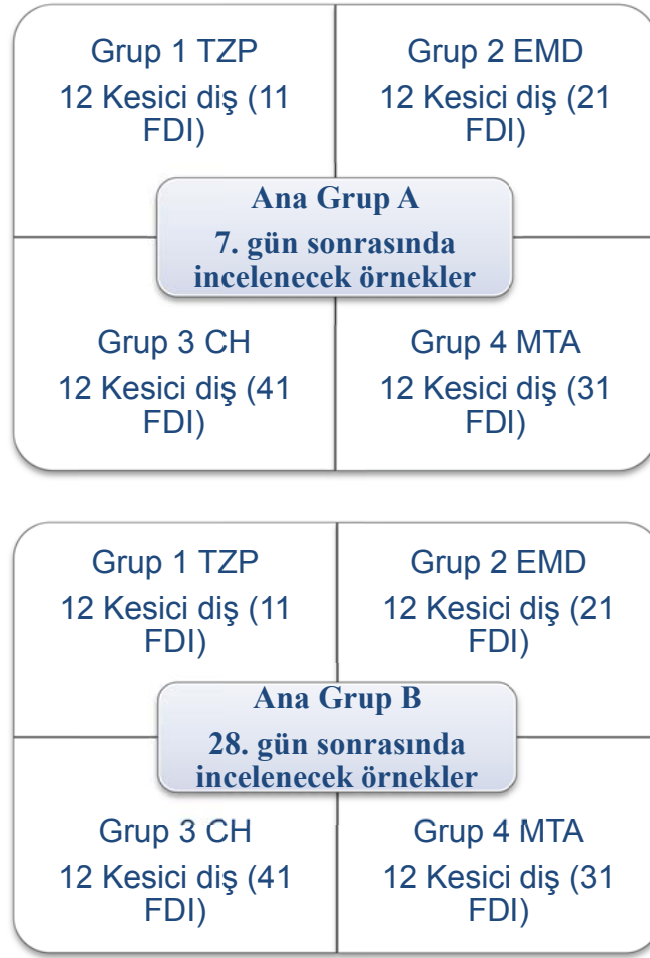
Resim 3. Genel anestezi uygulanması.

Rat dişleri üzerindeki uygulamaların tümü, dual stereo operasyon mikroskobu(Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Almanya)ile gerçekleştirildi. Standart sınıf Vkviteler oluşturuldu ve pulpalar perfore edildi. Frezin perforasyonalanına çok fazla girmemesine dikkat edildi. Kanama steril pamuk peletlerledurdurulduktan sonra seçilen DPK materyalleri gruplara göre ayrı ayrı uygulandı. ratlarçalışma materyallerine göre 4ayrı gruba ayrıldı (Şekil 1).

Buna göre, 7. gün sonrası incelenmek üzere materyalların gruplandırılması:

1. Grup: Sağ üst kesici diş, 7. gün sonrası incelenecek olan TZP uygulanan denekler (12 adet),
2. Grup: Sol üst kesici diş, 7. gün sonrası incelenecek olan EMD uygulanan denekler (12 adet),
3. Grup: Sağ alt kesici diş, 7. gün sonrası incelenecek olan KH uygulanan denekler (12 adet),
4. Grup: Sol alt kesici diş, 7.gün sonrası incelenecek olan MTAuygulanan denekler (12 adet).

28. gün sonrasında incelenecek olan materyaller, yine aynı düzen ve aynı denek sayısı içerisinde gruplandırıldı.



Şekil 1. Çalışma materyallerine göre ratların gruplandırılması.



Şekil 2. Kontrol gruplarına ait dişlerin dağılımı.

Çalışmamızın negatif kontrolü 6 adet deneğin 24 adet sağlıklı orta kesici dişinden elde edildi. Bu grupta yer alan dişlere herhangi bir işlem uygulanmadan

histolojik ve histomorfometrik olarak incelendi. Pozitif kontrol grubu ise perfore edilen 6 adet deneğin 24 adet kesici dişinin pulpa dokusuna herhangi bir materyal uygulaması olmayarak pulpaları IRM ile örtülerek histolojik ve histomorfometrik olarak incelendi(Şekil 2).

Tablo 1.Genel anestezi miktarları.

Denek no/Grup	Denek ağırlığı	Ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar [®] , Parke Davis)	Xylazin HCl (23.32mg/ml Rompun [®] , Bayer)
Ana Grup A			
1	211	30	8
2	194	28	7
3	255	30	8
4	217	30	8
5	242	40	10
6	227	30	8
7	198	28	7
8	245	40	10
9	224	30	8
10	239	35	9
11	170	25	6
12	182	27	6
Ana Grup B			
1	364	50	15
2	356	28	15
3	311	40	12
4	319	30	12
5	309	40	11
6	329	30	13
7	318	28	12
8	319	40	12
9	335	30	12
10	390	35	16
11	283	25	15
12	225	30	8
(+) Kontrol			
1	243	40	10
2	206	28	7
3	210	29	7
4	181	27	6
5	246	40	10
6	196	28	7
(-) Kontrol			
1	224	30	8
2	265	40	10
3	219	30	8
4	243	40	10
5	239	30	8
6	218	30	8

3.3. TZP Hazırlanması

TZPhazırlanması için trombositen zengin plazma kiti (Curasan PRP Collection Kit, Curasan Pharma GmbH AG, Lindigstrab, Almanya) ve santrifüj cihazı (CurasanCentrifuge, Curasan Pharma GmbH AG, Lindigstrab, Almanya) kullanıldı.

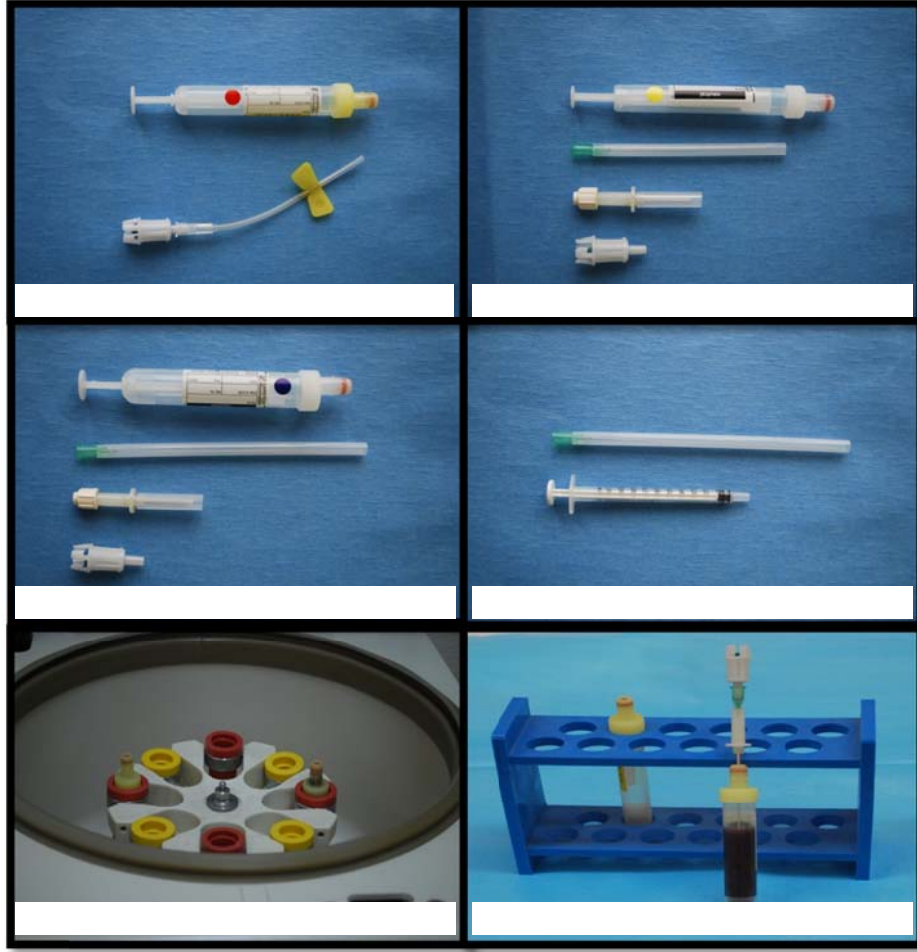
Trombositen zengin plazma toplama kitinde dört adet tüp sistemi bulunmaktadır. Her bir tüp sistemi renk kodu ile birbirlerinden ayrılmıştır (Resim 4). Bunlar:

- Kırmızı renk kodlu tüp,
- Sarı renk kodlu tüp,
- Mavi renk kodlu tüp,
- Yeşilrenk kodlu tüp
- Ara bağlantı parçaları
- Denge tüplerinden oluşmaktadır.

24 adet deneğin her birinden genel anestezi uygulamadan önce, fizyolojik sınırlar dahilinde 1 ml kuyruk veninden venöz kan kırmızı renk kodlu tüpe alınarak, içindeki antikoagülan materyal(ACD-A) ileyavaş hareketlerle karıştırıldı.İlk santrifüj işlemi(soft spin) için kırmızı kodlu tüp, dengesi ile birlikte dakikada 2400 devirde 10 dakika süreyle gerçekleştirildi.

Santrifüj işlemi sonrası tüplerin üstkısımındaki açık renk sıvı,sarı kodlu tüpe aktarıldı. Tüpün pistonu kırılarak aynı renk kodlu dengesi ise tam karşısına gelecek şekilde santrifüj cihazına yerleştirildi. Tüplerdakikada 3600 devirde 15 dakika boyunca ikinci bir santrifüj işlemine(hard spin) daha tabi tutuldu.

Santrifüj sonrası sarı renk kodlu tüpün üzerinde kalan trombositen fakir plazma (TFP), mavi renk kodlu tüp ara bağlantı adaptörüne bağlandı, aspire edildi ve atıldı. Tüpün tabanındaki TZP, numaralandırılmış steril bir kaba yeşil kit ile C de saklandı.



Resim 4. TZP kiti bölümleri.

3.4. Çalışma Gruplarına Göre Materyallerin Uygulanması

Çalışmamızda ratların *vivo* bir işlem uygulamadan önce oluşturulacak sınıf V kaviteler ve pulpal perforasyonlarının boyutlarını belirlemek amacıyla rat kadavraları üzerinde bir ön hazırlık yapıldı. ratların ağız açıklıkları, diş boyutları ve çalışma pozisyonu belirlendi(Resim 5 ve Resim 6).



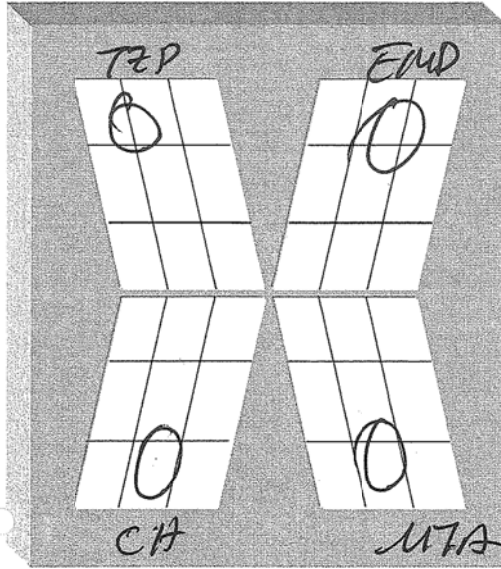
Resim 5: Rat kafatasının görünümü



Resim 6: rat kafatasında ön dişlerde çalışma öncesinde yapılan kavite hazırlığı ve pulpal perforasyon denemeleri izlenmektedir.

Ratların ağızları sıvı ve katı cisim aspirasyonunu önlemek amacıyla örtüldükten sonra kesici dişlerine sterilkoşullar altında standart sınıf V kavite açıldı ve diş pulparları perfore edildi. Perforasyonlar 10 kat optik büyütme ile gözlendi. Çalışmamızda her bir denek için ayrı olmak üzere operasyon takip listesi hazırlandı. (Resim 7).

Açılan pulpa yüzeyinde meydana gelen kanama, serum fizyolojik'e (İzotonik,Eczacıbası-Baxter, İstanbul, Türkiye) emdirilmiş steril pamuk peletlerle kontrol altınaaldıktan sonra, kavite serum fizyolojik ile yıkanıp hafifçe hava ile kurutuldu.



Denek no : 8
 Tarih : 3.11/2010
 Genel Anestezi : 3.11/2010
 Ötenazi : 04.105/2010

Uygulanan Materyaller

(11): T2P
 (21): EMD
 (31): CH
 (41): MTA

- 11
- Genel anestetik madde.....
 - Genel anestetik doz.....
 - Genel anestezi süresi..... 40 dk.....
 - Genel anestetik derinliği.....
 - Giriş kavitesinin açılması.....
 - Perforasyonun sağlanması.....
 - Kanama kontrolü (s)..... 30 s.....
 - Kuafaj ajanı uygulaması.....
 - Kolajen Membran uygulaması.....
 - Sealing.....
 - Post operatif Gözlemler..... Sepililer.....

- 21
- Genel anestetik madde.....
 - Genel anestetik doz.....
 - Genel anestezi süresi.....
 - Genel anestetik derinliği.....
 - Giriş kavitesinin açılması.....
 - Perforasyonun sağlanması.....
 - Kanama kontrolü (s).....
 - Kuafaj ajanı uygulaması.....
 - Kolajen Membran uygulaması.....
 - Sealing.....
 - Post operatif Gözlemler.....

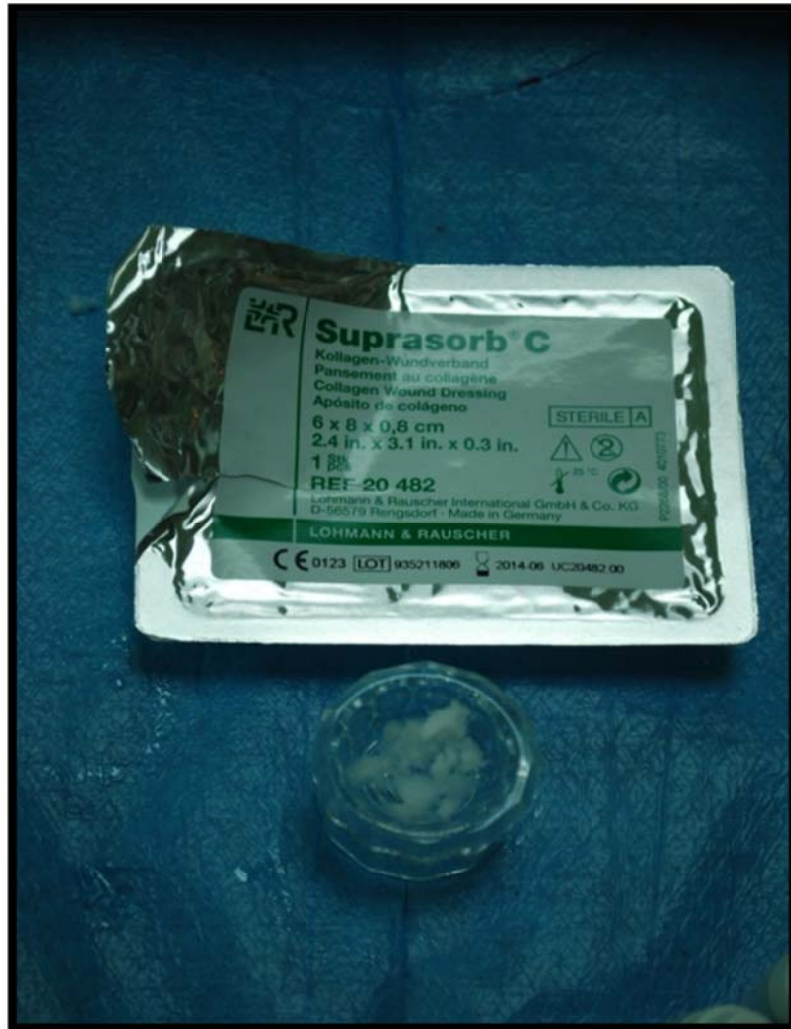
- 31
- Genel anestetik madde.....
 - Genel anestetik doz.....
 - Genel anestezi süresi.....
 - Genel anestetik derinliği.....
 - Giriş kavitesinin açılması.....
 - Perforasyonun sağlanması.....
 - Kanama kontrolü (s).....
 - Kuafaj ajanı uygulaması.....
 - Kolajen Membran uygulaması.....
 - Sealing.....
 - Post operatif Gözlemler.....

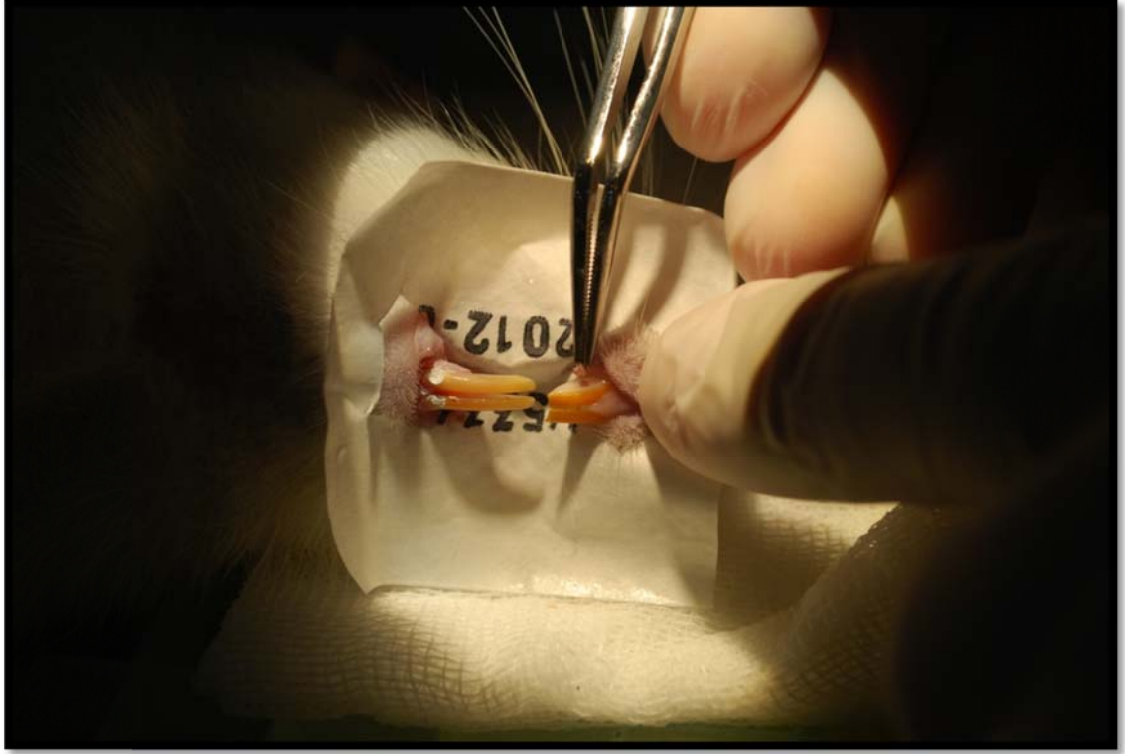
- 41
- Genel anestetik madde.....
 - Genel anestetik doz.....
 - Genel anestezi süresi.....
 - Genel anestetik derinliği.....
 - Giriş kavitesinin açılması.....
 - Perforasyonun sağlanması.....
 - Kanama kontrolü (s).....
 - Kuafaj ajanı uygulaması.....
 - Kolajen Membran uygulaması.....
 - Sealing.....
 - Post operatif Gözlemler.....

Bu Evrağın Kaybolması Halinde: Dt. Ekim Onur ORHAN, Süleyman Demirel Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı 32260 Merkez İSPARTA, 0532 257 7337, 0246 211 3718

Resim 7. Operasyon takip listesi görülmektedir.

Ratların sağ üst kesici dişlerinin pulpaları üzerine TZP uygulandı. Uygulamada soğuk zincirden çıkartılan numaralandırılmış TZP'ler steril bir kaptta 1 damla CaCl₂ ve 2 damla kendi kanı ile aktive edildikten sonra DPK alanına taşınması ve etkinliğinin artması amacı ile taşınması için pöröz, yüksek oranda absorpsiyon özelliğine sahip, saf sığır kollajeni (Suprasorb C, Lohmann & Rauscher International GmbH & Co., Rengsdorf: Almanya) kullanıldı. Pulpayı örtüleyebilecek kadar küçük parçalara bölünen kollajen parçaları ortalama ağırlıkları 1mg olarak belirlendi. Ağırlıklar hassas terazi ile ölçüldü (Precisa XR 125 SM, Precisa instruments AG. Zürih, İsviçre). Kollajen parçalara emdirilmış TZP numaralarına göre deneklerin ilgili dişlerine uygulandı (Resim 8 ve Resim 9).



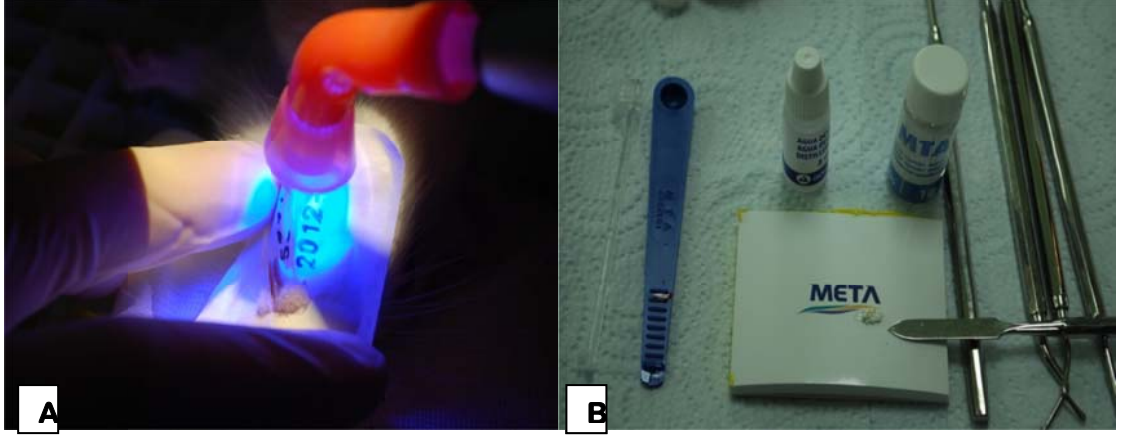


Resim 9. Deneklere izolasyon uygulanması.

Deneklerin sol üst kesici diş pulparları üzerine yalnızca EMD (0,3 ml syringe Emdogain® jel, Biora AB, Malmö, İsveç) kendi enjektörüne takılmış steril asit jeli uygulaması ile, pulpa dokusunun perforasyon yüzeyinin tamamını örtecek şekilde konuldu. Sağ alt kesici diş pulparları ışıkla sertleşen KH(Calcimol LC®, Voco GmbH, anton-flettner-Strabbe Cuxhaven, Almanya) yerleştirildikten sonra kablosuz LED ışık cihazı(BLUELEX LD-105, Fomed Monitex Inc, Güney Kore) ile 40 saniye görünür ışıkla polimerize edildi(Resim 10A).

MTA(Angelus, Londrina, PR, Brezilya) deneklerin sol alt kesici dişlerine üretici firma önerisine göre 3:1 toz/likit oranında karıştırılarak siman fulvarı ile ince bir tabaka halinde basınçuygulanmaksızın yerleştirildi(Resim 10B).

Farklı materyaller ile DPK uygulanan bütün dişler güçlendirilmiş çinko oksit öjenol siman(IRM, Caulk Dentsply, Milford, DE, ABD) ile restore edildi (Resim 11).



Resim 10.A ışıkla serleşen KH'nin polimerizasyonu, B. MTA'nın karıştırılması gösterilmektedir.



Resim 11. Rat dişleri üzerine uygulamaların tümü 10 kat optik büyütme ile dual stereo operasyon mikroskobu(Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Almanya) altında uygulandı.

3.5. Örneklerin Hazırlanması

Uygulama sonrası 7., ve 28. günlerde sakrifikasyonu takiben dişlerin her biri mandibuladan çıkarıldıktan hemen sonra fiksatif ajanın pulpaya nüfuz etmesi için köklerinin 2/3 apikal kısımları kesildi ve doku kasetlerine yerleştirilerek numaralandırıldı(Resim 12). Doku kasetleri, daha önceden hazırlanan numaralandırılmış, %10'luk tamponlanmış nötral formaldehit(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, ABD)içeren steril kapalı kaplara yerleştirildiler. Formaldehit içeren şişeler oda sıcaklığında, karanlık kutular içinde bekletilerek laboratuara taşındılar.



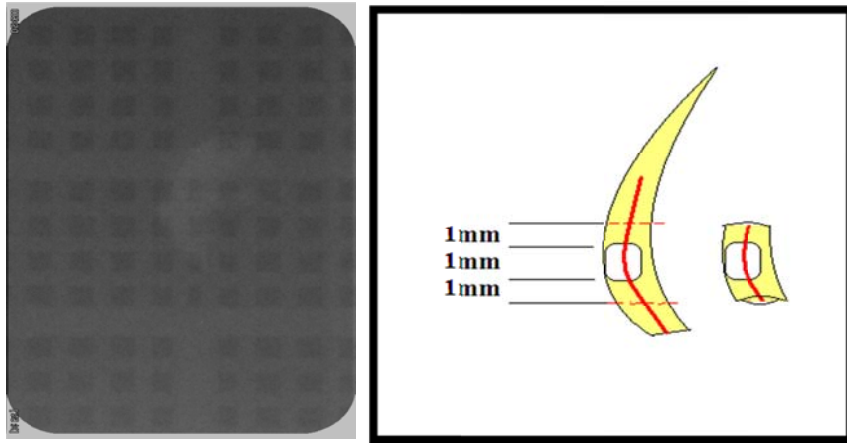
Resim 12. Solda fosfat tamponlu %10 formaldehit içeren etiketlenmiş steril idrar kabı, sağda histolojik doku kaseti görülmektedir.

Örneklerin fiksasyon ve demineralizasyon aşamaları T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

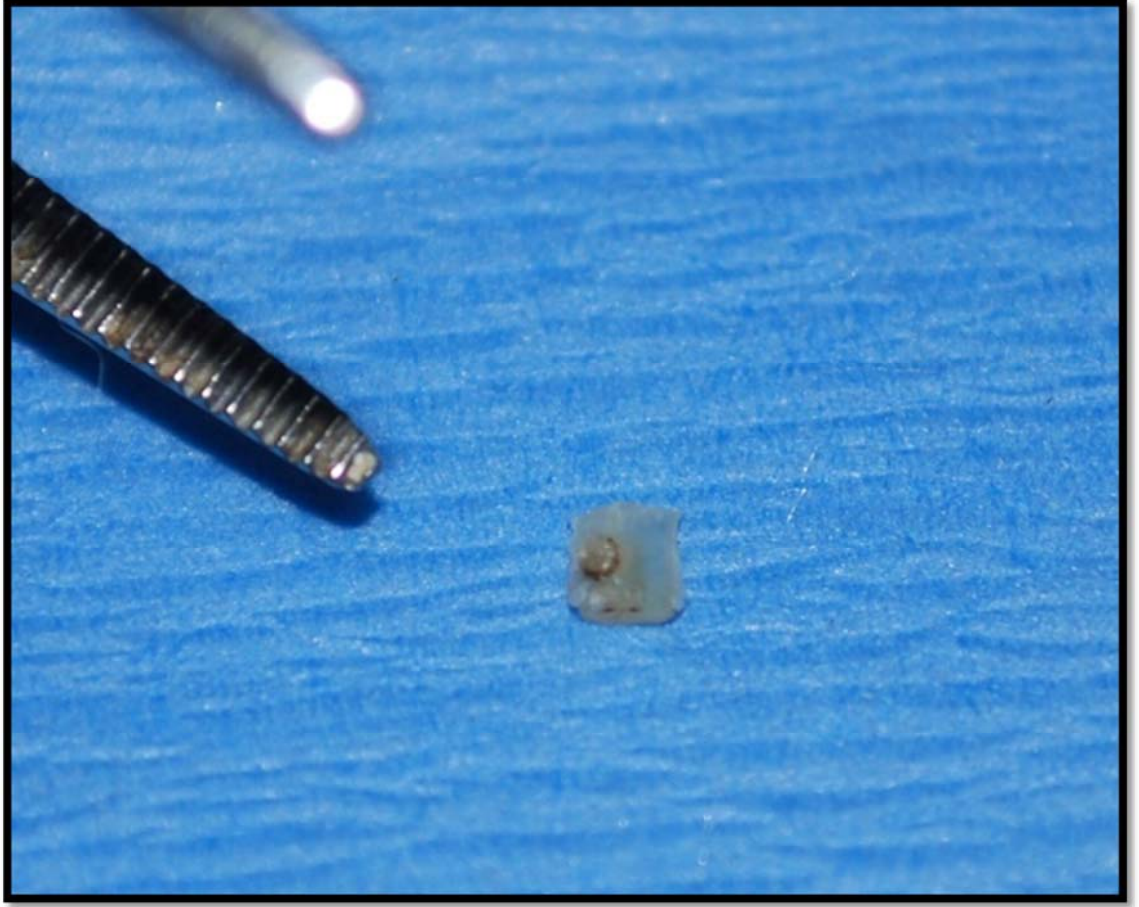
72 saat fiksasyonu tamamlanan örnekler akan çeşme suyunda yıkandıktan sonra, eş zamanlı olarak, %10 formik asit(CH_2O_2 , Tekkim Kimya San. ve Tic. Ltd. Şti. İstanbul, Türkiye) ile demineralize edildi(Resim 13). Demineralizasyon için kullanılan %10'luk formik asit solüsyonu, üç hafta boyunca, üç günde bir tazelenildi. Bu işlem, oda sıcaklığında ve karanlık kutuda gerçekleştirildi. Demineralizasyonun tamamlanması radyografik olarak onaylandıktan sonra(Resim 14) örneklerin, boyutsal standardizasyonunu sağlamak amacıyla restore edilen sınıf V kaviteletin insizal ve servikal yönde 1 mm pay bırakılacak şekilde yatay olarak kesiler yapıldı(Resim 15).



Resim 13. Demineralizasyonun formik asit ile sağlanması,



Resim 14. Sol; demineralizasyonun radyografik kontrolü, Sağ; yatay olarak kesiler yapılmasının şematik görünümü.



Resim 15.Örneklerin, boyutsal standardizasyonu.

Demineralizasyon süreci tamamlanan dişlerin histolojik kesitleri T.C. Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Bilimler Anabilim Dalı'nın Oral Patoloji Laboratuvarı'na hazırlandı. Demineralizasyon sonrası formik asit artıklarını uzaklaştırmak için bir 12 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkanan histolojik doku kasetleri içerisindeki örnekler otomatik doku takip cihazına (Sakura Vacuum Rotary automatic tissue processor, Sakura Finetek Co., Japonya) yerleştirildi(Resim 16).



Resim 16. Otomatik doku takip cihazı.

Rutin doku takip işlemini otomatik doku takip cihazında tamamlandıktan sonra örnekler parafin bloklara gömüldü(Resim 17). Dokulardan, adeziv lamlara (Surgipath, X-tra Adhesive Microslides, IL, ABD) 4µm kalınlığında hemotoksilen-Eozin boyaması için, mikrokotör (Leica SM 2000R, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Almanya) ile kesitler alındı(Resim 18). Çalışmamızda 1 mm (1000µm) büyüklüğünde hazırlanan kavileri içeren parafine gömülmüş dokuların tamamından, mikrokotör ile eşit aralıklar ile 4µm kalınlığında 10 adet kesit alındı. 1000µm bir dilim topluluğundan yaklaşık 10 dilimlik bir örnekleme elde edildi, yani sistematik örnekleme aralığının her 100µmaralıkta 1 olmak üzere örneklerimiz; 1.,101., 201., 301., 401., 501., 601., 701., 801. ve 901. kesitlerden oluşturuldu. Bu rastgelelik, aynı sistematik aralıkla tüm örneklere uygulandığında tekdüze sistematik rastgele örnekler elde edildi. Yani her bir dokudan 10 adet sistematik düzende kesitler alındı.



Resim 17. Parafine gömülen dokular.

Histopatolojik inceleme için rutin Hemaotoksilen & Eozin boyanan kesitler, 65°C'de etüv(Nüve EN 400, Nüve A.Ş. Ankara, Türkiye) içinde 1 saat deparafinize edildi (Resim 19). Sonrasında sırasıyla 30'ar dakika ksilol ve alkolde bekletildikten sonra çeşme suyunda yıkayıp rutin Hemaotoksilen & Eozin boyama işlemine tabi tutuldu(Resim 20 ve Resim 21) (Tablo 2).

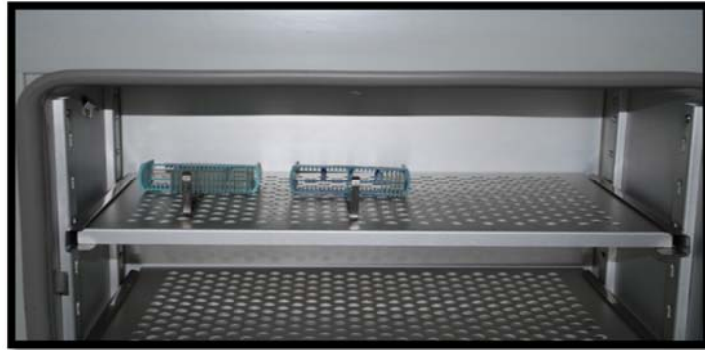


Resim 18. Mikrokötör ile parafin bloklardan kesit alınması

Tablo 2. Boyama protokolü.

Yapılan işlem	Süre
1. Ksilol (xylene)	15 dk bekletildi
2. %100'lük Alkol	10 dakika
3. %90'lık alkol	10 dakika
4. %80'lik alkol	10 dakika
5. %70'lik alkol	10 dakika
6. Distile su	10 dakika
7. Hematoksilen	20 dakika
8. Akan çeşme suyunda yıkama	Boyanın bulanıklılığı gidene kadar yıkandı
9. %1 lik Asit alkole batırılıp çıkartıldı	3 saniye
10. Akan çeşme suyunda yıkama	Boyanın bulanıklılığı gidene kadar yıkandı
11. Eozin	5 saniye
12. Akan çeşme suyunda yıkama	Boyanın bulanıklığı uzaklaşmaya kadar
13. %96 etil alkol	5 dakika
14. %100'lük alkol	10 dakika
15. Ksilen	10 dakika
16. Ksilen	1 saat
17. Lamel ile kapatma	

Vakalara ait tüm tüm histopatolojik değerlendirmeler fotoataçmanlı ışık mikroskopunda (Leica DM 4000 B, Leica Microsystems GmbH. Wetzlar, Almanya) yapıldı(Resim 22).



Resim 19. Deparafinizasyonu.



Resim 20. Kesitlerin Hematoksilen&Eozin ile boyanması.

Örneklere ait Hematoksilen&Eozin boyalı kesitlerde, pulpa dokusundaki nekroz varlığı, enflamasyon varlığı ve yoğunluğu, hiperemi varlığı ve yoğunluğu, odontoblastik dizelenmesi ile pulpa odası etrafında tersiyer dentin varlığı Hasheminia et al. (2010) kriterleri modifiye edilerek değerlendirilmesi tamamlandı (Tablo 3 ve 4).



Resim 21. Kesitlerin boyandıktan sonraki lamelle kapatılmış görünümüleri.

Odontoblastik dizelenmenin izlendiği örneklerde odontoblast hücre sayımı ve yine tersiyer dentin varlığı gözlenen örneklerdeki tersiyer dentin kalınlığının ölçümü

histomorfometrik olarak görüntü analizi programı (Leica QWin Plus v3.3.1, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Almanya) kullanılarak yapıldı(Resim 23).



Resim 22. Fotoataçmanlı ışık mikroskobu

Tablo 3. Histolojik incelemede kullanılan kriterler.

<i>Enflamasyon türü</i>		
Skor 0	Enflamasyonyok	
Skor 1	Akut enflamasyon	
Skor 2	Kronik enflamasyon	
Skor 3	Hem akut hem kronik enflamasyon	
<i>Enflamasyon Yoğunluğu</i>		
Skor 1	Hafif yoğunlukta enflamasyon: 0-30 enflamatuar hücre	
Skor 2	Orta yoğunlukta enflamasyon: 30-60 enflamatuar hücre	
Skor 3	Şiddetli enflamasyon: 60<enflamatuar hücresi	
<i>Hiperemi</i>		
Skor 1	Kan damarı sayısı: 1- 15 arasında	
Skor 2	Kan damarı sayısı: 15-30 arasında	
Skor 3	Kan damarı sayısı: >30	
<i>Nekroz</i>		
Skor 0	Nekroz yok	
Skor 1	Nekroz var	
<i>Tersiyer Dentin</i>		
Skor 0	Tersiyer Dentin yok	
Skor 1	Tersiyer Dentin var	

Tablo 4. Histomorfometrik skorlamada kullanılan kriterler.

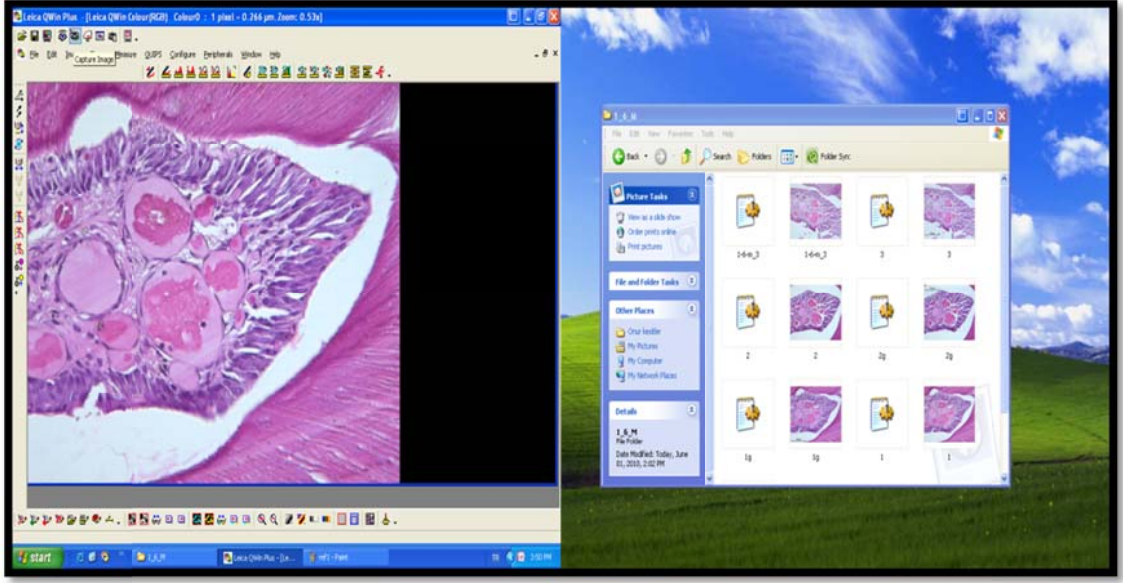
<i>Tersiyer dentin kalınlığı</i>	
Skor (1)	Kalın: 200 μm (0,2mm)daha fazla
Skor (2)	Orta: 99 μm ile 199 μm arasında
Skor (3)	İnce: 99 μm 'den daha az veya tersiyer dentin görülmemesi

<i>Odontoblasthücre tabakası</i>	
Skor (0)	Odontoblastik hücre tabakası yok
Skor (1)	Odontoblastik hücre tabakası var

3.6. Tanecik Sayım Cetvelinin Özellikleri

Bütün mikrograflar, fotoataçmanlı ışık mikroskobunda(Leica DM 4000 B, Leica Microsystems GmbH. Wetzlar, Almanya), total optik büyütme miktarı 400 kat, ışık miktarı 15 lüks, F değeri(Diyafram açıklığı) 32, AP değeri(Enstantanesi) 23 olarak standart olarak alındı.

Stereolojik alan örnekleme payı modeline uygun olarak “tanecik sayım cetveli” hücre sayımının kesin ve belirtilmiş bir alanda çekilen mikrografların tanecik sayımı yapılırken standardizasyonunu sağlamak için oluşturuldu. Tanecik sayım cetveli içerisinde yer alan hücreler sayılırken, çerçeve içerisine temas eden veya dışında kalan hücreler sayıma dahil edilmedi.

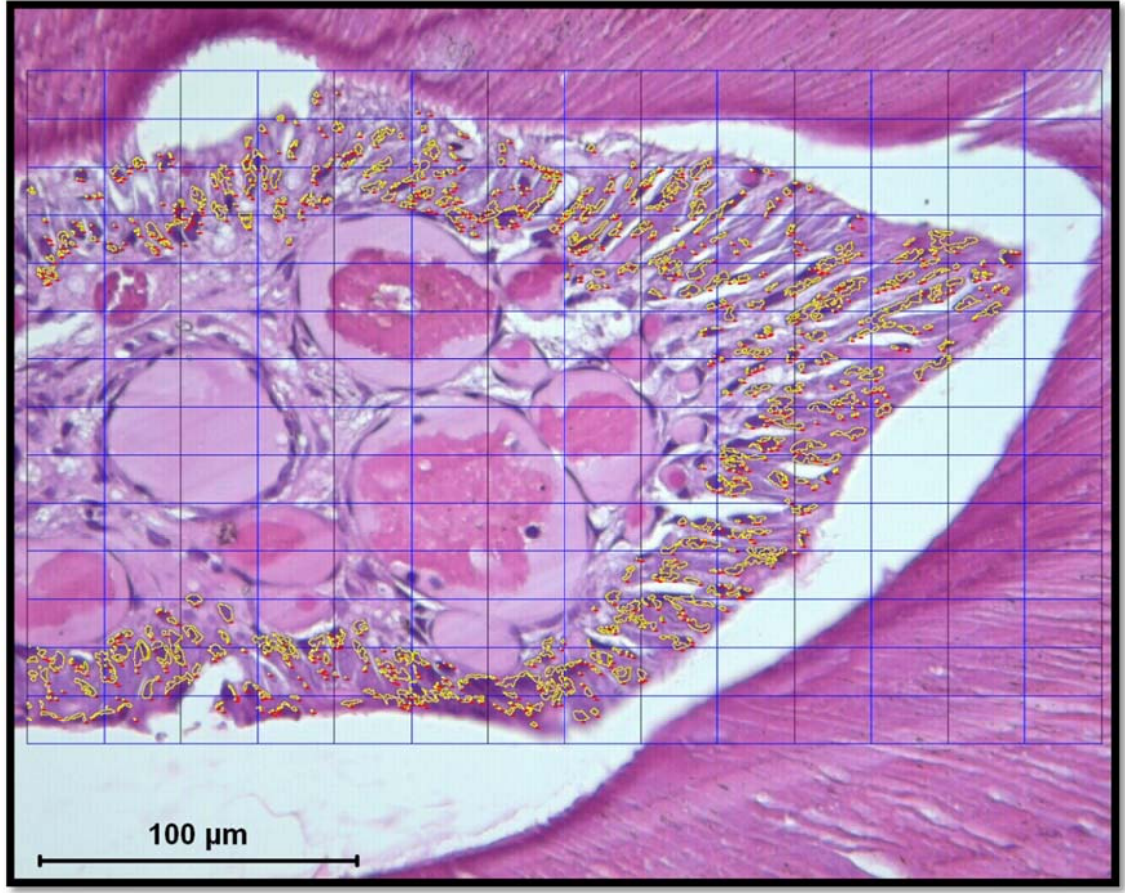


Resim 23. Leica QWin Plus v3.3.1 görüntü analizi programı

Tanecik sayım cetveli Leica QWin Plus v3.3.1 görüntü analizi programı (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Almanya) ile dijital olarak oluşturuldu. Bu cetvel 1 piksel kalınlığında grafik tipi olup, eşit bölünmüş dörtgen gridler şeklinde tasarlandı. Her bir grid X eksenini 15 piksel, Y eksenini 15 piksel olarak bölündü. Görüntü analiz programına 1 piksel gerçek değeri, 0.266 µm olarak belirlendi(Resim 24).

Monitör konumlandırılması: X eksenini 15., Y eksenini 73. Pikselden itibaren standart sabit bir konum ile bütün örnekler tanecik sayım cetveli yerleştirildi.

Tanecik sayım cetvelinin genişliği: 1274 piksel=338,7 µm, yüksekliği: 798 piksel = 212,2 µm'dir.



Resim 24. Tanecik sayım cetveli.

3.7. Kullanılan İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızın istatistiksel analizleri profesyonel olarak biyoistatistik analizi yapan uluslar arası bir şirkete yaptırıldı (Senrahatet DOO, Export Import, Skopje, Makedonya). Uygulamada Mann Whitney-U testi grup karşılaştırmalarında kullanıldı. Mann-Whitney-U testi sıra sayılarına dayanan, iki ve daha fazla örneklem arasında ortalamalar açısından fark olup olmadığını araştıran bir testtir. Bu test, bir gruptaki ortalamanın diğer gruptaki ortalamadan önemli derecede farklı olup olmadığını belirlemekte kullanıldı.

Tek yönlü ANOVA yönteminin parametrik olmayan parametrik olmayan bir yöntemi olan Kruskal Wallis testi, ikiden fazla grup karşılaştırmalarında kullanıldı.

Gözlem değeri n'nin 30'dan küçük olması durumunda, verilerin normal dağılmadığı varsayımı altında parametrik olmayan yöntemler kullanılmaktadır. Bu

araştırmada da karşılaştırma analizlerinde dikotom kodlu değişkenlerde (Nekroz ve tersiyer dentin parametrelerinde) Ki-Kare testi kullanıldı. Testin uygulanmasında anlamlılık düzeyi 0,05 olarak alındı ve test sonuçlarında elde edilen p değerleri 0,05'e göre karşılaştırıldı. Hesaplanan p değeri 0,05'den küçük ise "H₀" (H₀: ortalamalar arasında farklılık yoktur, H₁: ortalamalar arasında farklılık vardır)hipotezi ret ederek anlamlı farkın olduğu sonucuna ulaşıldı. Analizler SPSS 17 (SPSS Inc., Chicago, ABD) paket programında gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

4.1.Çalışma ve Kontrol Gruplarının Yapılan Ölçüm Değerlerine Göre Karşılaştırılması

Negatif kontrol grubuna ait olan örneklerin tümünde, normal bir pulpa dokusu izlendi. Bütün örneklerin odontoblast tabakasındaki hücreler, normal yapı ve dizilimde olup devamlılık gösterdiği görüldü. Pulpadokusunda herhangi bir kalsifikasyon veya enflamasyon bulgusuna rastlanılmadı. Bu bulgulara, pulpa dokusunda, kapiller damar proliferasyonu ve dilatasyonu izlenmemesi de eşlik ettiği görüldü. Dişlerin hiçbirinde patolojik bir bulguya rastlanılmadı(Resim 29).

Pozitif kontrol grubunda ise örneklerin tamamında nekroz ile birlikte görülen şiddetli enflamasyon izlendi. Odontoblastik tabakanın dizelenmesinin bozulduğu, pulpa bağ dokusunun ileri derecede hiperemik ve kapiller ile dolduğu görüldü(Resim 38).

Enflamasyon türü parametresinde farklı zamanlardaki çalışma ve kontrol grupları arasındaki skorlamalar değerlendirildiğinde, negatif kontrol grubuna ait hiçbir örnekte enflamasyon görülmedi (skor 0). Buna karşın herhangi bir materyal uygulaması olmaksızın kaviteleri IRM ile örtülen pozitif kontrol grubu verilerinin çoğunluğunda ise hem akut hem kronik enflamasyonun gözlemlendi(skor 3). Çalışma materyali ayrımı yapılmaksızın, inceleme zamanlarına göre örnekler değerlendirildiğinde akut enflamasyonun 7. gün örneklerinde oluştuğu gözlemlendi ($p<0.05$).

Bu duruma benzer olarak çalışma materyali ayrımı yapılmaksızın, inceleme zamanları göz önüne alındığında “enflamatuar hücre yoğunluğunun”28.gün örneklerinde,7.gün örneklerine oranla azaldığı sonucuna ulaşıldı. Negatif kontrol grubunda enflamatuar hücre yoğunluğu en az çıkarken(%96) pozitif kontrol grubunda ise en yoğun enflamatuar hücre birikimi gözlemlendi($p<0.05$). Bu parametre sonucunda çalışmada uygulanan yöntemin sağlıklı dişlerde enflamasyonun olmadığını, materyal uygulaması olmaksızın direkt örtülemenin de yüksek enflamasyona neden olabileceğini gösterdi.

Parametrelerden hiperemi değerlendirildiğinde en fazla hiperemik tablonun pozitif kontrol grubuna ait örneklerde gözleendiği ortaya çıktı. Bunun aksine negatif kontrol grubu örneklerde hipereminin en düşük değeri olan skor 1(%71) görüldü($p<0.05$). Çalışmada materyal ayrımı yapılmaksızın, inceleme zamanları göz önüne alındığında hipereminin, 28.günde enflamatuar hücre yoğunluğuna benzer olarak azaldığı tespit edildi ($p<0.05$).

Nekroz parametresi değerlendirildiğinde nekroz görülme sıklığı en fazla pozitif kontrol grubuna ait örneklerde görülürken, negatif grubuna ait örneklerin hiçbirisinde nekroza raslanılmadı. Her iki çalışma periyodu için nekroz görülme sıklığı, pozitif ve negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında aralarındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulundu($p<0.05$). Çalışmada materyal ayrımı yapılmaksızın, inceleme zamanları göz önüne alındığında nekroz 7.gün verilerinin %17'sinde oluşurken(Skor1), 28.gün verilerinin %23'ünde oluştuğu ancak istatistiksel olarak bu iki inceleme periyodu arasında materyallerden bağımsız olarak nekroz görülme sıklığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Tersiyer dentin varlığı veya görülme sıklığı parametresinde de nekroz parametresine benzer olarak kontrol grupları ile çalışma grupları arasındaki fark anlamlı bulundu. Buna göre kontrol gruplarında tersiyer dentin oluşumu görülmezken 7.gün örneklerinin %42'sinde ve 28.gün örneklerinin %58'sinde olmak üzere çalışma gruplarında tersiyer dentin gözlemlendi. Tersiyer dentin yapımı gözlenen örneklerin çoğunluğu 28.gün gruplarında sayıca arttığı gözlemlendi ($p<0.05$)(Tablo 5 ve 6).

Tablo 5 Enflamasyon parametrelerine göre frekans ve yüzde dağılımları.

	7.gün Çalışma Grupları (N=48)	28.gün Çalışma Grupları (N=48)	Negatif Kontrol Grubu (N=24)	Pozitif Kontrol Grubu (N=24)
Enflamasyon türü	Frekans-(Yüzde)			
Enflamasyon yok	9 (%19)	7 (%15)	24 (%100)	4 (%17)
Akut enflamasyon	14 (%29)	12 (%25)	-	4 (%17)
Kronik enflamasyon	10 (%21)	10 (%21)	-	3 (%13)
Hem akut hem kronik enflamasyon	7 (%15)	8 (%17)	-	11 (%46)
Enflamasyon yoğunluğu				
Hafif enflamasyon: 0-30 hücre	16 (%33)	22 (%60)	23 (%96)	-
Orta enflamasyon: 30-60 hücre	15 (%31)	11 (%23)	1(%4)	1 (%4)
Yoğun enflamasyon 60'dan fazla hücre	9 (%19)	4 (%8)	-	10 (%42)
Hiperemi				
1- 15 kan damarı	12 (%25)	15 (%31)	17 (%71)	1 (%4)
15-30 kan damarı	19 (%40)	15 (%31)	7(%29)	3 (%13)
30'dan fazla kan damarı	9 (%19)	7 (%15)	-	7 (%29)
Nekroz				
Nekroz Yok	40 (%83)	37 (%75)	24 (%100)	11 (%46)
Nekroz Var	8 (%17)	11 (%25)	-	13 (%54)
Tersiyer Dentin				
Tersiyer dentin yok	29 (%61)	20 (%42)	24 (%100)	23 (%96)
Tersiyer dentin var	19 (%39)	28 (%58)	-	1 (%4)

Tablo 6.Enflamasyon parametrelerine göre grupların karşılaştırılması.

Enflamasyon Türü	7.Gün Çalışma Grupları	N	Skor Ortalaması	Standart Sapma	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Enflamasyon Türü	7.Gün Çalışma Grupları	40	1,38	1,03	1,05	1,70
	28.Gün Çalışma Grupları	37	1,51	1,04	1,17	1,86
	Negatif Kontrol Grubu	24	0,00*	0,00	0,00	0,00
	Pozitif Kontrol Grubu	11	1,91*	0,83	1,35	2,47
Enflamasyon Yoğunluğu	7.Gün Çalışma Grupları	40	1,83	0,78	1,58	2,07
	28.Gün Çalışma Grupları	37	1,66	0,72	1,38	1,93
	Negatif Kontrol Grubu	24	1,04*	0,20	0,96	1,13
	Pozitif Kontrol Grubu	11	1,09*	0,30	0,89	1,29
Hiperemi	7.Gün Çalışma Grupları	40	1,93	0,73	1,69	2,16
	28.Gün Çalışma Grupları	37	1,78	0,75	1,53	2,03
	Negatif Kontrol Grubu	24	1,29*	0,46	1,10	1,49
	Pozitif Kontrol Grubu	11	2,18*	0,60	1,78	2,59
Nekroz	7.Gün Çalışma Grupları	48	0,40	0,50	0,16	0,64
	28.Gün Çalışma Grupları	48	0,23	0,43	0,11	0,36
	Negatif Kontrol Grubu	24	0,00*	0,00	0,00	0,00
	Pozitif Kontrol Grubu	24	0,54*	0,51	0,33	0,76
Tersiyer Dentin	7.Gün Çalışma Grupları	48	0,57	0,50	0,40	0,74
	28.Gün Çalışma Grupları	48	0,58	0,50	0,44	0,73
	Negatif Kontrol Grubu	24	0,00*	0,00	0,00	0,00
	Pozitif Kontrol Grubu	24	0,04*	0,20	-0,04	0,13

* Anlamli ($p<0.05$).

Tablo 7, 8 ve 9 da EMD grubu için grup içi ve gruplar arası karşılaştırmalar sunuldu. EMD grubunun histolojik olarak skorlarının grup içi değerlendirilmesinde, nekroz görülmeyen örneklerin çoğunluğunda akut enflamasyonun sık ortaya çıktığı gözlemlendi. 28.gün örneklerinde yeterince hiperemi ve her iki zaman periyodu için enflamatuvar hücre yoğunluğu gözlenemediği için EMD grubunun ilgili parametreleri karşılaştırılmadı ve istatistiksel bir sonuç elde edilemedi.

Hiperemi parametresinde EMD grubundaki örnekler 7. gün için daha sıklıkla birim alanda 0-30 arası kapiller ile skor ortalamaları 1.44 olarak hesaplandı.

Nekroz parametresi için EMD grubuna ait örneklerin toplam olarak 18'inde nekroz varlığı gözlemlendi. 7.gün sonuçlarında yalnızca 6 örnekte nekroza rastlanırken, 28.günde 12 örnekte izlendi ve ikinci gözlem periyodunda daha fazla örnekte nekroz görüldüğü belirlendi. Bu durum EMD grubu uygulanan örneklerde grup içi karşılaştırmalarında anlamlı farklılığın olduğu sonucuna ulaşıldı($p<0.05$).

Tersiyer dentin parametresi için EMD uygulanmış toplam 20 örneğin, 7. günde 8'inde, 28. günde 12'sinde tersiyer dentin varlığı izlendi. Bu durumda zaman artışına bağlı olarak tersiyer dentin görülme sıklığında artış bulundu(Şekil 3). Resim 31, Resim 32 ve Resim 37 de EMD grubu örneklerinin karakteristik bulgularına ait görüntüler yer almaktadır.

Tablo 7. EMD grubunun 7.gün ve 28.gün istatistikleri.

		N	Skor ortalaması	Standart Sapma	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Enflamasyon Türü	7.gün	10	1,30	0,95	0,62	1,98
	28.gün	8	1,25	0,89	0,51	1,99
	Toplam	18	1,28	0,92	0,51	1,99
Hiperemi	7.gün	9	1,44	0,53	1,04	1,85
	28.gün	0	-	-	-	-
	Toplam	9	1,44	0,53	1,04	1,85
Nekroz	7.gün	6	0,33	0,52	-0,21	0,88
	28.gün	12	0,33	0,49	0,02	0,65
	Toplam	18	0,33	0,50	-0,21	0,88
Tersiyer Dentin	7.gün	8	0,50	0,53	0,05	0,95
	28.gün	12	0,58	0,51	0,26	0,91
	Toplam	20	0,54	0,52	0,05	0,95

Tablo 8. EMD grubunun negatif kontrol grubu ile karşılaştırılması.

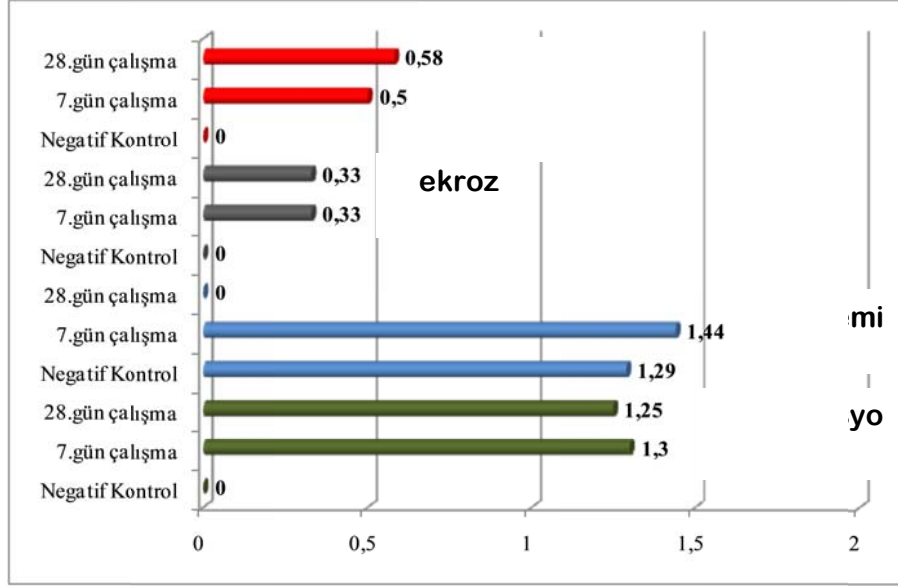
	Enflamasyon türü	Hiperemi	Nekroz	Tersiyer Dentin
Test İstatistiği	12,23	0,17	2,56	5,63
Serbestlik Derecesi	2	1	2	2
p Değeri	0,00	0,68	0,28	0,06

*Kruskal-Wallis Testi

Tablo 9. EMD grubunun ikili grup karşılaştırması.

	Test İstatistiği*	p Değeri
7.gün EMD- Negatif Kontrol	-3.21	-2.97
28.gün EMD- Negatif Kontrol	0.00	0.00

*Mann-Whitney U Testi



Şekil3. EMD grubu enflamasyon parametrelerine göre grup ortalamaları.

Tablo 10 da TZP grubunun enflamasyon türü, enflamasyon yoğunluğu, hiperemi, nekroz ve tersiyer dentin parametrelerine göre 7.gün ve 28.gün istatistikleri ile Tablo 11 ve Tablo12 de kontrol grubuna ait karşılaştırmaları gösterilmektedir. Buna göre TZP grubunun histolojik olarak skorlarının grup içi değerlendirilmesinde, nekroz görülmeyen örneklerin çoğunluğunda 7. günde akut enflamasyonun sıklıkla gözlemlendiği ancak 28.günde kronik enflamasyonun daha fazla gözlemlendiği tespit edildi. Bu iki zaman periyodu arasında enflamasyon türü açısından farklılık anlamlı bulundu($p<0.05$).

Enflamasyon türü 7.gün ve 28.gün örneklerinde farklılık gösterirken bu farklılık enflamasyonun şiddetinde de ortaya çıktı. 7.güne ait verilerin analizleri sonucunda “şiddetli enflamasyon” ortaya çıkarken, 28. güne ait örneklerde enflamatuar hücre sayısının azalmasına bağlı olarak enflamasyonun şiddetinin de büyük bir azalma gözlemlendi($p<0.05$).

Enflamasyon parametrelerinde zamana bağlı bu değişiklerin bir benzeri de hiperemi parametresi için gözlemlendi. 7. ve 28.gün sonuçları incelendiğinde zamanla örneklerde hipereminin azaldığı ortaya çıkarıldı($p<0.05$).

Nekroz parametresi için TZP grubuna ait örneklerin toplam olarak 15’inde nekroz varlığı gözlemlendi. 7.gün sonuçlarında yalnızca 11(%50) örnekte nekroza

rastlanırken, 28.günde yalnızca 4(%18) örnekte izlendi ve 28.gün gözlem periyodunda daha az örnekte nekroz görüldüğü belirlendi. Bu durum TZP grubu uygulanan örneklerde grup içi karşılaştırılmalarında anlamlı farklılığın olduğu sonucu gösterdi($p<0.05$).

Tersiyer dentin parametresi için TZP uygulanmış toplam 21 örneğin, 7. günde 9’unda, 28. günde 12’sinde tersiyer dentin varlığı izlendi. Bu durum TZP uygulanan örneklerin tersiyer dentin yapımının zamanla arttığı sonucunu ortaya koydu(Şekil 4).

Resim 30 ve Resim 36 de TZP grubu örneklerinin karakteristik bulgularına ait görüntüler yer almaktadır.

Tablo 10. TZP grubunun 7.gün ve 28.gün istatistikleri.

		N	Skor Ortalaması	Standart Sapma	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Enflamasyon Türü	7.gün	9	1.22	0.97	0.48	1.97
	28.gün	10	1.70	1.06	0.94	2.46
	Toplam	19	1.47	1.02	0.98	1.97
Enflamasyon yoğunluğu	7.gün	10	2.60	0.70	2.10	3.10
	28.gün	10	1.80	0.79	1.24	2.36
	Toplam	20	2.20	0.83	1.81	2.59
Hiperemi	7.gün	10	2.20	0.79	1.64	2.76
	28.gün	8	1.88	0.83	1.18	2.57
	Toplam	18	2.06	0.80	1.66	2.45
Nekroz	7.gün	11	0.50	0.58	-0.42	1.42
	28.gün	4	0.18	0.40	-0.09	0.45
	Toplam	15	0.27	0.46	0.01	0.52
Tersiyer Dentin	7.gün	9	0.56	0.53	0.15	0.96
	28.gün	12	0.50	0.52	0.17	0.83
	Toplam	21	0.52	0.51	0.29	0.76

Tablo 11. TZPerken ve geç dönem gruplarının enflamasyon türü ve enflamasyon yoğunluğu, parametrelere göre kendi içinde ikili karşılaştırması

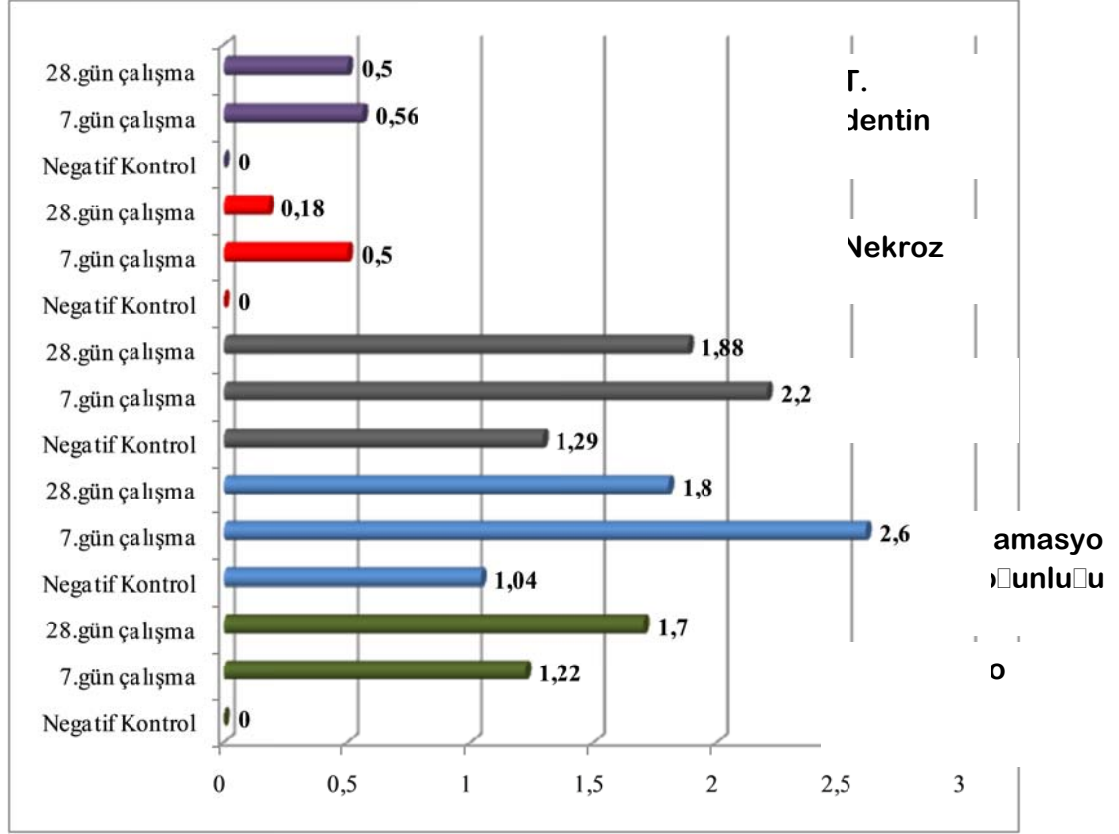
	Test İstatistiği*	p Değeri
Enflamasyon türü		
7.gün TZP - Negatif Kontrol	-2.45	0.01
28.gün TZP- Negatif Kontrol	-2.83	0.00
Enflamasyon yoğunluğu		
7. gün TZP - Negatif Kontrol	-2.98	0.00
28.gün TZP - Negatif Kontrol	-1.71	0.09

*Mann-Whitney U Testi

Tablo 12. TZP grubunun ikili grup karşılaştırması.

	Enflamasyon Türü	Enflamasyon yoğunluğu	Hiperemi	Nekroz	Tersiyer Dentin
Test İstatistiği	9,27	10,69	4,42	3,72	5,17
Serbestlik Derecesi	2	2	2	2	2
P Değeri	0,01	0,00	0,11	0,16	0,08

*Kruskal-Wallis Testi



Şekil 4. TzP grubu enflamasyon parametrelerine göre grup ortalamaları.

Tablo 13'te MTA grubu için enflamasyon türü, enflamasyon yoğunluğu, hiperemi, nekroz ve tersiyer dentin parametrelerine göre betimleyici istatistikleri ile tablo 14'te kontrol grubuna ait karşılaştırmalar gösterilmektedir. MTA grubunun histolojik olarak skorlarının grup içi değerlendirilmesinde, nekroz görülmeyen örneklerin çoğunluğunda 7. günde akut enflamasyonun sıklıkla gözlemlendiği ancak 28.günde kronik enflamasyonun daha fazla gözlemlendiği tespit edildi. Bu iki zaman periyodu arasında enflamasyon türü açısından farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

MTA grubunun 7. ve 28.gün örneklerinin enflamasyon yoğunluğu göz önüne alınarak değerlendirildiğinde her iki zaman diliminde de orta şiddetli bir enflamasyonun hüküm sürdüğü belirlendi. Dolayısıyla MTA grubunun enflamasyon şiddeti zamana bağlı olarak örneklerde değişiklik göstermedi ve istatistiksel anlamlı bir fark oluşmadı.

MTA grubunun geç dönem sonuçları hiperemi açısından erken dönem sonuçlarına göre bir miktar artış gösterse de bu farklılık aynı enflamasyon şiddetinde olduğu gibi istatistiksel anlamlı bir düzeye ulaşmadı.

Nekroz parametresi için MTA grubuna ait örneklerin toplam olarak 19'unda nekroz varlığı gözlendi. 7.gün sonuçlarında yalnızca 7 örnek(%14) nekroza rastlanırken, 28.günde yalnızca 12 örnek(%17) izlendi. Yapılan incelemede MTA grubunun erken ve geç dönem sonuçları karşılaştırıldığında nekroz oluşan örneklerin frekanslarında bir değişiklik gözlemlenmedi. Ancak bütün gruplar için erken dönem(7.gün) sonuçları nekroz açısından değerlendirildiğinde MTA, diğer materyallere göre en düşük nekroz gözlenen grup olduğu belirlendi($p<0.05$).

Tersiyer dentin parametresi için MTA uygulanmış toplam 19 örneğin, 7. günde 7'sinde, 28. günde 12'sinde tersiyer dentin varlığı izlendi. Bu durum MTA'nın zamanla tersiyer dentin oluşumunu arttırdığını gösterdi (şekil 5).

Resim 25, Resim 26, Resim 27 ve Resim 35'te MTA grubu örneklerinin karakteristik bulgularına ait görüntüler yer almaktadır.

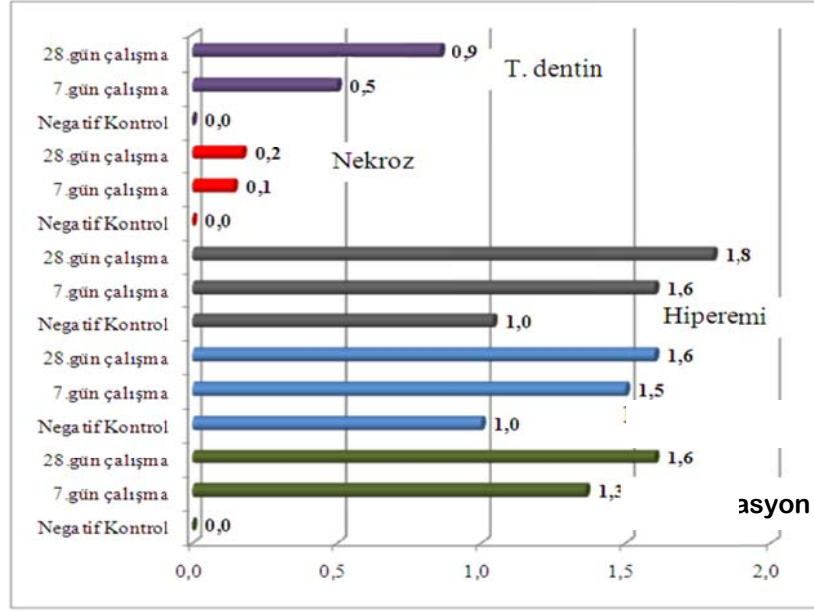
Tablo 13.MTA grubunun 7.ve 28.gün istatistikleri.

		N	Skor ortalaması	Standart Sapma	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Enflamasyon Türü	7.gün	11	1,36	1,21	0,55	2,17
	28.gün	10	1,60	1,26	0,70	2,50
	Toplam	21	1,48	1,21	0,93	2,03
Enflamasyon yoğunluğu	7.gün	8	1,50	0,53	1,05	1,95
	28.gün	10	1,60	0,70	1,10	2,10
	Toplam	18	1,56	0,62	1,25	1,86
Hiperemi	7.gün	10	1,60	0,70	1,10	2,10
	28.gün	10	1,80	0,79	1,24	2,36
	Toplam	20	1,70	0,73	1,36	2,04
Nekroz	7.gün	7	0,14	0,38	-0,21	0,49
	28.gün	12	0,17	0,39	-0,08	0,41
	Toplam	19	0,16	0,37	-0,02	0,34
Tersiyer Dentin	7.gün	7	0,50	0,38	0,51	1,21
	28.gün	12	0,86	0,52	0,17	0,83
	Toplam	19	0,63	0,50	0,39	0,87

Tablo 14. MTA grubunun ikili karşılaştırması.

	Test İstatistiği	p Değeri
Enflamasyon Türü		
7.gün MTA- Negatif Kontrol	-2,38	0,02
28.Gün MTA- Negatif Kontrol	-2,53	0,01
Tersiyer Dentin		
7.gün MTA- Negatif Kontrol	-2,97	0,00
28.gün MTA- Negatif Kontrol	-2,06	0,04

*Mann-Whitney U Testi



Şekil 5. MTA grubu enflamasyon parametrelerine göre grup ortalamaları.

Tablo 15’de KH grubu için enflamasyon türü, enflamasyon yoğunluğu, hiperemi, nekroz ve tersiyer dentin parametrelerine göre betimleyici istatistikler ile tablo 16’da kontrol grubuna ait karşılaştırmaları gösterildi. Ortalama değerler incelendiğinde diğer grupların aksine KH grubu 7.gün ve 28.gün skor ortalamaları birbirine çok yakın çıktığı görüldü.

KH grubunun histolojik olarak skorlarının grup içi değerlendirilmesinde, nekroz görülmeyen örneklerin çoğunluğunda 7. ve 28. günlerde akut enflamasyonun sıklıkla gözlemlendiği ve bu iki zaman periyodu arasında enflamasyon türü açısından anlamlı bir farklılık görülmediği saptandı.

Buna karşın enflamatuvar hücre yoğunluğunda 7.güne ve 28.güne ait verilerin değerlendirilmesi sonucu “hafif-orta şiddetli enflamasyon” bulundu. Her iki döneme ait incelemelerde enflamatuvar hücre sayısı için birbirlerine yakın değerler elde edildi.

Hiperemi açısından KH grubunun erken ve geç dönem sonuçlarında birbirine oldukça yakın skorlar elde edildi. Örneklerin büyük bir çoğunluğunda birim alanda 30-60 arası kapiller damar (skor 2) saptandı.

Nekroz parametresi için KH grubuna ait örneklerin toplam olarak 21’inde nekroz varlığı gözlemlendi. 7.gün sonuçlarında 12 örnekte (%27) nekroza rastlanırken,

28.günde 11 örnekte(%25) nekroz izlendi. Grup içinde erken ve geç dönem nekroz frekanslarının birbirine yakın görülmesine rağmen, diğer materyal grupları ile karşılaştırıldığında EMD ve TZP gruplarının erken dönemde daha az nekroz görüldüğü gözlemlendi (p<0.05). Buna karşın MTA grubuna göre KH grubunda daha fazla örnekte nekroza raslandı.

Tersiyer dentin parametresi için KH uygulanmış toplam 23 örneğin, 7. günde 11'inde, 28. günde 12'sinde tersiyer dentin varlığı izlendi. Bu durumda zaman artışına bağlı olarak tersiyer dentin görülme sıklığında artış bulundu ancak farklılık anlamlı bulunmadı (Şekil 6). Resim 28, Resim 33 ve Resim 34 da KH grubu örneklerinin karakteristik bulgularına ait görüntüler yer almaktadır.

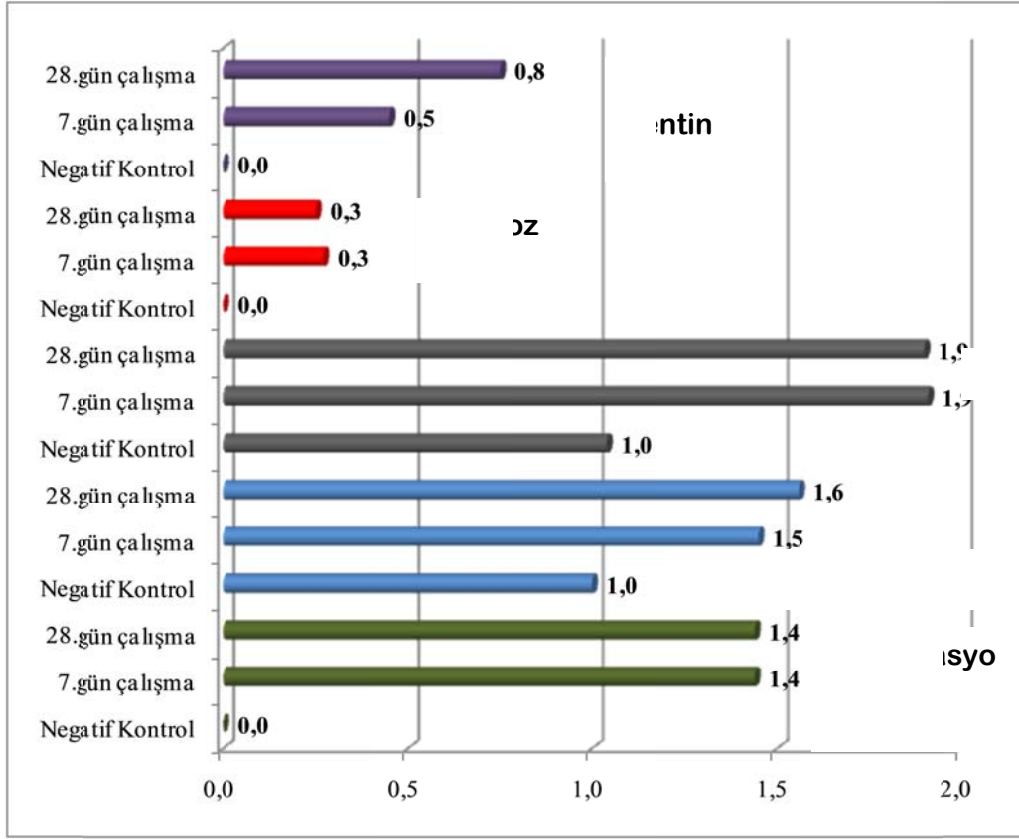
Tablo 15. KH grubunun 7. ve 28.gün istatistikleri.

		N	Skor	Standart	95% Güven Aralığı	
			Ortalaması	Sapma	Alt Sınır	Üst Sınır
Enflamasyon Türü	7.gün	9	1,44	1,01	0,67	2,22
	28.gün	9	1,44	1,01	0,67	2,22
	Toplam	18	1,44	0,98	0,96	1,93
Enflamasyon yoğunluğu	7.gün	11	1,45	0,52	1,10	1,81
	28.gün	9	1,56	0,73	1,00	2,11
	Toplam	20	1,50	0,61	1,22	1,78
Hiperemi	7.gün	11	1,91	0,70	1,44	2,38
	28.gün	10	1,90	0,74	1,37	2,43
	Toplam	21	1,90	0,70	1,59	2,22
Nekroz	7.gün	11	0,27	0,47	-0,04	0,59
	28.gün	12	0,25	0,45	-0,04	0,54
	Toplam	23	0,26	0,45	0,07	0,46
Tersiyer Dentin	7.gün	11	0,45	0,52	0,10	0,81
	28.gün	12	0,75	0,45	0,46	1,04
	Toplam	23	0,61	0,50	0,39	0,82

Tablo 16. KH grubunun ikilikarşılaştırması.

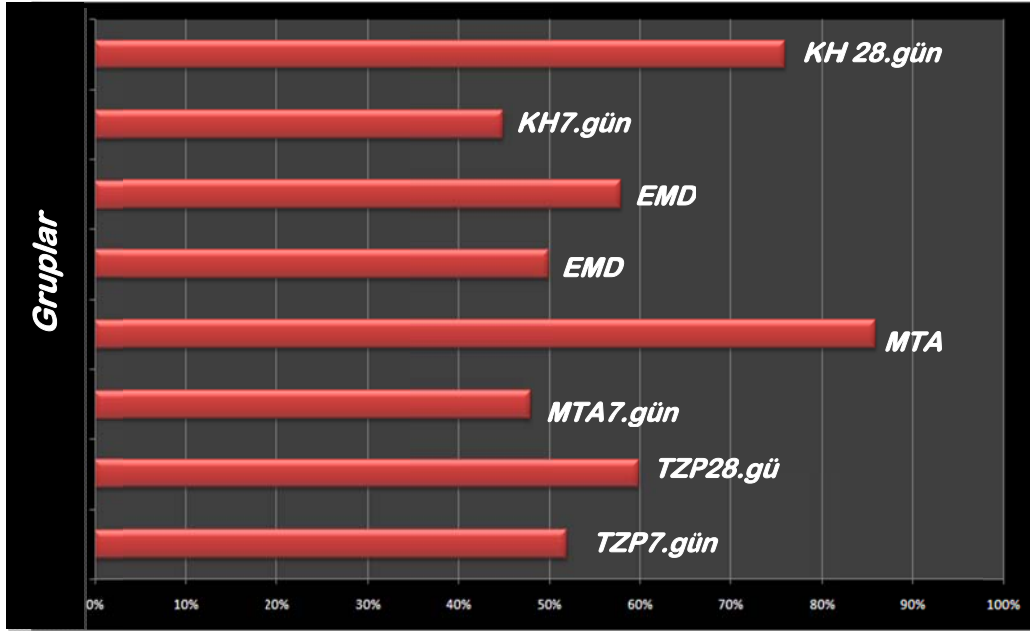
	Test İstatistiği	p Değeri
Enflamasyon türü		
7.gün KH - Negatif Kontrol	-3,05	0,00
28.Gün KH- Negatif Kontrol	-3,05	0,00
Tersiyer Dentin		
7.günKH- Negatif Kontrol	-1,91	0,06
28.Gün KH- Negatif Kontrol	-2,92	0,00

*Mann-Whitney U Testi



Şekil 6. KH grubu enflamasyon parametrelerine göre grup ortalamaları.

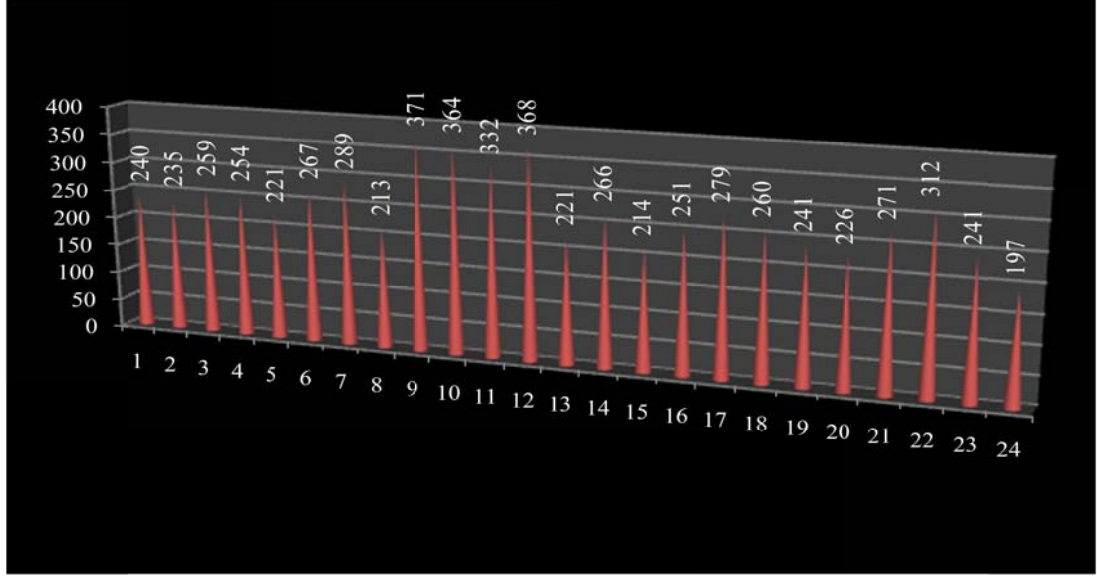
DPK'da kullanılan bütün materyal gruplarının erken ve geç dönem örneklerinde tersiyer dentin oluşunda farklılıklar olduğu gözlemlendi(Şekil 7). Oluşan bu farklılığın istatistiksel anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.05$). Materyal grupları erken dönem sonuçlarının tersiyer dentin oluştuğu örnekler incelendiğinde materyaller arasında belirgin bir fark oluştuğu gözlemlenemedi. Ancak materyal gruplarının geç dönemde tersiyer dentin oluşan örneklerinin sayılarında belirgin bir fark oluştuğu gözlemlendi. Bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$). Bunun için daha ayrıntılı ikili grup karşılaştırmaları gerçekleştirildi. Buna göre MTA ve KH gruplarının 28.günde, EMD ve TZP gruplarına göre anlamlı derecede farklılaştığı görüldü($p<0.05$).



Şekil 7. Gruplara göre tersiyer dentin görülme sıklığı gösterilmektedir.

4.2.GruplaraGöre Odontoblast Sayı Dağılımları

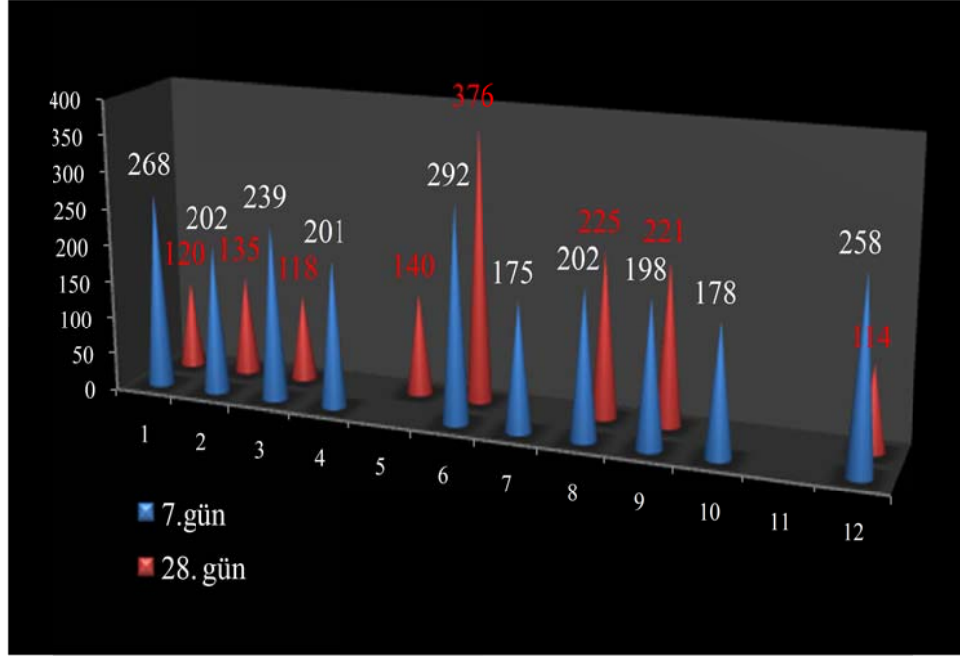
Şekil 8 de sağlıklı dişlerden oluşan negatif kontrol grubuna ait odontoblast(primer odontoblast) sayılarının dağılımı verilmektedir.



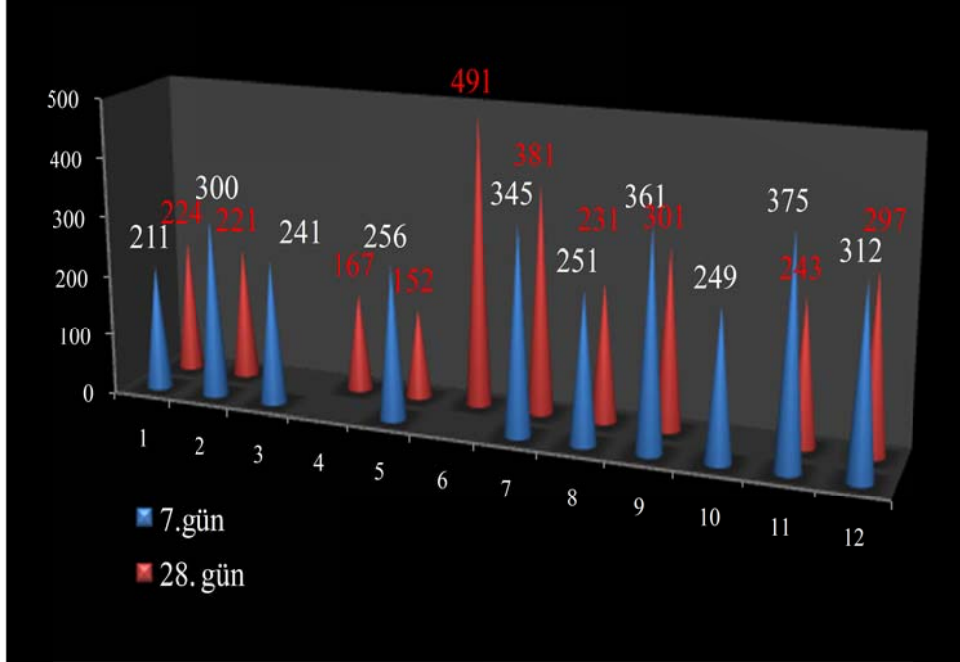
Şekil 8. Negatif kontrol grubuna ait odontoblast sayıları.

Şekil 9, Şekil10, Şekil 11 ve Şekil 12’de materyal gruplarına göre 7. ve 28. Günodontoblast benzeri hücre sayılarının dağılımı verilmiştir. Görüldüğü üzere odontoblast sayısı EMD 28.gün grubundaki 6. 8. ve 9. örneklerindediğer örneklere göre daha yüksek değerlere ulaştığı saptandı.

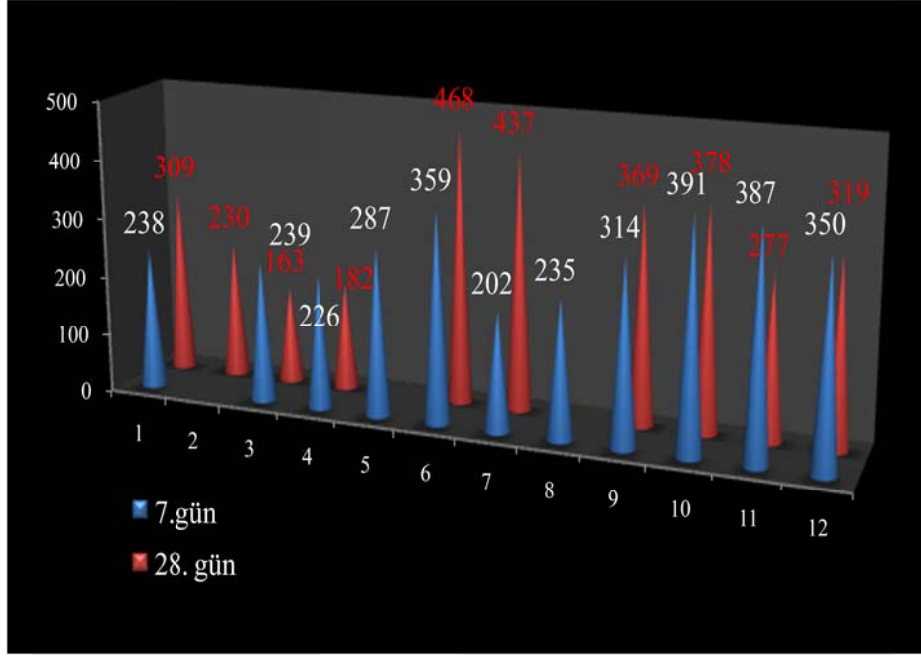
Tablo 17’de materyal gruplarına göre odontoblast benzeri hücre sayılarına ait betimleyici istatistikleri yer almaktadır. Tabloda uygulanan materyallere göre oluşan odontoblast benzeri hücre sayısına ait istatistikler gruplandırıldı. Öncelikle negatif kontrol grubuna ait istatistikler verildi. Negatif kontrol grubu odontoblast sayısı ortalaması 266,33 olarak elde edildi. Bütün uygulanan materyal gruplarında görüldüğü gibi TZP ve EMD gruplarında da geç dönemde daha yüksek odontoblast benzeri hücre ortalamalarına sahip olduğu saptandı. Genel olarak MTA grubu ortalamaları diğer gruplara göre en yüksek ortalamaya sahip olduğu görüldü. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. KHgrubunda ise her iki zamana ait odontoblast benzeri hücre ortalamaları birbirine yakın olarak elde edildi.



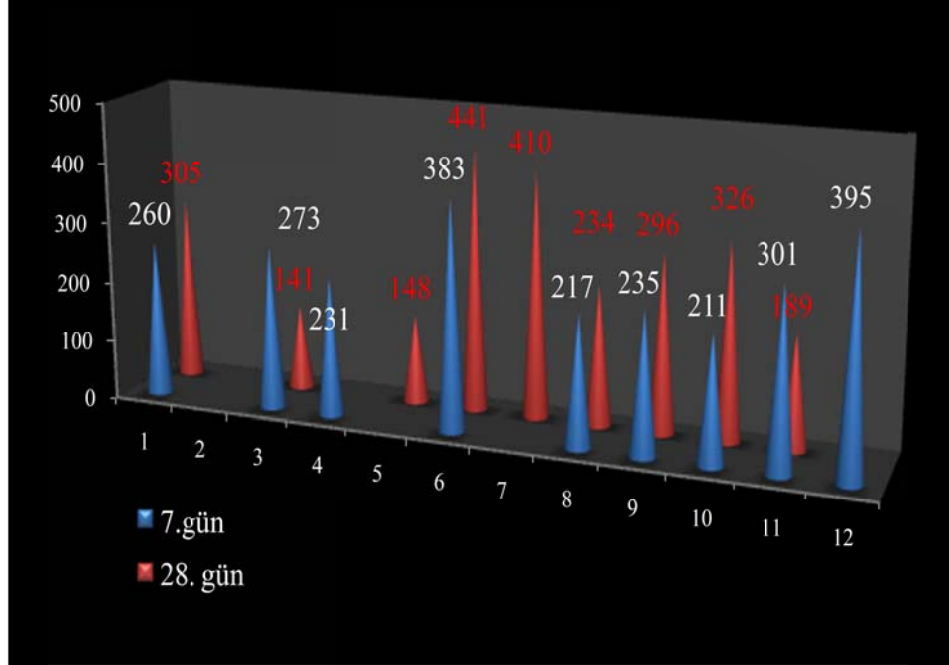
Şekil 9. EMD gruplarına göre odontoblast benzeri hücre sayıları.



Şekil 10. TZP gruplarına göre odontoblast benzeri hücre sayıları.



Şekil 11. MTA gruplarına göre odontoblast benzeri hücre sayıları.



Şekil 12. KH gruplarına göre odontoblast benzeri hücre sayıları.

Tablo 17. Gruplara göre odontoblast sayısı dağılımı.

		N	Odontoblast SayıOrtalaması	Standart Sapma	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Negatif Kontrol		24	266,33	50,00		
EMD	7.gün*	10	181,13	40,22	192,53	250,07
	28.gün	8	221,30	90,66	105,33	256,92
	Toplam	18	203,44	68,29	169,49	237,40
TZP	7.gün	10	270,80	56,64	249,58	330,62
	28.gün	10	290,10	102,28	197,64	343,96
	Toplam	20	280,45	81,07	242,51	318,39
MTA	7.gün	11	293,45	69,71	246,62	340,29
	28.gün	10	313,20	102,56	239,84	386,56
	Toplam	21	302,86	85,23	264,06	341,66
KH	7.gün	9	278,44	68,79	225,57	331,32
	28.gün	9	276,67	107,74	193,85	359,48
	Toplam	18	277,56	87,69	233,95	321,16

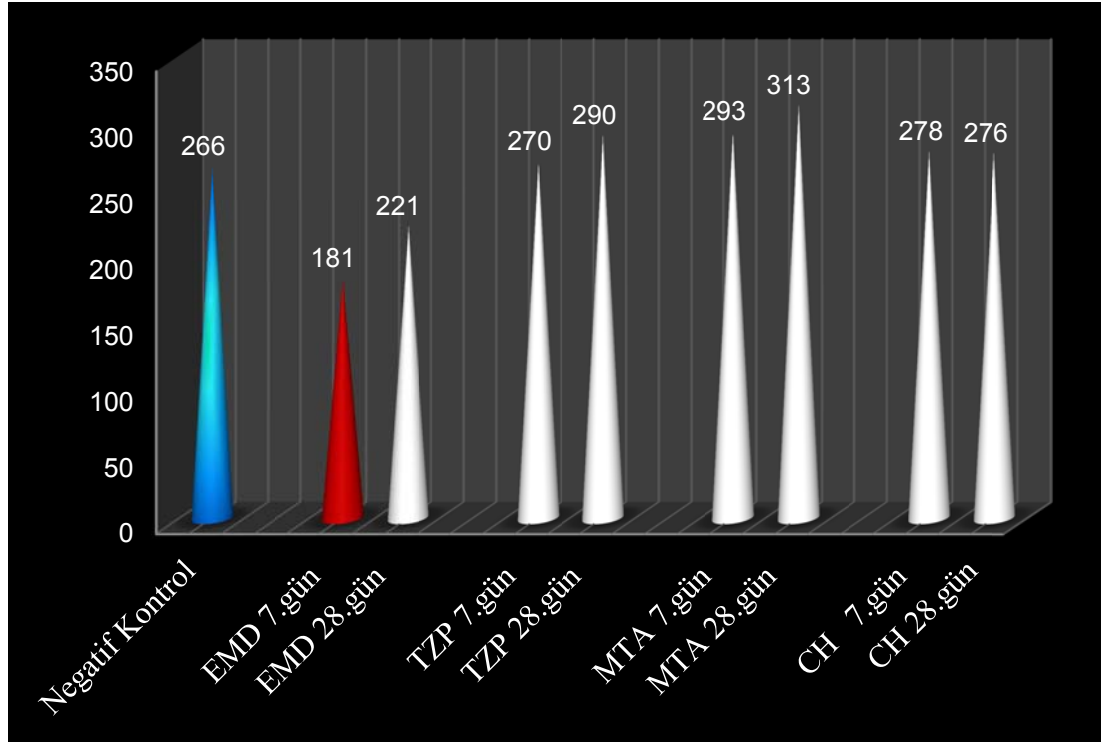
Tablo 18’de kullanılan materyal gruplarına göre 7.gün, 28.gün ve negatif kontrol gurubuna ait odontoblast benzeri hücre sayı sonuçları farklılaşma analiz sonuçları sunuldu. Tablodan anlaşılacağı üzere, sadece EMD materyali kullanımında 7. gün değerlendirmesi sonucunda gruplar arası farklılaşma elde edildi ($p < 0,05$). Diğer materyaller için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma elde edilmedi.

Tablo 18.Odontoblast benzeri hücre sayısının farklılaşma analizi.

	EMD	TZP	MTA	KH
Test İstatistiği*	12,121	0,180	3,045	0,04
p Değeri	0,00	0,91	0,22	0,98

*Kruskal Wallis Testi

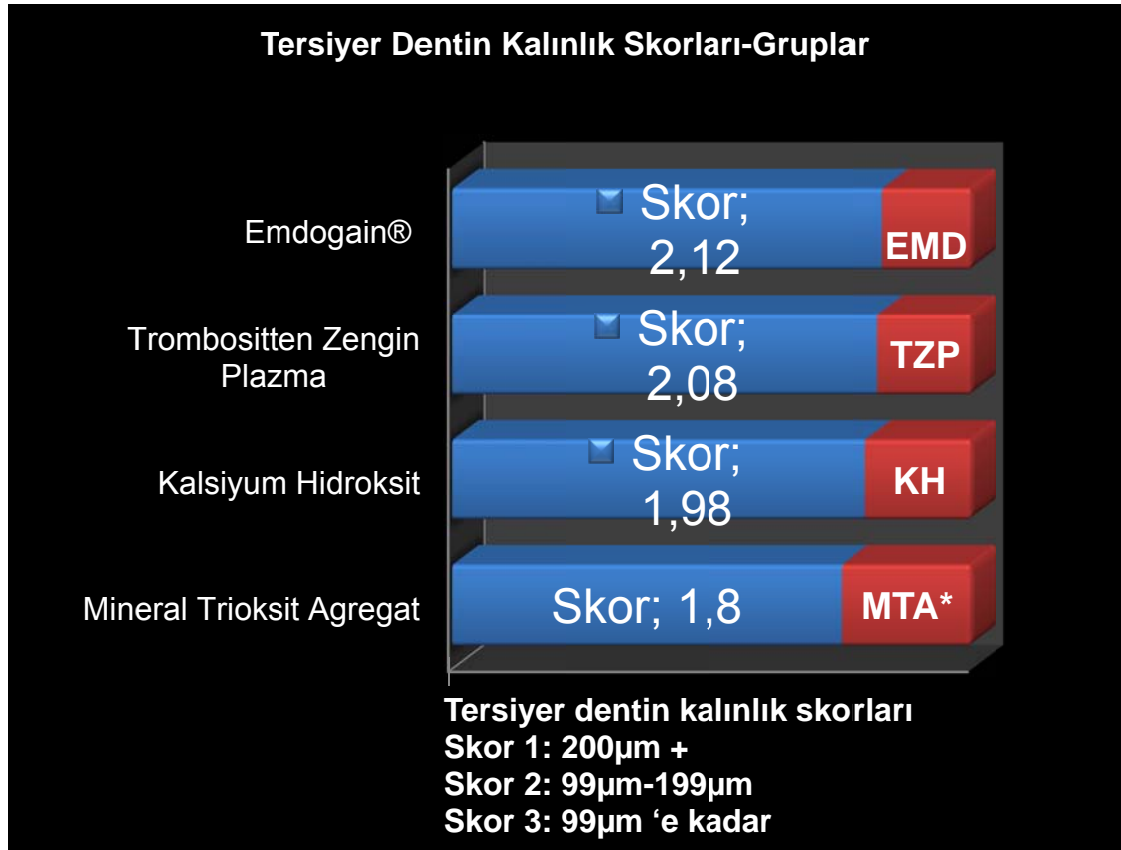
Şekil 13 de her bir uygulanan materyal ile gruplar arası odontoblast benzeri hücre sayı ortalamalarını vermektedir. İlk sırada olan negatif kontrol grubuna ait odontoblast sayı ortalamasıdır, 266 olarak elde edildi. Görüldüğü üzere EMD grubu 7. gün sonuçları dışında diğer gruplar için odontoblast benzeri hücre sayı ortalamaları, negatif kontrol grup ortalamasından daha yüksek olarak elde edildi. Kruskal Wallis analizinde de sadece EMD 7. gün grubu için gruplar arası farklılaşma elde edildi, grafiksel gösterim de bu bulgu desteklendi.



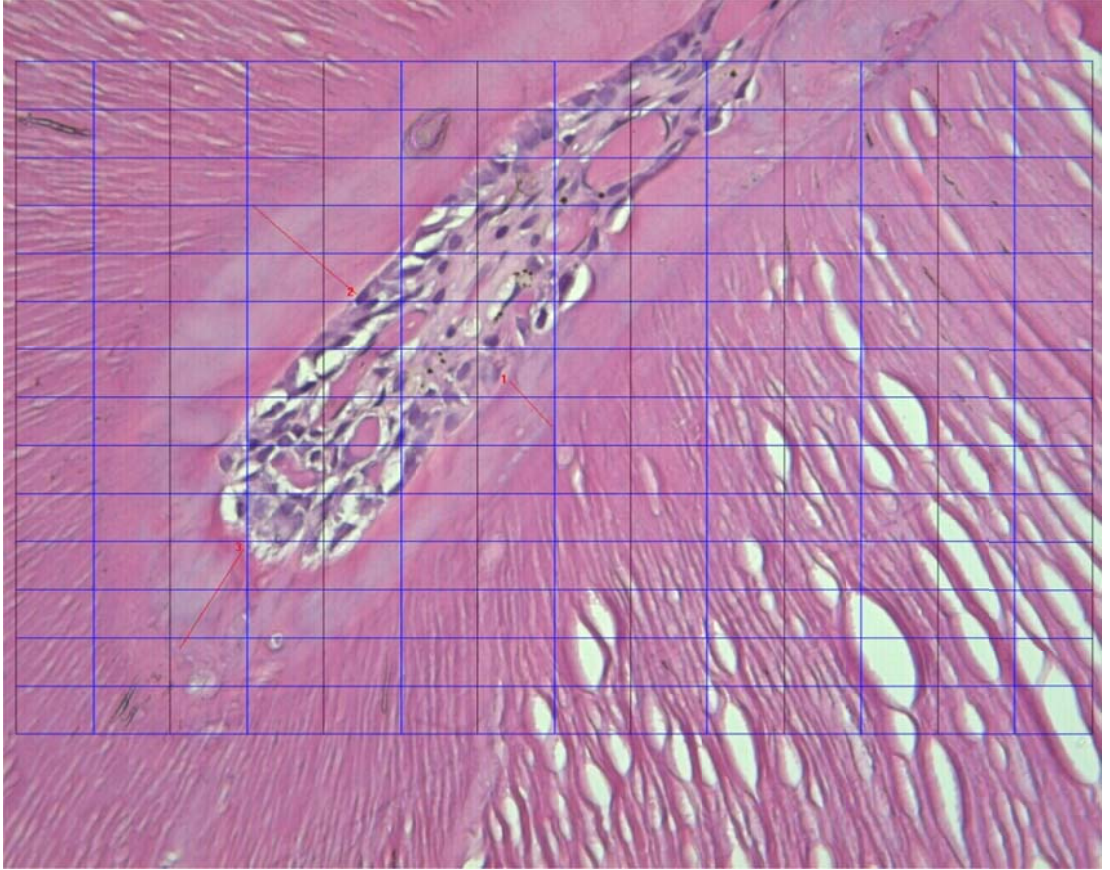
Şekil 13. Gruplara göre odontoblast sayı ortalamaları.

4.3. GruplaraGöre Tersiyer Dentin Kalınlığı Dağılımları

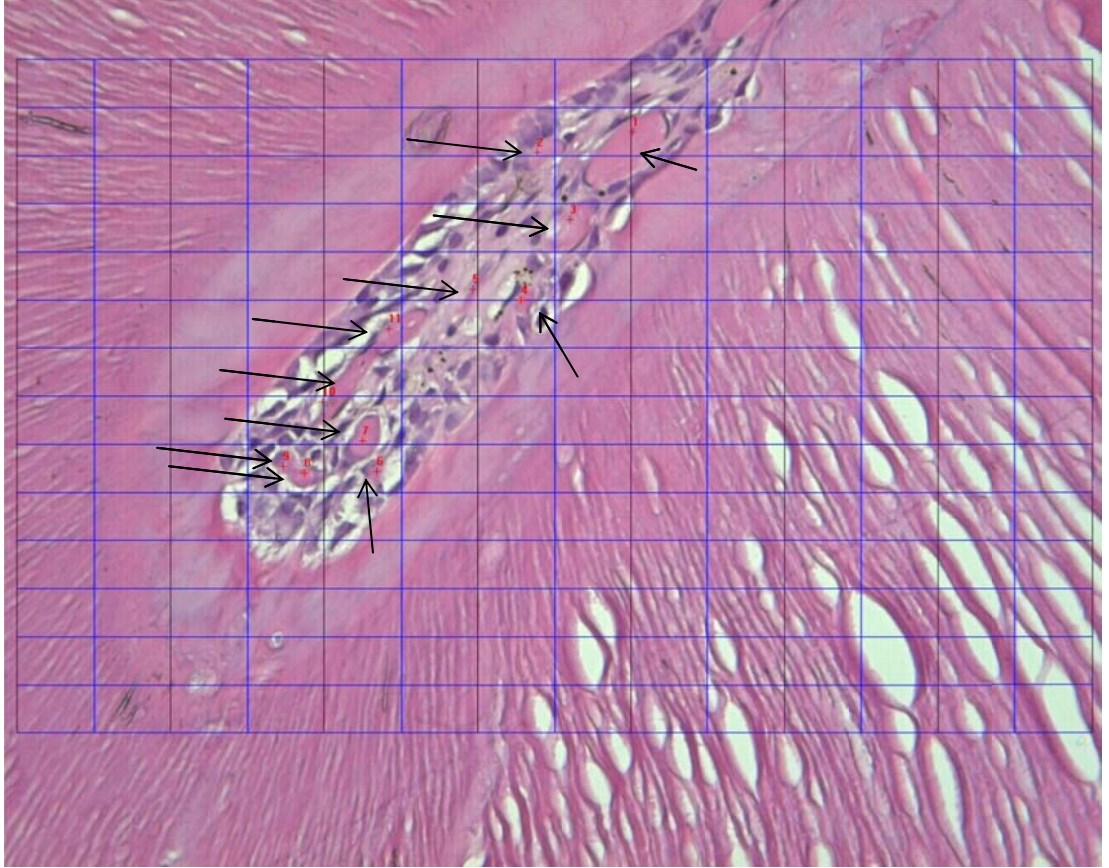
Bütün gruplarda tersiyer dentin oluşumu görülen örneklerin tersiyer dentin kalınlıkları histomorfometrik olarak ölçüldükten skorlandı. MTA grubundaki örneklerin çoğunda tersiyer dentin kalınlığı skor 1(200µmdan fazla) ve skor 2(99µm-199µm)olarak hesaplandı. EMD ve TZP gruplarındaki örneklerde sıklıkla skor 2 ve skor 3(99µm den az) görülmesine rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0.14). Bununla birlikte EMD ve TZP gruplarının her ikisi de tersiyer dentin kalınlıkları skor ortalamaları MTA grubundan istatistiksel anlamlı olarak farklılaştığı görüldü (p<0.05).KH grubundaki örneklerin tersiyer dentin kalınlık ortalamaları MTA grubu ortalamalarından daha düşük olmakla birlikte, TZP ve EMD grubu örneklerle göre daha yüksek değerde olduğu, ancak farkın anlamlı olmadığı hesaplandı(Şekil 14).



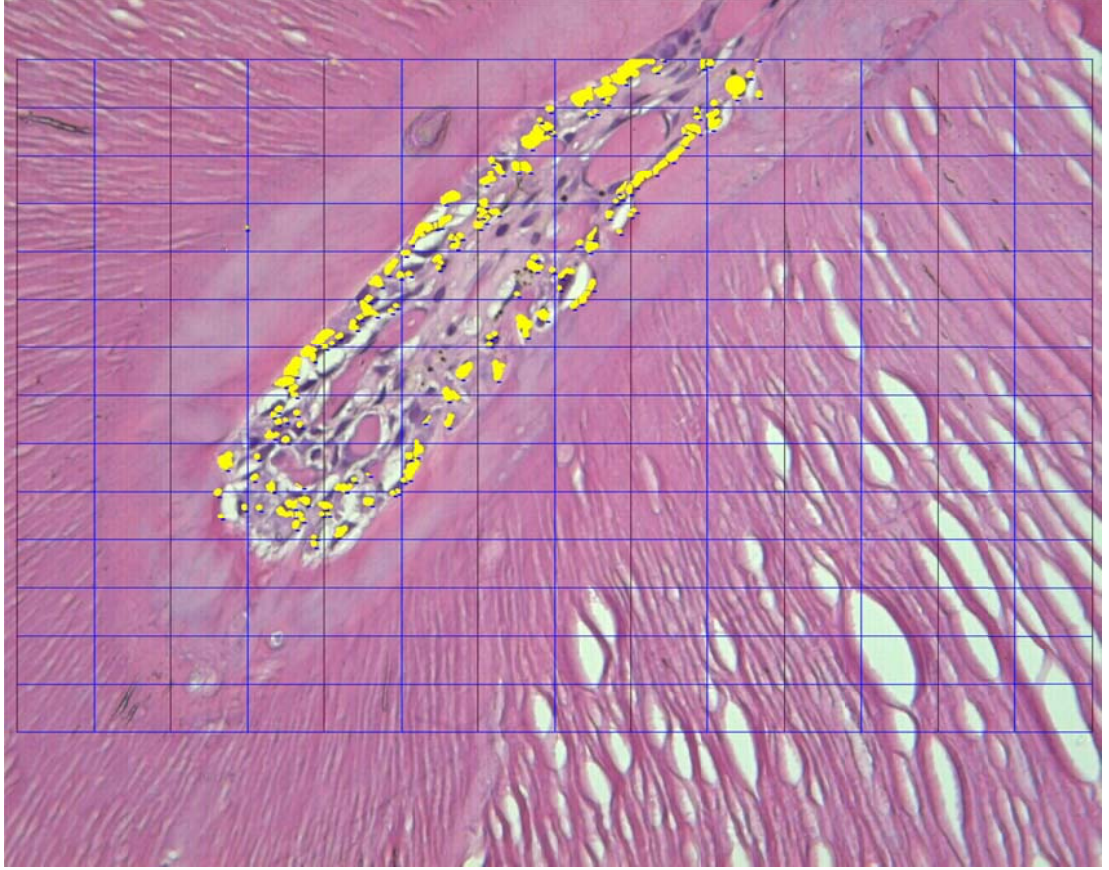
Şekil 14. Tersiyer dentin kalınlık skorlarının ortalamaları.



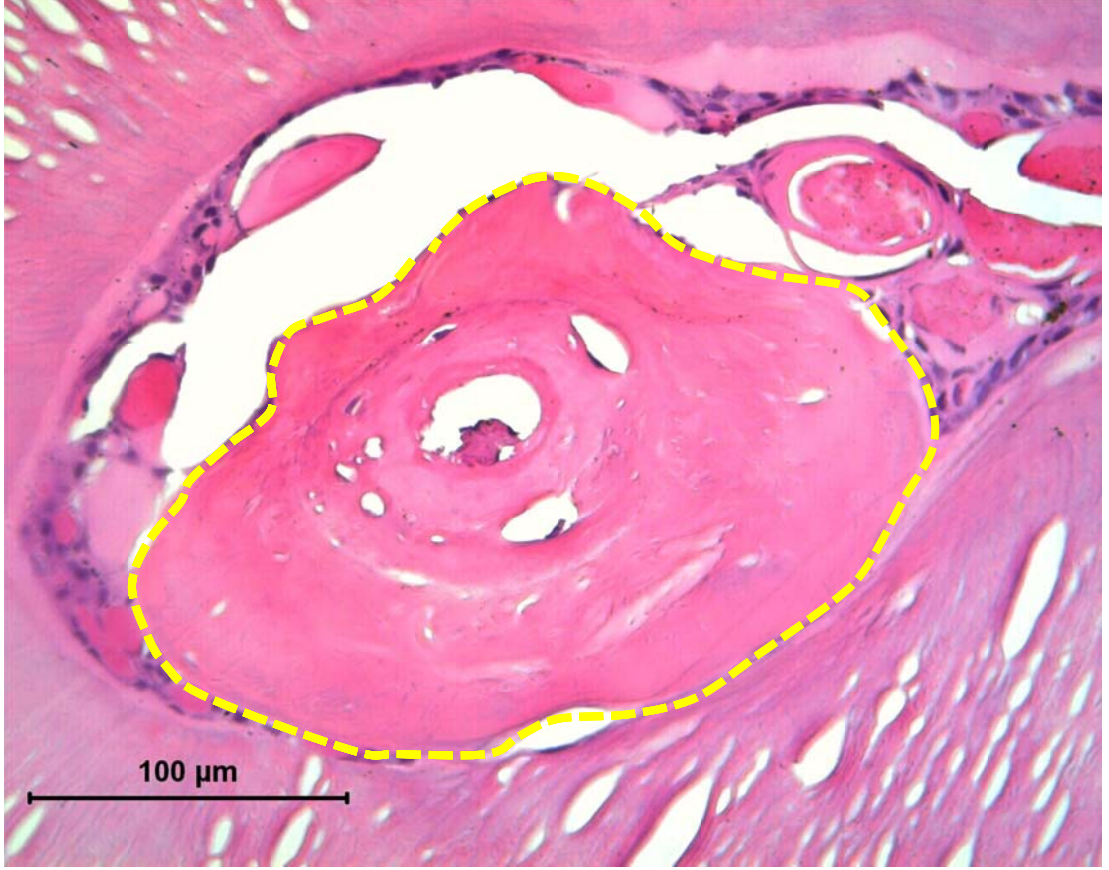
Resim 25. MTA 28.güne ait 1. örneğin histolojik kesiti. (Hematoksilen&Eozinboyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



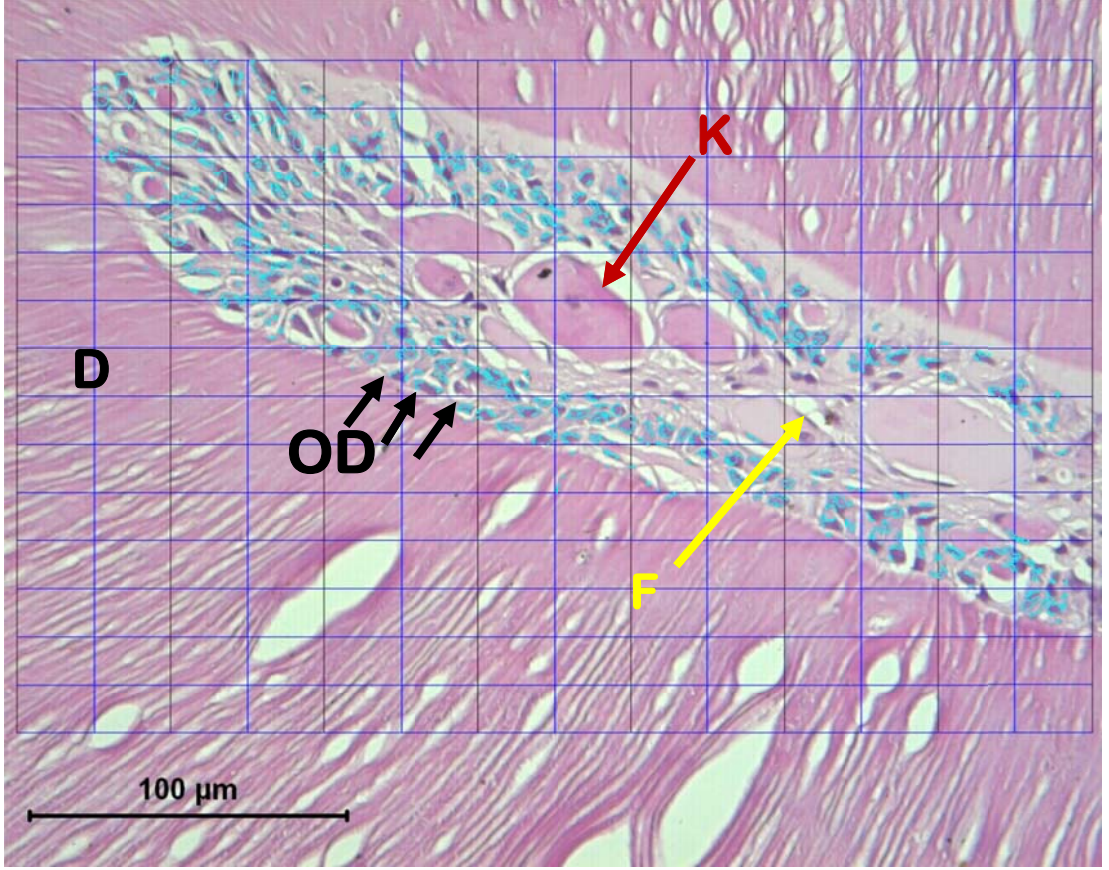
Resim 26.MTA 28.güne ait 1. örnekte tanecik sayım cetveli.(Hematoksilen&Eozin boyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



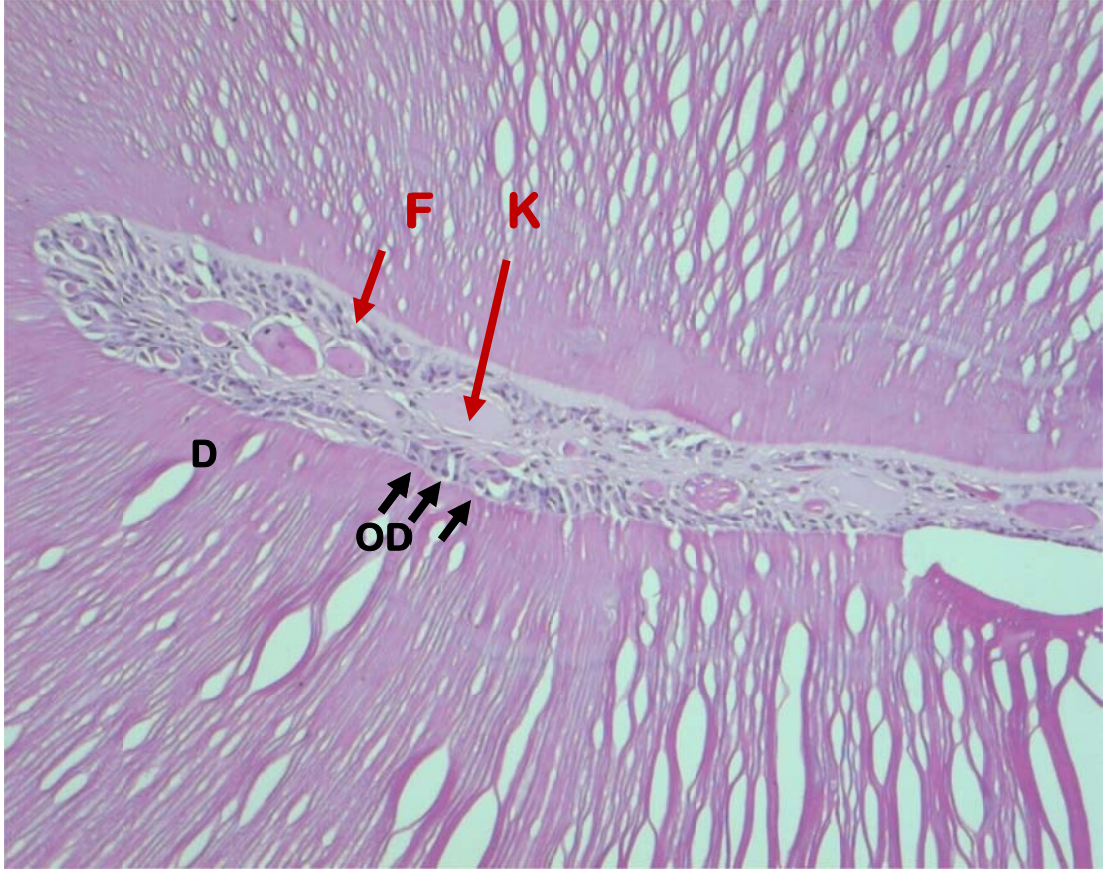
Resim 27.MTA 28.28.güne ait 1. örnekte odontoblast sayımı. (Hematoksilen&Eozin boyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



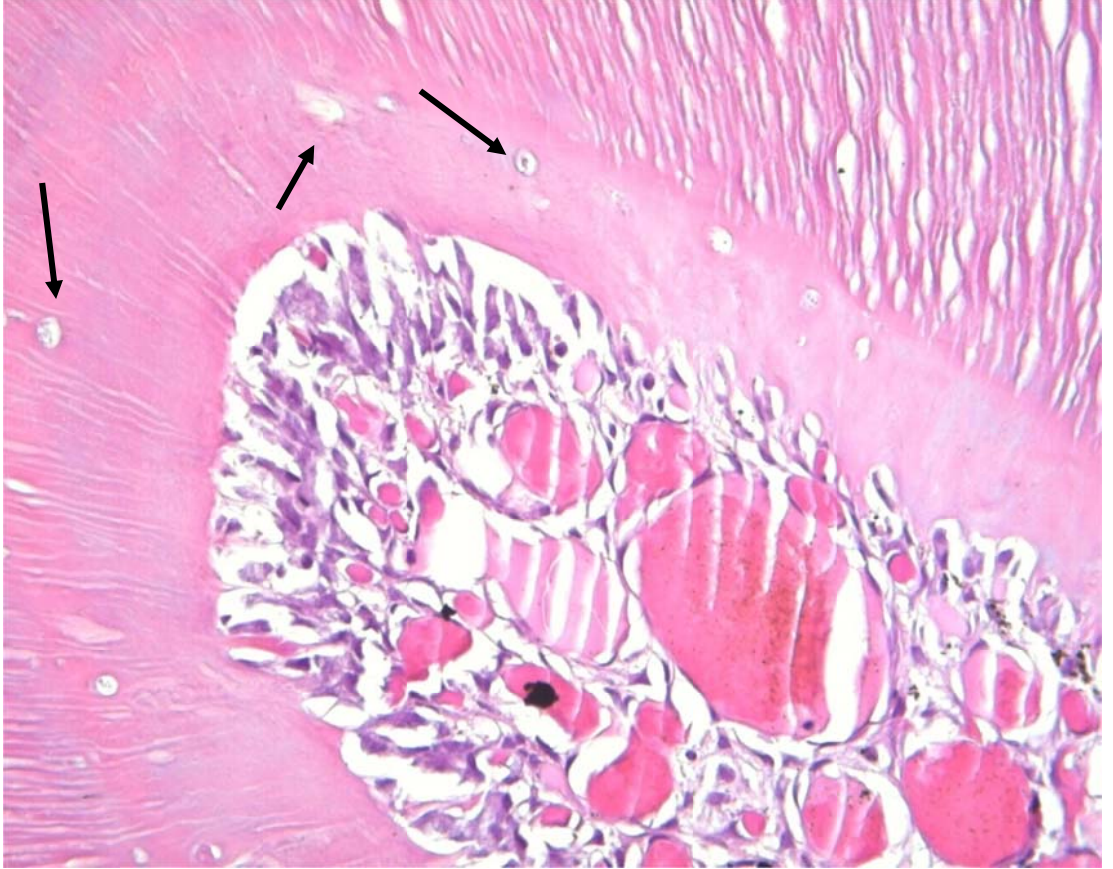
Resim 28. KH 28.güne ait 7. örneğin histolojik görünümü.(Hematoksilen&Eozin boyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



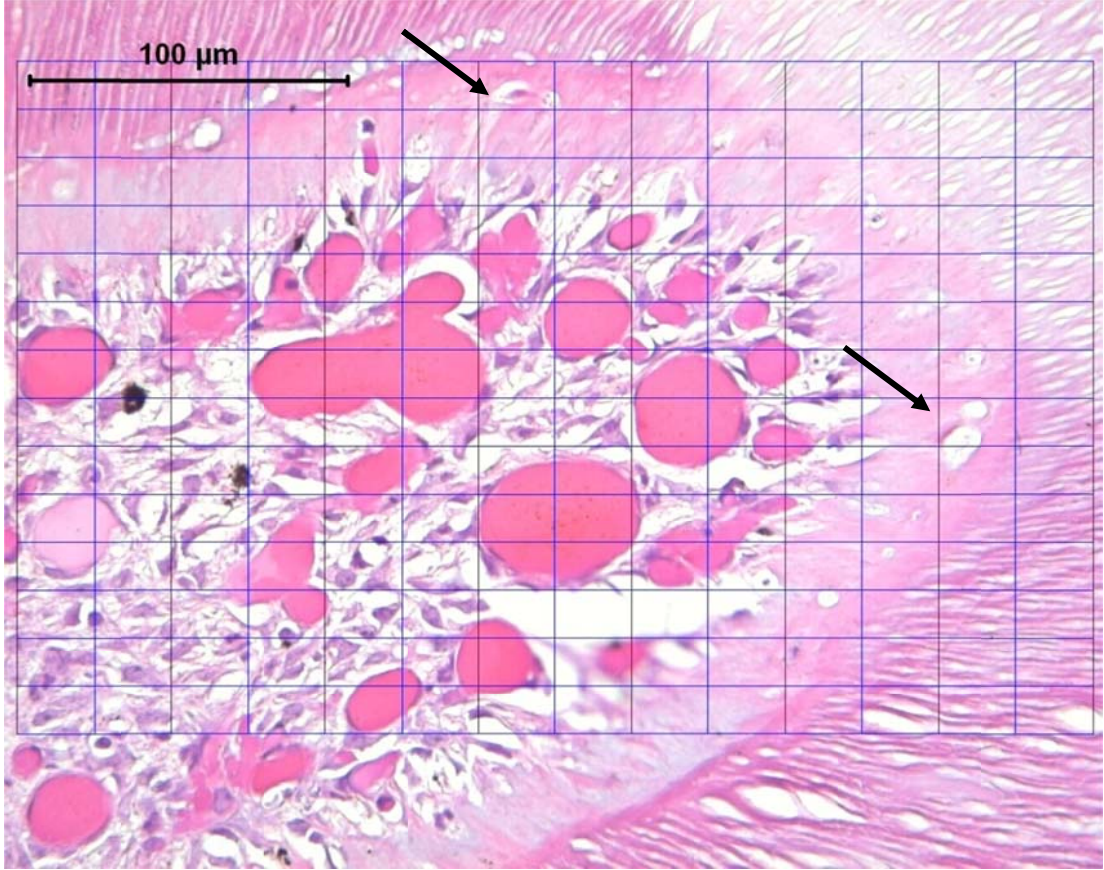
Resim 29. Negatif kontrol grubuna ait 4. örneğin histolojik görünümü.(Hematoksilen&Eozin boyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



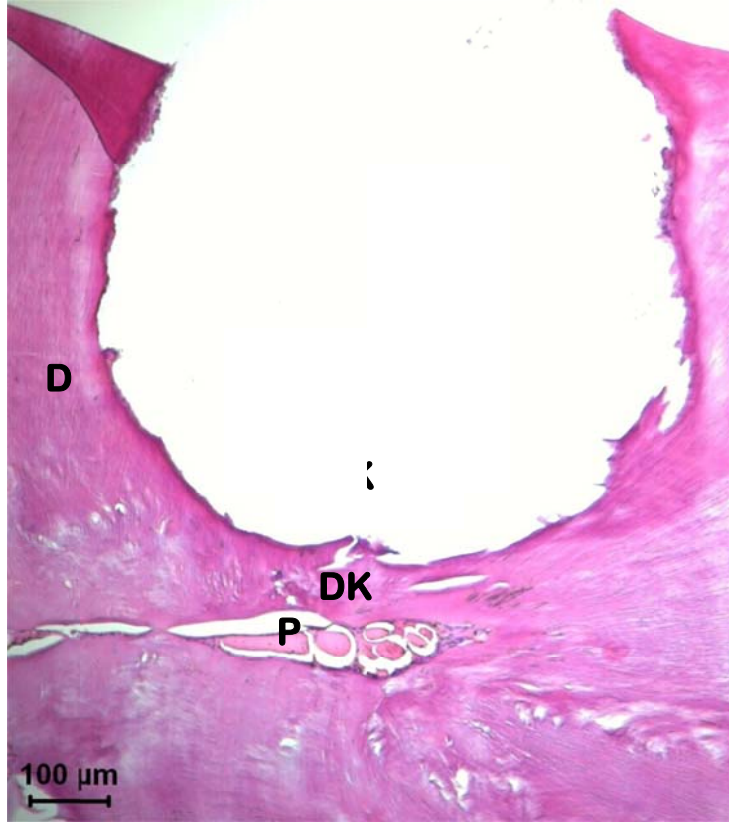
Resim 30. TZP 7.güne ait 2. örnekte pulpanın histolojikgörünümü. Odontoblast tabakası (OD), dentin (D), bağ dokusu hücreleri (F) ve kapiller (K)(Hematoksilen&Eozin boyama ve 200 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



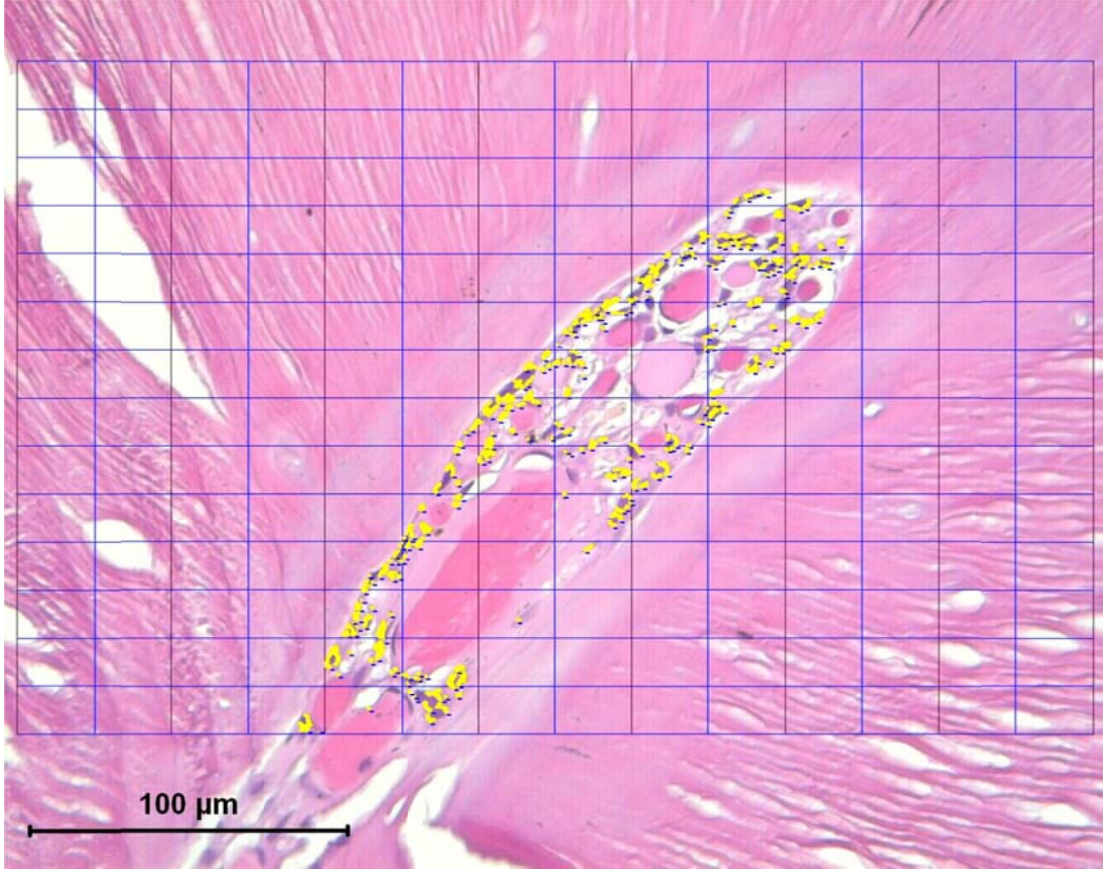
Resim 31. EMD 28.güne ait 4. örnekte pulpanın histolojikgörünümü.(Hematoksilen & Eozin boyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



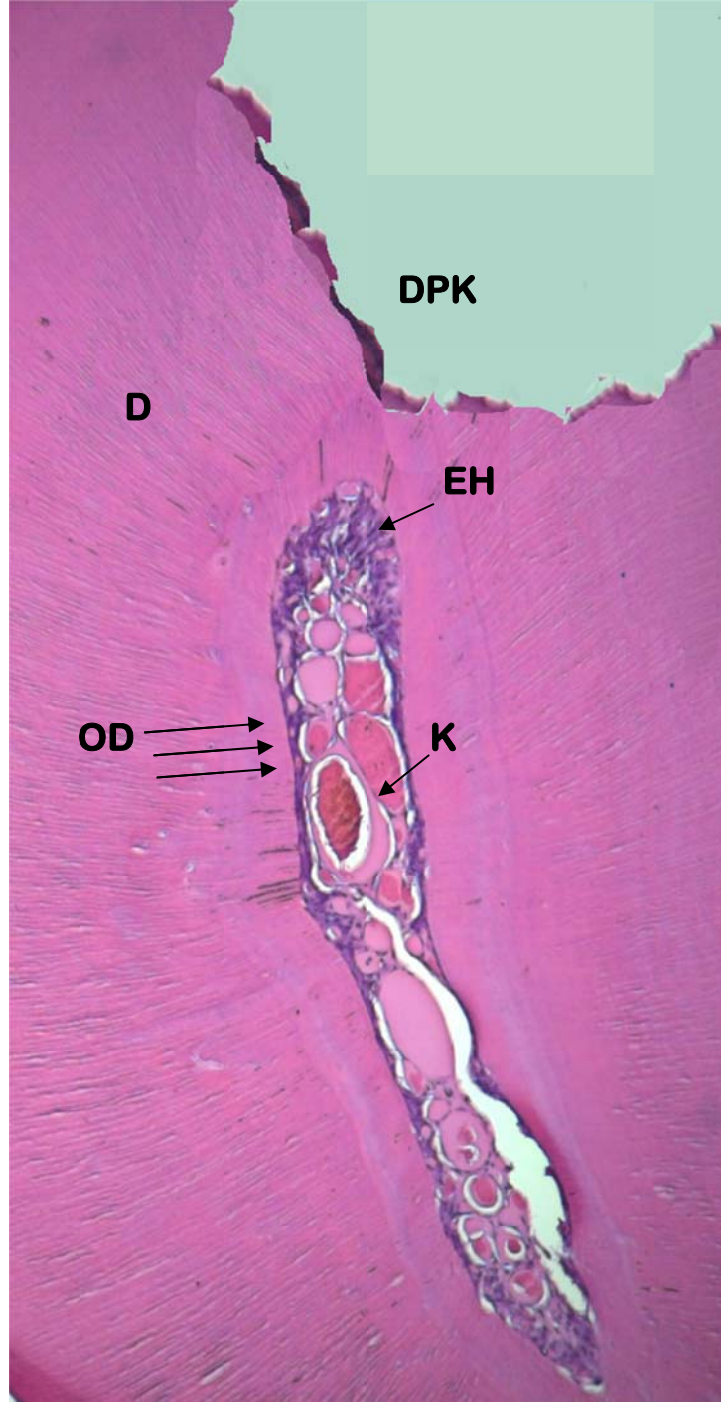
Resim 32. EMD 7.güne ait 6.örnekte histolojik görünümü.(Hematoksilen&Eozin boyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



Resim 33. KH 28.güne ait 10.örneğin histolojik görünümü. (Hematoksilen&Eozin boyama ve 100 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).

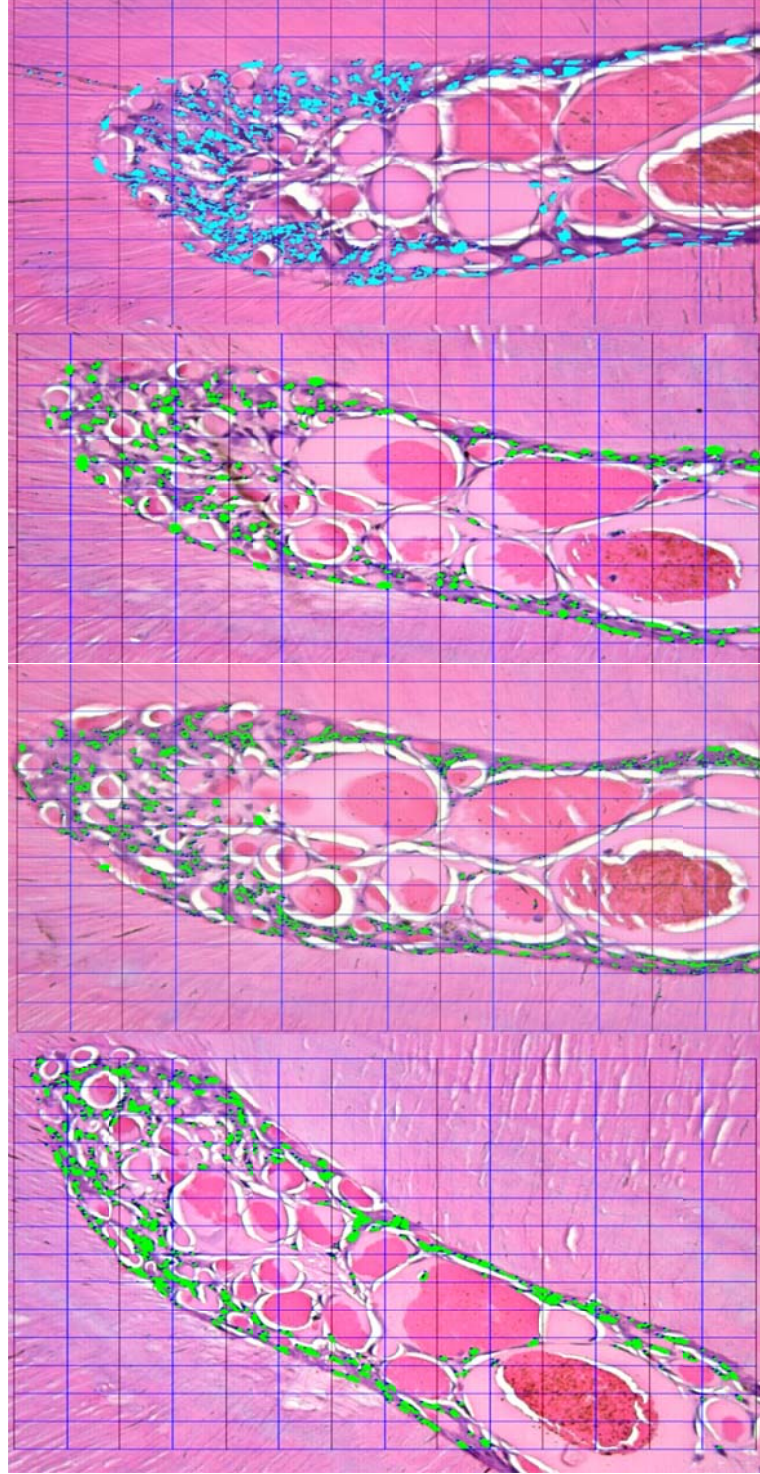


Resim 34KH 7.güne ait 8. örnekte odontoblast benzeri hücre sayımı.(Hematoksilen&Eozin boyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).

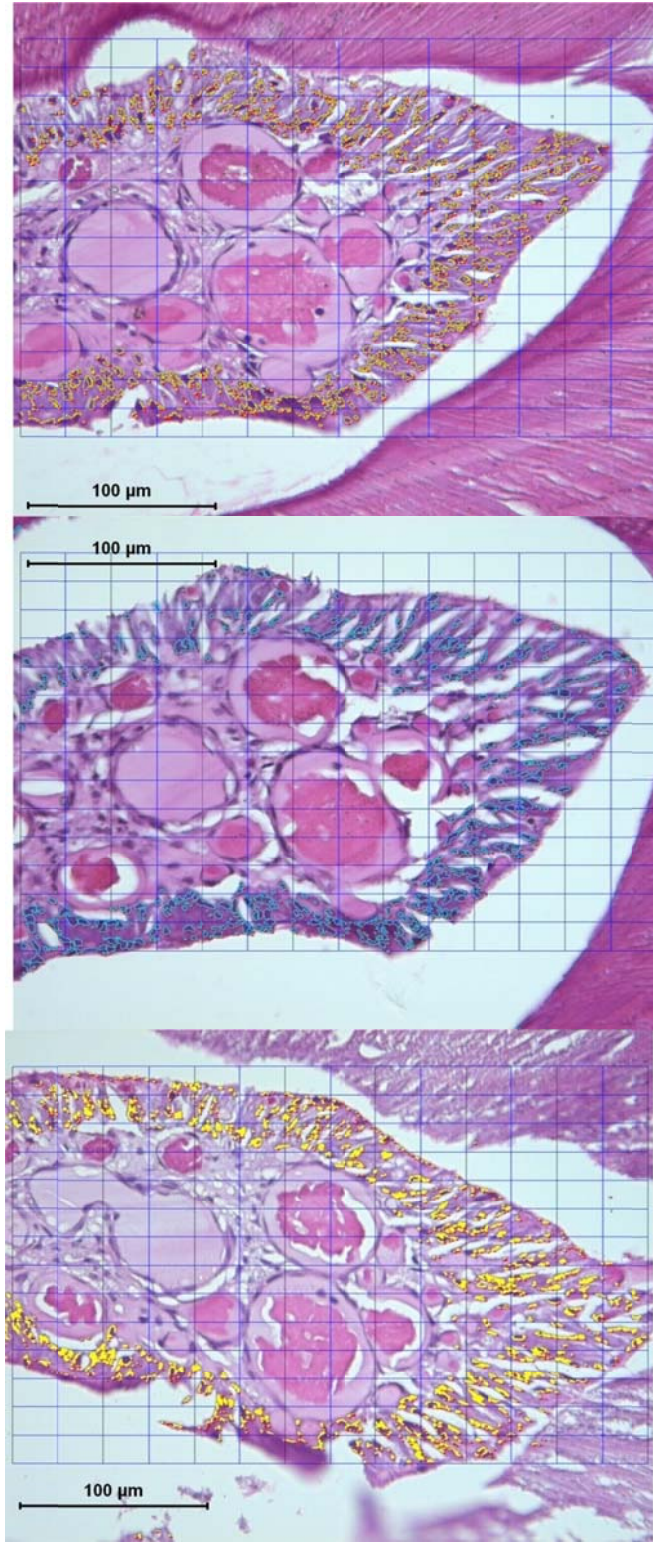


Resim 35.MTA 7.güne ait 12.örneğin histolojik görünümü.

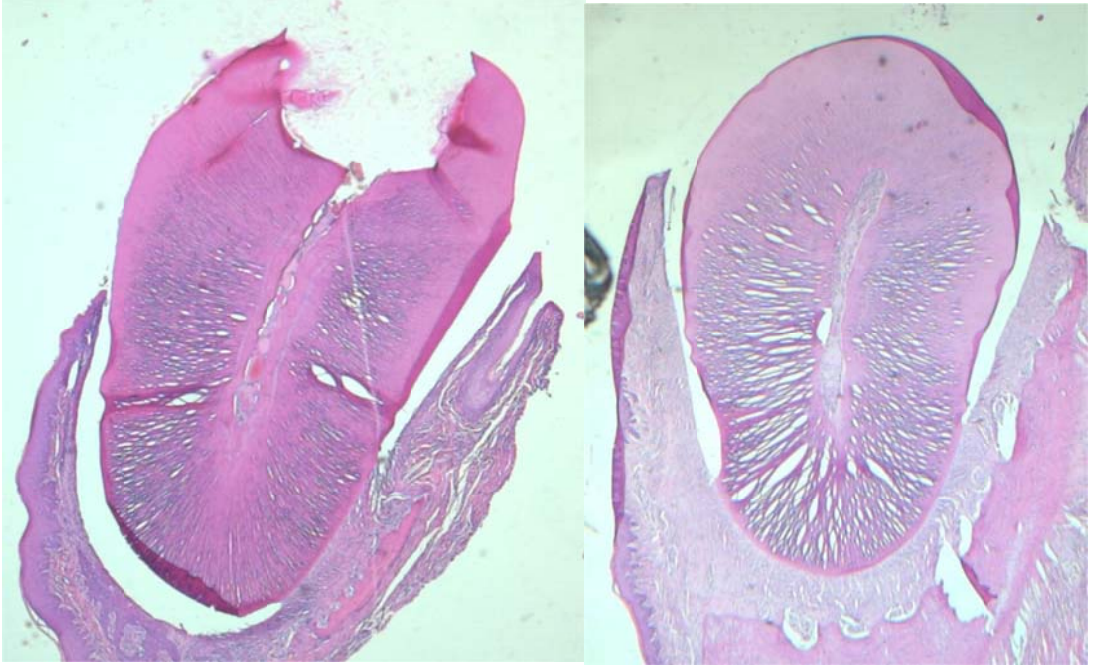
(Hematoksilen&Eozin boyama ve 200 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



Resim 36. TZP 28.güne ait 12. örnekte odontoblast benzeri hücre sayımı.
(Hematoksilen&Eozin boyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



Resim 37. EMD 7.güne ait 6. örnekte odontoblast benzeri hücre sayımı.
(Hematoksilen&Eozin boyama ve 400 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).



Resim 38.Sol; pozitif kontrol grubunun histolojik görünümü. Sağ; negatif kontrol grubunun histolojik görünümü. (Hematoksilen&Eozin boyama ve 40 kat optik büyütmede çekilen mikrograf).

5. TARTIŞMA

Vital endodontik tedavilerde amaç, yaralanan pulpa dokusunun canlılığı ile fonksiyonunu korumaktır (Çalışkan 2006). Direkt pulpa kaplaması çalışmalarında yeni bir materyal, *in vivo* olarak değerlendirileceği zaman deney hayvanları daha sık olmakla birlikte, ortodontik tedavi amaçlı çekim endikasyonu konulan dişlerde kullanılmaktadır. Ortodontik çekim endikasyonu konulmuş dişler klinik uygulamalarda daha gerçekçi sonuçlara ulaşılabilmesini sağlarken, aynı ağızda 4 farklı dişe çekim endikasyonu konulmuş olguların bulunması oldukça zordur. Bu durum birden fazla materyali aynı ortamda karşılaştırmayı kısıtlamaktadır. Ayrıca son yıllarda insan dişlerinin *in vivo* deney modeli olarak kullanılmasında etik kısıtlamalar da söz konusudur (Goldberg and Smith 2004).

ISO 7405(International Standard Organisation. ISO 7405 dentistry bölüm 6.3 ve 6.4), diş pulpası ile dentin kullanım testleri ve direkt pulpa kaplaması testleri yer almaktadır. ISO standartlarına göre, pulpa ve dentin ile doğrudan temasta olan dental materyallerin biyouyumluluğunun değerlendirildiği çalışmalar, yalnızca insanlar üzerinde yapılan uygulamalar ile sınırlı değildir. ISO standartlarına göre bu çalışmalar aynı zamanda maymunlar, köpekler, gelincikler ve minyatür domuzlarda da yapılabilmektedir. Kemirgenler, bu listede uygun olmayan hayvanlar olarak açıkça belirtilmektedir. Vital diş pulpa dokusu ile direkt temasta olan pulpa kaplama maddelerinin veya diş dolgu maddelerinin temel biyouyuyumluluk çalışmalarında primatlar ile yüksek organizasyonlu hayvanlar tavsiye edilmiştir. ISO 7405 de belirtilen uygun deney hayvanı sınıflamasında yer almayan rat dişlerinde uygulanarak son 50 yıldan bu güne kadar yapılan 70'e yakın yayın ile, direkt pulpa kaplaması pulpotomi ve pulpa ekspozundan sonra doku reaksiyonunu değerlendirilmiştir (Maurice and Schour 1955, Nyborg 1955, Muruzabal and Erasquin 1970, Fitzgerald 1979, Brannström 1981, Watts and Paterson 1982, Schröder 1985, Jean et al., 1993, D'Souza et al., 1995, Hu et al., 1998, Costa et al., 2000, Decup et al., 2000, Moretton et al., 2000, Lovschall et al., 2001, Six et al., 2002, Andelin et al., 2003, Costa et al., 2003, Igarashi et al., 2003, Goldberg and Smith 2004, Gangler 2005, Dammaschke et al., 2006).

Diş hekimliğinde DPK maddesi olarak altın standart kabul edilen kalsiyum hidroksit ile kaplanan rat dişi pulpalarının histolojik olarak iyileşmesi, insanlardaki iyileşmeye benzer olduğu birçok çalışmada rapor edilmiştir(Watts and Paterson 1982, Jean et al., 1993, Hu et al., 1998, Decup et al., 2000, Lovschall et al., 2001, Six et al., 2002, Costa et al., 2003, Dammaschke et al., 2006). Yapılan bir çalışmada ise bu duruma bir örnek oluşturarak ratlarda, primatlarda ve insanlardaki kalsiyum hidroksit ile DPK sonrası hücrel reorganizasyon sıralanmasının tanımlanabilir olduğu bulunmuştur(Fitzgerald 1979).

Ratdişlenmesi her iki çenede aynı olmak üzere, 2 adet kesici dişler ile 3 adet molar diş arasında uzun bir diastema ile ayrılmıştır. Keser dişler açık apeksli sürekli uzayan dişlerdir ve tipik bir kemirgen sınıfına aittir. rat molarları ise; diş boyutları küçük bir insan molar dişine benzer anatomi, fizyoloji, biyolojik özellikleri taşımaktadır(Schour and Massler 1949, Maurice 1955, Kiryati 1958, Kozlov and Massler 1960, Sasaki and Kawamata-kido 1995). Ayrıca rat molarlarında “*foramina apicale*”de daralma, pulpa dokusu içerme, kök morfolojisi, pulpa odası gibi benzer yapısal özellikleri de bulunmaktadır. Bundan dolayı rat molarlarında pulpa dokusundaki biyolojik reaksiyonlar, pulpal iyileşme sırasındaki hücrel etkileşimlerin değişik aşamaları diğer memeliler ile karşılaştırılabilmektedir (Damaschke 2010).

Bu durumdan yola çıkarak Jean et al. (1993) domuzlar, ratlar ve köpekler üzerinde yapmış olduğu kalsiyum hidroksit ile DPK çalışması sonrasında, 21 günden 4 aya kadar uzanan gözlem periyodlarında iyileşme süreci arasında anlamlı farklılık gözlemlenmemiştir. Buna karşın, köpekler ve ratlar üzerinde pulpal iyileşmede farklılıklar olduğunu rapor etmiştir. Buna göre hızlı sertleşen kalsiyum hidroksit ile DPK uygulamasının 28. gününde rat molar dişlerinin %83 ünde sert doku oluşumu gözlemlenmiştir. Köpek molar pulpalarının yalnızca %60’ında sert doku oluşumu 6 hafta sonra görülmeye başlamıştır (Watts and Paterson 1982). Watts ve Peterson (1982) çalışmalarında, Nyborg (1955) çalışmasını kaynak göstererek insan dişlerinde ve köpek dişlerinde uygulanan DPK sonrasında insanlarda başarı oranının çok daha yüksek olduğu sonucuna kendi sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Bu sonuçlar ile ilişkili olarak rat molar dişleri ile köpek molar dişlerinde DPK uygulaması sonrası oluşan bu farklılıkların köpeklerde oluşturulan pulpal perforasyona bağlı olarak DPK maddesinin pulpa dokusu içine, rat molar dişlerinden daha büyük ölçekte taşındığı bunun da

pulpada yabancı cisim reaksiyonuna neden olabileceği bildirilmiştir(Watts and Paterson 1982).

Yaygın olarak deneylerde kullanılan bir diğer denek türü de maymunlardır. Brannström'e (1981) göre her ne kadar insan ve maymun pulpalarındaki DPK sonrası pulpal cevabın aynı olmadığını, tersiyer dentin yapımı bu iki cins arasında farklılaştığını bildirirse bile maymunlar halen DPK uygulamalarında köpekler ve ratlara göre insanlara en benzer pulpa reaksiyonları sergilemektedir.

Domuz veya maymun gibi deney hayvanlarının diş boyutları, insan dişlerinin ortalama boyutlarına oldukça yakındır. ratların diş boyutları ise diğer deney hayvanlarına göre oldukça küçüktür. Bu nedenle rat dişlerinde çalışmaya başlamadan önce pratik örnek uygulamalarda bulunmak başarıyı oldukça arttırmaktadır. (Dammaschke 2010).

Rat dişlerinin küçük boyutlarda oluşu, ağız açıklığının yetersizliği ve operasyon alanına ulaşma zorluğu gibi sınırlamalardan dolayı direkt pulpa kaplaması uygulamalarında teknik zorluklarla rağmen, DPK uygulamasından sonra pulpal doku reaksiyonlarını değerlendirilmesinde oldukça ekonomik ve etik açıdan da daha uygun bir model olabileceği bildirilmiştir(Goldberg and Smith 2004). ratların kullanımı, evrim düzeyi yüksek diğer memeliler ile yapılan *in vivo* uygulamalarda, çalışmaların deneklerin sayısını de anlamlı derecede azalttığı rapor edilmiştir(Costa et al., 2003).

Rat molar dişlerinin pulpa tavanı kaldırılırsa ve ağız ortamına açılırsa, insan dişlerinde benzer olarak kobaylarda ve diğer türlerde pulpal enflamasyon meydana geldiği bildirilmiştir(Muruzabal and Erausquin 1970). Bununla birlikte rat molar dişlerinde pulpal perforasyon sonrasında insanlarda tanımlanan odontoblast benzeri hücre oluşumu ile tersiyer dentin oluşumu gözlemlenmiştir(D'Souza et al., 1995). Ancak rat dişlerinde biyolojik yanıt sürecinin ilerleyişi insanlarda görüldüğünden daha hızlı olarak gerçekleşmektedir (Muruzabal and Erausquin 1970). Ratların 1 aylık yaşam döngüsü, insanların 30 aylık yaşam döngüsüne eşdeğer olduğu gösterilmiştir(Moretton et al., 2000).

Rat molar dişlerinin olumlu yönlerine rağmen çeşitli teknik zorluklardan dolayı birçok araştırmacı vital pulpa tedavisi çalışmalarında rat molar dişleri yerine orta kesici dişleri kullanmayı tercih etmişlerdir (Obersztyn 1965, Obersztyn et al., 1969, Hu et al., 1997, Sloan and Smith 1999, Murray et al., 2002a).

Sloan and Smith (1999), 28 günlük gelişimini tamamlamış rat kesici dişlerinde, TGF-βs'nin tersiyer dentin oluşumu ve pulpal değişiklikler üzerine etkisini *in vitro* olarak 7 günlük süre ile incelemiştir. Hu et al. (1997) gelişimini tamamlamış ortalama 100g ağırlığındaki 40 adet ratın 80 adet alt çene ön dişine hazırladıkları sınıf V kaviteler ve 1 mm²'lik pulpal perforasyonları oluşturmuşlar ve PDGF/EGF tersiyer dentin oluşumu ile pulpal enflamasyon yanıtını *in vivo* olarak değerlendirmişlerdir. 2 ve 3 haftalık inceleme dönemlerinde, 10 adet rat dişinde kanama kontrolünün sağlanamaması nedeniyle ratları çalışma protokolünden çıkartmışlardır(Hu et al., 1997). Decup et al. (2000) 36 adet ratın 36 adet sol üst 1. molarının mezial yüzeylerine hazırladıkları kaviteler ve pulpal perforasyonlar sonrasında *in vivo* olarak kemik sialoproteinleri ile DPK uygulayarak 8, 14 ve 30 günlük sonuçlarını histopatolojik olarak değerlendirmişlerdir. Dammaschke et al. (2010c,2010d), 36 adet ratın 72 adet dişine *in vivo* olarak MTA ve kalsiyum hidroksit ile DPK uygulamışlar, histolojik ve immünokimyasal değerlendirmeleri operasyonu takiben 1, 3 ve 7.günler sonunda gerçekleştirmişlerdir.

Bu çalışmada da deney modeli olarak 36 adet rattan elde edilen 144 adet alt ve üst çene kesici dişleri etik uygunluk, teknik uygulama açısından yeterlilik, çalışma alanına kolay ulaşılabilirlik ve çalışma standardizasyonu göz önüne alınarak kullanıldılar. Çalışmamızda da birbirinden farklı maddeler ile ağız ortamına açılmış rat orta kesici diş pulparları üzerine direkt pulpa kaplamaları uygulanarak 7. ve 28. gün sonrası pulpadaki histopatolojik ve histomorfometrik değişiklikler incelendi. Bu çalışma süresi boyunca herhangi bir nedenle çalışmadan çıkartılan denek olmadı.

Çalışmamızda, sert ve yumuşak dokulardaki değişiklikleri değerlendirebilmek için DPK uygulamasını takiben 7. ve 28. günlerin sonrasında örnekler incelendi. Bu çalışma dönemleri, rat molar dişlerinde pulpal iyileşmenin incelendiği daha önceki çalışmalar göz önüne alınarak belirlenmiştir. Chiego et al. (1986), rat molar dişlerinde pulpal yaralanmayı takiben, pulpa hücrelerinde en fazla proliferatif yanıtın 5. günde görüldüğünü rapor etmişlerdir. Taylor and Byers (1990), pulpal yanıtın 5-6.günlerde pik yaptığını, tersiyer dentin oluşumunun da yaralamanın şiddetine bağlı olarak 7-35 günlerde görülebildiğini bildirmişlerdir. Tziafas et al. (1992), köpek dişlerinde hazırladığı 22 sınıf V kavite ve mekanik perforasyonların teflon disk ve çinkooksit öjenol siman ile örtüleyerek pulpal enflamasyonu postoperatif 3, 7, 10. günlerde,

tersiyer dentin oluşumunu ise 12 ve 28. günlerde gözlemlemiştir. Bu inceleme dönemlerine benzer olarak 58 adet rat molar dişine, çeşitli büyüme faktörleri yerleştirilerek yapılan bir başka DPK çalışmasında, gözlem dönemleri olarak 8 ve 28. günler tercih edilmiştir(Six et al. 2002). ISO standartlarına göre enflamasyon zaman grupları kısa dönem için 7 ± 2 ve uzun dönem için 70 ± 5 gün olarak belirlenmiştir (ISO ref no.7405, 1997). Bu dönemler FDI standartlarına göre enflamasyonun erken dönemi için 3-5 gün, orta dönemi için 21-30 gün ve uzun dönemi için 90 ± 10 gün olarak belirlenmiştir(FDI 1980). Hem ISO hem de FDI standartlarına göre materyale bağlı pulpa reaksiyonlarının uzun test süresinde ortaya çıktığı ifade edilmektedir. Bu çalışmanın rat kesici dişlerinde uygulanabilirliği ve standardizasyonu uzun dönemde mümkün olamayacağından orta test döneminde FDI standartlarında belirtilen 28 günlük süre seçildi. Bu süre ISO standartlarına göre uzun dönem için daha kısa olmasına rağmen, Six et al. (2002), Hu et al. (1997) ve Tziafas et al. (1992) çalışmalarına benzer olarak çalışmamızda da, erken dönem ve geç dönem pulpal hücrelerdeki değişiklikleri, enflamasyonu ve tersiyer dentini gözlemleyebileceğimiz postoperatif değişiklikleri değerlendirebileceğimiz ratların da yaşam döngüsü göz önüne alınarak 7 ve 28 gün gözlem aralığı olarak tercih edildi.

Rat dişlerinde bir uygulama yapılacaksa, çalışmaya başlarken mutlaka yaşam konforu açısından derin anestezi altına alınması gerekliliği uzun yıllar önce bu deney modelinde çalışmış araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Maurice and Schour 1955). Deney hayvanlarımız 1 yaşını doldurmuş birbirlerine oldukça yakın ağırlıklara sahip erkek ratlardan elde edildi. Ağırlıkların birbirine oldukça yakın olmasına rağmen, anestezi standardizasyonunu sağlamak amacıyla, çalışma sırasında her bir deney hayvanı ağırlığına göre anestezi dozu hesaplanarak, deney hayvanlarına genel anestezi uygulandı.

Dişhekimliği lokal anestezi uygulamalarında, Smith ve Walton (1983) yaptıkları bir çalışmada intraligamenter anestezi ile pulpa dokusu üzerinde ilk kez bir lokal anestetik çözeltinin pulpal damarların içine girerek sitotoksik etkisi olduğunu göstermişlerdir. Kim et al. (1984) köpekler üzerinde uyguladıkları bir çalışmada lokal anestetik ajanların içeriğindeki vazokonstiktörlerin daha derin ve uzun bir anestezi sağladığı, bununla birlikte pulpanın kan akışına yavaşlatıcı etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bu durum 1:100,000 epinefrin içeren %2 Lidokain infiltrasyon

anestezisini takiben 1 dakika sonra pulpal kan akımını %60'a, 6 dakika sonra ise %28'e kadar düştüğünü, pulpal kan akımının 75 dakika sonra eski halini aldığını ve geçen bu sürede pulpaya oksijen ve besin taşınmasının yetersiz kalabileceğini rapor etmişlerdir (Kim et al., 1984). Ayrıca Yu et al. (2002) rat kesici dişleri üzerinde lokal anestezi uyguladıktan sonra vasoaktif medyatörler ve pulpal kan akımını incelemiş, nöropeptid yapıda olan vazokonstriktörlerin endoteller üzerindeki özel reseptörlere bağlanarak, damarsal düz kasları kasılmasına neden olduğu ve kan akımını azalttığını rapor etmişlerdir. Vazokonstriktörlerin arteriol ve venül çapındaki azalmayı gözlemleyen bir başka çalışma da yine pulpal kan akımının azaldığını göstermiştir (Simard-Savoie et al., 1979). Buna karşılık başka bir çalışmada ise vazokonstriktörlü ve vazokonstriktörsüz lokal anestetik çözeltilerin pulpaya olan etkileri histopatolojik olarak incelenmiş, pulpanın lokal anestetikler içine eklenen vazokonstriktörlerden etkilenmediğini göstermiştir (Erdilek ve ark., 2001). Pulpal kapiller çapların insan ve rat dışında farklılık göstermesi, lokal anestezi sırasında staz riskini arttıcağı düşünüldü. Lokal anestezinin pulpal mikrosirkülasyona olan etkisi ve rat dişlerinin kapiller damarlarında daralma veya staz riskine karşın çalışmamızda genel anestezi uygulamasına ek olarak lokal anestezi işlemi uygulanmadı.

Çalışmamızda içeriğinde vazokonstriktör madde bulunmayan intraperitoneal olarak 40 mg/kg. Ketamin HCl ve 2 mg/kg Xylazin HCl enjekte edilerek genel anestezi uygulandı. anestetik maddeye veya DPK maddesine maruz kalmayan negatif kontrol grubu, anestetik madde uygulanan ancak DPK ajanı uygulanmadan kavileri örtülenen pozitif kontrol grubu arasında pulpal doku arasında odontoblast hücre sayısı, hiperemi miktarı, enflamasyon tipi ve enflamatuar hücre yoğunluğu açısından anlamlı farklılıklar ortaya çıktığı görüldü. Hem anestetik maddeye hem de DPK maddesi uygulanarak kavileri örtülenen çalışma gruplarında ise DPK materyallerine göre farklı enflasyon, hiperemi, nekroz değerleri ile birim alandaki odontoblast benzeri hücre sayıları elde edildi. Negatif kontrol grubu ile deney grupları arasında birim alanda odontoblast veya odontoblast benzeri hücre sayıları EMD grubu hariç diğer gruplar arasında fark anlamlı bulunmadı. Negatif kontrol grubu ve deney gruplarına ait bulgularımız, kullanmış olduğumuz genel anestetik maddenin iyileşmeyi değiştirmedeğini ve negatif kontrol grubu oluşturmanın haklı bir gerekçesi olduğunu ortaya koydu.

Diş hekimliği uygulamalarında endodontik büyüteç, endoskop veya cerrahi mikroskopların kullanımı, cerrahi veya cerrahi olmayan her tedavi için geniş ölçüde kabul görmüştür. Tanı kapasitesini arttırmak, görüş alanını arttırmak, operasyonun başarısını ve standardizasyonunu sağlamak gibi birçok yararlı özelliklerinden dolayı büyütme altında çalışılması birçok çalışmada önerilmektedir(Behle 2001, Rampado et al., 2004, von Arx 2005, Dammaschke 2010). ratlarda direkt pulpa kaplaması çalışması planlanırken, dar çene yapısı, yanak ve dil gibi yumuşak dokular görüş alanını ve teması zorlaştıran olumsuzluklar yaratabilmektedir(Dammaschke 2010). rat çalışma modelinde pulpa kaplaması konusunu işleyen bir makale derlemesinde, diş boyutlarının çok küçük oluşu ve görüş alanının yetersizliği gibi nedenlerden dolayı büyütme ile çalışma ve küçük aletlerin tercih edilmesinin gerekliliği vurgulanmıştır(Dammaschke 2010). Bu duruma destekleyici bir örnek oluşturan Six et al. (2002) çalışmasında, 29 adet ratın sağ ve sol olmak üzere 58 adet molar dişinde, 16 kat büyütme altında çalışarak sınıf V kavitelemeler hazırlamış ve DPK uygulanmıştır. Çalışmamızda hayvan dişleri üzerine uygulanan bütün tedaviler standardizasyonu sağlamak için cerrahi operasyon mikroskobu ile 20 kat büyütme altında gerçekleştirildi.

Vital pulpa tedavilerinde 0.5-4.0 mm arasında değişen pulpa perforasyon boyutlarının iyileşmeyi sınırlandırmadığı bildirilmesine rağmen(Mjor et al., 2002), yeterli dentin duvarı desteğinden yoksun büyük perforasyonların iyileşmediği gösterilmiştir (Andlaw and Rock, 1996). Kritik boyutlu defekt, bir hayvanda herhangi bir osteopromotif bir materyal kullanılmadan yaşam boyu spontan olarak kemik yapımı (dolumu) ile iyileşme gösteremeyen en küçük boyutlu kemik yarası olarak tanımlanmaktadır. Bu tip defektler kemik dolumundan çok, fibroz bağ dokusuyla dolumu ve iyileşme eğilimi göstermektedirler(Rowe 1969, Frame 1980, Takagi et al. 1982). Freeman (1973) ve Turnbull(1974), ratlarda kritik boyutlu defekt anlamındaki defektlerde, çalışmış ilk araştırmacılarıdır. Wistar albino ratların parietal kemiklerine 2mm çapındaki deneysel defektler hazırlamışlar, 12 hafta sonunda belirgin bir iyileşme olmadığı gözlemlenmiştir. Benzer olarak Mulliken ve Glowacki (1980), ratların parietal kemiklerinde 2mm defektler oluşturmuşlar, kontrol defektlerinde 6. ayın sonunda bir kemik dolumu bulamazlarken, demineralize kemik pudrası uyguladıkları deney grubunda kemik yapımına rastladıklarını rapor etmişlerdir. Takagi

ve Urist(1982), 6 aylık Srague Dawley ratlarında 8mm'lik defektler açıp, sonuçları histolojik yönden değerlendirmişlerdir. Defektlerin kemik iyileşmeyle, çaplarının 5mm'ye düştüğü gözlenmiştir. Bu iyileşmede daha çok kemik marjinde başlayarak defektin merkezine doğru uzandığı ifade edilmiştir. Defektlerin merkezi ise fibröz bez dokusuyla iyileşme göstermiştir. Buna karşın kemik morfogenetik protein uygulanmış deney defektlerinde neredeyse tamamen bir iyileşme bulunmuştur. İnsan dişi pulpa dokusu için, kemik dokusunda ya da bazı yumuşak dokularda olduğu gibi "kritik yara boyutu" olarak adlandırılan ve herhangi bir tedavi uygulanmadığında kendiliğinden iyileşmeyen bir yara yüzey alanı belirlenmemiştir. Bu durum ile ilişkili olarak rat dişlerinde de kullanılabilecek bir kritik pulpa perforasyon boyutu bulunmamaktadır. Ancak bir makale derlemesinde, yeni bir maddenin pulpa üzerine yerleştirilerek biyouyumluluğunun değerlendirilebilmesi için rat modeli kullanılacaksa, kavite hazırlığı aşamasında en fazla ISO 008 çapında bir frez kullanılması gerekliliği bildirilmiştir(Dammaschke 2010). Rat kesici dişleri üzerinde büyüme faktörlerinin DPK ajanı olarak kullanıldığı bir çalışmada ise, rat kesici dişlerinin bukkal yüzeyine 331/2 no'lu tersine konik frez yardımı ile 4mm² büyüklüğünde sınıf V kaviteler hazırlanarak 1 mm² büyüklüğünde pulpal perforasyonlar oluşturulmuştur(Hu et al. 1997). Öte yandan bir başka çalışmada perfore edilen rat molar pulpalarına herhangi bir materyal ile örtülenmeksizin bırakıldığında, spontanöz kalsosferit oluşumu gözlenmiştir(Schröder 1985). Spontanöz kalsosferit, Sferoidal kalsiyum tuzlarının bir tabakası olarak dejenere olmuş hücre artıklarının sonucu olarak oluştuğu rapor edilmiş ve rat molar pulpalarının insan dişi pulpa dokusuna göre daha fazla reaktif olduğu gösterilmiştir(Schröder 1985). Çalışmamızda her bir dişe standart 1x1x1mm'lik kaviteler ve ISO 004 (0.4mm çaplı) çelik rond frezlerle standart perforasyonlar oluşturuldu. Pulpal perforasyon için seçilen frezin çapı, Dammaschke (2010) derlemesinde önerildiği gibi ISO 008'den daha küçük çaplı bir frez ile gerçekleştirildi. Sonuçlar negatif ve pozitif kontrol grupları ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Ayrıca histomorfometrik olarak; Çalışma gruplarında perforasyon bölgesinde ve negatif kontrol grubunda Odontoblastik tabaka izlenmekte olup, birim alandaki odontoblast benzeri hücre sayıları EMD grubu hariç negatif kontrol grubu ile benzer olduğu görüldü. Buna karşın pozitif kontrol grubunda odontoblastik dizelenmenin bozulduğu izlenerek hücre sayımı yapılamadı. Çalışma gruplarının tümünde tersiyer dentin varlığı

tespit edilirken, pozitif kontrol grubunda tersiyer dentin veya perforasyon bölgesinde sert doku oluşumu izlenmedi. Pozitif kontrol grubu, rat kesici dişlerinde belirlediğimiz pulpa perforasyon boyutunun, diş sert ve yumuşak dokularında meydana getirdiği değişiklikleri uygun biçimde yorumlanmasını ve yöntemimizin güvenilir olduğunu göstermektedir.

DPK' nın başarılı olabilmesi için etkin kanama kontrolü sağlanmalıdır. Pulpa açıldıktan sonra oluşan kanamanın giderilmesi için steril pamuk peletin baskı uygulamadan kanama odağında bekletilmesi gerekmektedir. Kanama odağına uygulanan fazla baskının, pıhtı oluşumunu bozabileceği bildirilmiştir (Sübay ve ark., 1995). Bu çalışmada da, pulpa açıldıktan sonra oluşan kanamanın durdurulması için steril pamuk peletlere emdirilmiş %0.9 steril serum fizyolojik hafif basınçla uygulandı. Çalışmamızda pulpal kanama kontrolü sağlanamayan örnek oluşmadı. Bu durum ile yakından ilişkili olarak, çalışmamıza yer alan sağlıklı deney hayvanlarının çürük, kırık, atrizyon, erozyon veya renklenme olmaksızın sağlıklı görünen dişlerden seçilmesinin sonucudur. Çalışma modelini oluşturan sağlıklı deney hayvanlarının özenli seçimi, pulpal kanama gözlemlenildikten sonra hemen kanama kontrolü uygulanması ve DPK uygulanması özellikle bütün prosedürün 20x büyütme altında çalışılması gibi seçimlerden dolayı deneklerde protokol dışı kalacak bir durum oluşmadı. Hu et al. (1997) çalışmalarında kanama kontrolü sağlanamaması nedeni ile deneklerin %25'ini protokol dışına çıkarmıştır. Çalışmamızda kanama kontrolünün sağlanamadığı herhangi bir durum ile karşılaşılsaydı, Hu et al. (1997) çalışmasında olduğu gibi, denek protokol dışında bırakılacaktı.

Direkt pulpa kaplamasında başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden birisi olan etkin bir kanama kontrolü sağlayabilmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Matsuo et al., 1996, Cox 1999, Costa et al., 2001, Hafez et al., 2002, Murray et al., 2002b). Sodyum hipoklorit (NaOCl); mevcut kan pıhtısını, enfekte dokuları, dentin talaşlarını ve debris pulpadan uzaklaştırmanın yanı sıra, kavite dezenfeksiyonunda ve kanama kontrolünde kullanımı gösterilmiştir(Matsuo et al., 1996, Murray et al., 2002b). Hafez et al. (2002) 5 adet yetişkin maymunun 90 adet dişine hazırlanan sınıf V kavite ve mekanik pulpa perforasyonları sonrasında, kanamayı %3 NaOCl ile kontrol ederek tek aşamalı ve iki aşamalı adeziv sistem ile DPK uygulamıştır. 7, 27 ve 90 gün sonrasında inceledikleri örneklerde kontrol grubuna göre anlamlı farklılık oluşarak, pulpaları %3

NaOCl ve her iki adeziv sistem ile örtülenen örneklerin %86'sında yumuşak doku iyileşmesi ve dentin köprüsü oluşumu gözlemlemiştir(Hafez et al., 2002). Öte yandan Costa et al. (2001), %3 hidrojen peroksit(H₂O₂), %6 sodyum hipoklorit(NaOCl), 5g KH ve 10ml distile su maddelerini, SS bond pozitif kontrolü ve steril salin negatif kontrolünde sitotoksik etkisini incelemiştir. Çalışmacılar in situ olarak rat odontoblastları üzerinde gerçekleştirdikleri hücre kültürü çalışmasında, %3 lük H₂O₂, pozitif kontrol grubu(SS bond) ve %6'lık NaOCl'in sitotoksik olduğunu rapor etmişlerdir(Costa et al., 2001).

Direkt pulpa kaplamalarında çeşitli materyallerin incelendiği birçok çalışmacı kanama kontrolü olarak serum fizyolojik ve steril pamuk pelet kullanmayı tercih etmişlerdir(Tziafas et al., 1992, Hu et al., 1997, Six et al., 2002). Tziafas et al. (1992), 5 adet köpeğin 22 adet dişine standart sınıf V kavitele ile mekanik perforasyonlar oluşturarak pulpal kanamaları steril pamuk pelet ve serum fizyolojik ise kontrol altına aldıktan sonra perforasyon sahasına demineralize dentin implantasyonu sonrasında çinko oksit öjenol siman ile örtülemiştir. Pulpal enflamasyonu ve dentin köprüsü oluşumunu SEM, TEM ve histolojik teknikler ile inceleyerek erken dönemde odontoblast benzeri hücrelerin farklılaşma sonrasında dentin matriksi salgıladıklarını ve pulpal iyileşmeyi göstermişlerdir (Tziafas et al., 1992). Hu et al. (1997) 80 adet rat kesici dişinde oluşturduğu standart sınıf V kavitele ve mekanik perforasyonlar sonucunda kanama kontrolünü steril pamuk pelet ile sağlamıştır. Büyüme faktörleri ile örtüleme sonrasında kontrol grubuna göre anlamlı sert doku tamirini gerçekleştirdiklerini rapor etmişlerdir(Hu et al., 1997). Six et al. (2002), 58 adet rat molarlarına sınıf V kavitele hazırlamış ve pulpal kanamayı steril pamuk pelet ve serum fizyolojik ile kontrol ederek büyütme altında kemik morfojen protein-7(BMP-7) ile DPK uygulamıştır. BMP-7'nin, kalsiyum hidroksit ve kollajen membran kontrolüne göre rutin vital endodontik tedavilere alternatif olabileceğini rapor etmişlerdir(Six et al., 2002).

Çalışmamızda da Tziafas et al. (1992), Hu et al. (1997), Six et al. (2002) çalışmalarında tercih edildiği üzere; NaOCl veya H₂O₂ gibi maddelerin pulpanın iyileşme potansiyelini değiştirebileceğinden vital tedavilerde rutin kullanımda olan %0,9'luk steril serum fizyolojik, kanama kontrolü sağlamak için kullanıldı.

DPK uygulama sırasında, kanama kontrolünde hafif baskı ile uygulamaya benzer olarak DPK ajanının, pulpa perforasyon yüzeyine hafifçe yerleştirilmesinin uygun olduğunu, fazla baskı ile pulpa dokusu içine itilen herhangi bir materyalin pulpa dokusunun derin bölgelerinde iyileşmeyi ve dentin köprüsü oluşumunu olumsuz yönde etkileyeceği belirtilmiştir (Stohton 1999). Bu nedenle, çalışmamızda DPK ajani perforasyon yüzeyine uygulanırken basınçsız bir şekilde yerleştirildi.

Pulpal yaralanmalarda, trombosit kaynaklı büyüme faktörü(PDGF), Epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGFs), dönüştürücü büyüme faktörü (TGFs) interlökinler (IL), tümör nekroz faktörü(TNF), makrofaj kolonisini uyarıcı faktör gibi büyüme faktörleri ile kemotaktik faktörler yaralanma sahasındaki trombositlerden ve makrofajlardan ortama salgılanmaktadır. Bu faktörler hem fibroblastları hem de damar düz kaslarını uyararak çoğalmalarını sağlamaktadırlar(Ross 1987, Nakashima 1992, Rutherford et al., 1993, Tziafas et al., 1993,Nakashima 1994a, 1994b, Tziafas et al., 1995, Tziafas 1995, Rutherford and Fitzgerald 1995). Fibroblastlar ortama çoğaldıklarında hücre dışı matriks salgılamakla görevli pulpanın esas hücreleridir(Heldin et al., 1989). Aynı zamanda bu ilk reaksiyonun sonucu olarak monosit, nötrofil ve fibroblastların yaralanma alanına göçünü sağlamaktadır(Deuel et al., 1982, Albert et al., 1991). Bağ dokusu yaralanmasının, erken dönem enflamatuvar yanıtında, PDGFs, EGF ve FGF trombositlerden ve makrofajlardan salgılanarak, ortamdaki özel hücre reseptörlerine bağlanmaktadır ve bu bağlantı hücre çoğalmasını, bağ dokusu şekillenmesini ve epitelin rejenere olmasını sağlamaktadır(Ross 1987). Bu enflamatuvar yanıt mekanizması pulpa perforasyonu sonrasında görülen mekanizmaya benzemektedir(Hu et al. 1997). Pulpal yaralanma sonucu farklılaşmamış mezenşimal hücreler uyarılır, odontoblast benzeri hücrelere farklılaşarak, bu oluşan hücrelerden, sert doku bariyerini pulpada yeniden oluşturabilmek ve pulpanın fizyolojik aktivitesini koruyabilmek için tersiyer dentin salgılanmaktadır(Hu et al., 1997).

Büyüme faktörlerinin fizyolojik konsantrasyonlarda yumuşak dokulara uygulandığında çevre dokulardan 24 saat içerisinde emildiği gösterilmiştir. Her ne kadar bu durum kısa süre içinde oluşsa da etkisi uzun dönem devam etmektedir (Smith et al., 2007). Smith et al. (2007), hücre içi aktif taşımada enerji kaynağı olarak kullanılan ATP'lerin fosforilasyon tepkimesi ile parçalanmasını gösteren

“Fosforilasyon tekniği” uygulanarak büyüme faktörlerinin hedef hücre zarlarında bulunan kendi reseptörlerine bağlanmasını incelemişlerdir. Ortamda bulunan büyüme faktörlerinin 15 dakikada yüzey reseptörlerine bağlandığını, hücre zarı reseptörüne büyüme faktörü bağlanan hücre içinde glikoliz artışı ve 3 saat içerisinde hücre DNA’sının aktivasyonu gözlemlenmiştir(Smith et al., 2007). 15-20 saat içerisinde ise RNA ve protein sentezinin gerçekleştiği bildirilmiştir(Smith et al., 2007). Böylece ekzojen(dışsal kaynaklı) büyüme faktörlerinin doku reaksiyonunu başlattığı rapor edilmiştir(Smith et al., 2007). Negatif geribildirim önlenmesi ve büyüme faktörleri reseptörlerinin inhibe edici bir düzenlemeyi en aza indirmek amacı ile birçok çalışmada fizyolojik sınırlardaki en fazla büyüme faktörü yoğunluğu esas alınmıştır (Barrow et al., 1991, Charette 1991, Hu et al., 1992, Rutherford et al., 1992, Cho et al., 1995a, Hu and Slavkin 1995, Hu et al., 1997).

Kemirgenlerde ve insanlardaki PDGF amino asit dizilimi %91 oranında benzerlik göstermektedir(Hu et al., 1997). rat kesici dişleri üzerine yapılan bir çalışmada rat kesici dişlerinin pulpalari, insan kaynaklı PDGF ve EGF ile birlikte *in vivo* olarak kaplanmıştır. Yazarlar bu büyüme faktörlerinin rat kesici dişi pulpasındaki farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin DNA sentezini arttırarak, hücre çoğalmasının gerçekleşmesi ve hücrel etkileşimlerin artışına bağlı olduğunu ve bu mekanizma ile iyileşmenin görülebildiğini tartışmışlardır (Hu et al., 1997). Ayrıca çalışma gruplarında ayrı ayrı denedikleri bu büyüme faktörlerinin etkinliğini anlamlı derecede düşük olduğuna işaret ederek bu iki büyüme faktörünün bir arada kullanımının etkili olduğu tartışma konusudur(Hu et al., 1997). Büyüme faktörlerinin birlikte kullanıldığı bir başka çalışma da PDGF ve IGF kombinasyonu maymunlar üzerinde denemiş ve sement, periodontal ligament ile alveol kemikte iyileşmeyi uyardığı rapor edilmiştir(Charette 1991).

Bugüne kadar büyüme faktörleri ile yapılan çalışmaların tümü tek başına, ikili kombinasyonlar ile veya bir taşıyıcıyla kombine edilerek uygulanmıştır. Ancak günümüzde etkisi gösterilen bu faktörler için en büyük sorun, sert doku tamiri sırasında ve iyileşme sonrasında normal konsantrasyonlara dönmesi gerekliliğidir (Tziafas et al., 2000). Bu durumu destekleyen bir başka çalışmada ise büyüme faktörlerinin doku iyileşmesinde sinyal molekülü olarak görev yaptığı bildirilmiştir. Deneysel kullanımı sonucu gösterilmiş olmasına rağmen bu moleküllerin tamir

sırasında gerçekleşen tepkimelerin pulpa odasının tamamen kalsifikasyonuna yol açan kontrolsüz bir reperatif dentin oluşturduğu henüz gösterilmemiştir. Ancak kontrolsüz bir şekilde sert doku tamirinin devam etmemesi sağlamak için büyüme faktörlerinin düzenlenmesi gerektiği önerilmektedir (Smith et al. 2002).

Bu sebeplerden yola çıkarak, tersiyer dentin yapımında ve pulpal iyileşmede potansiyelleri gösterilen büyüme faktörlerinin yaklaşık tamamını kapsayan trombositten zengin plazma (TZP), çalışmamızda DPK materyali olarak kullanıldı. Ulaşılabilir kaynaklardan yaptığımız literatür taramasında vital pulpa tedavisinde büyüme faktörlerinin neredeyse tamamının birlikte kullanımına yönelik bir çalışmaya rastlanılmadı.

Çalışmamızda TZP'nin beklenen etkisi, pulpal perforasyon bölgesinde lokal olarak trombosit sayısını arttırması ve ortama salınan büyüme faktörlerinin etkisini güçlendirmesiydi. Aseptik koşullar altında, pulpa perforasyonları çürüksüz sağlıklı dişlere uygulandı. Mekanik perforasyona bağlı pulpa bağ dokusundaki kapiller yaralanma ve kanama bölgeye trombositlerin taşınması için bir kaynak oluşturdu. Marx et al., (1998) çalışmalarında yara bölgesine lokal olarak uygulanmış TZP nin birim alanda trombosit sayısını %338'e kadar arttırdığı sonucunu elde etmişlerdir. Bu bulgu kontrol grubunda ortalama 232.000 olarak sayılırken, TZP grubunda ise 785.000 grup ortalamasına sahiptir. Bununla birlikte TZP grubundaki sayılan en fazla örnekte ise 1.100.000 adet trombosit sayılmıştır.

Araştırmacılar TZP ile çeşitli kraniyofasiyel ve dental uygulamaların sonucunda yara yüzeyindeki pıhtıda trombositlerin alfa granüllerinden büyüme faktörü salgılanması ile endojen büyüme faktörlerinin salgılanmasının arttırdığını ve iyileşmeyi hızlandırabildiği rapor etmişlerdir (Marx ve Garg 2005). Çalışmamızda da Marx et al. (1998) çalışmasının sonuçlarını destekleyerek, TZP grubuna ait örneklerin çoğunluğunda, pozitif kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklılaşarak, pulpal bağ dokusu iyileşmesi gözlemlendi.

TZP' de bulunan büyüme faktörleri uygun yüzey reseptörleri olan hücrelere bağlanabilmektedir(Rutherford and Fitzgerald 1995). Büyüme faktörleri hiçbir zaman hedef hücre içine girmemekte sadece hedef hücre zarında bulunan özel reseptörlerini aktive etmektedir(Rutherford and Fitzgerald 1995). Pulpal hedef hücrelerin yüzeylerinde TGF- β s, IGF, EGF, PDGF reseptörleri varlığı gösterilmiştir (Rutherford

and Fitzgerald 1995). Bundan dolayı pulpa hedef hücrelerinin büyüme faktörlerine, özel reseptörleri ile bağlanarak cevap vermeleri beklenebilir(Rutherford and Fitzgerald 1995). Bu bağlanma sonucunda hedef hücre sitoplazmasına geçen küçük hidrofobik sinyal molekülü, taşıyıcı proteinler aracılığı ile hücre çekirdeğine ulaşmaktadır. Hücre çekirdeğindeki sitozolik reseptörler ile nükleer reseptörlere ulaşan sinyaller ile hücre DNA'sı uyarılmaktadır(Smith et al., 2007). Bu etkileşimlerin sonucunda hücre bölünmesini uyarılması, kollajen sentezi, sert doku matriksi salgılanması gibi olaylar gerçekleşebilir(Caplan 2000). Bu anahtar kilit uyumuna dayanan mekanizma ile dışarıdan bir büyüme faktörü uygulamasının kontrolsüz bir hücre büyümesi veya bölünmesi gibi aşırı bir reaksiyona sebep olamayacağını açıklamaktadır (Caplan 2000).

TZP elde edilirken pıhtılaşmayı önleyici madde olan ACD-A ile etkileşimin TZP'yi +4°C de 8 saate kadar saklanabileceği bildirilmiştir(Marx and Garg 2005). Elde edilen TZP'nin, %10'luk CaCl₂ ve sığır trombini ile karıştırılarak aktivasyonunun 6-10s içinde pıhtılaşma sağladığı yine aynı çalışmada bildirilmiştir(Marx and Garg 2005). Landesburg et al. (1998) TZP'nin potansiyel risk taşınması ile ilgili editöre mektubunda, otolog olarak hazırlanan TZP'ye sığır trombini eklenmesinin faktör V, XI ve trombine karşı antikor gelişimi ve beraberinde hayati tehlike yaratabilecek koagülopatiler ile sonuçlanabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar sığır trombini ile TZP'nin birlikte, nöroşirurji ve kardiyovasküler cerrahi girişimlerde kullanılmaması gerekliliğini de eklemişlerdir (Landesburg et al., 1998). Çalışmamızda TZP grubu uygulanmasında otolog yolla elde ettiğimiz TZP'ler, herhangi bir immunolojik yanıt oluşturmaması için %10'luk CaCl₂ve rat trombini ile aktive edildikten sonra, steril kollajene emdirilerek, pulpa perforasyon sahasına taşındı. Bununla birlikte yöntem konusundaki bu tartışmalara rağmen çalışmamızda kullanılan hiçbir denekte kayıp oluşmadı.

TZP ile diş sert dokularında ve pulpal iyileşmesinde potansiyel olumlu sonuçlara sahip büyüme faktörlerinin klinik kullanıma geçmeleri mümkün olabilir. Vital endodontik tedavide TZP kullanımından beklenen yararlar anti-inflamatuvar ve rejeneratif etkidir. Pulpa iyileşmesinde, pulpal enflamasyonun azalması ve eliminasyonu istenmektedir. Pulpada iyileşme süresince TGF-β 'nın monositleri stimüle ederek interlökin-1(IL-1) salgılanmasını uyarmak yoluyla dolaylı olarak,

PDGF'nin ise doğrudan nötrofil ve makrofajları uyararak enflamatuar etkilerin azalmasında katkıları olacağı düşünülmektedir(Smith 2002a).

Hu et al. (1998), büyüme faktörleri ile rat molar dişlerine DPK uygulamıştır. EGF, FGF, IGF, PDGF-BB, TGF- β_1 ile kollajen kontrolü ve prosedür kontrolü çalışma gruplarını oluşturarak postoperatif 14 ila 21 gün sonraki diş sert ve yumuşak dokularındaki değişiklikleri izlemişlerdir. Yumuşak dokulardaki gözlemsel skorlamalarda enflamasyonun aşamalarını hafif enflamasyondan, şiddetli enflamasyona kadar değişen durumları belirlemişlerdir (Hu et al., 1998). Sert doku değerlendirmesinde ise oluşan tersiyer dentinin devamlılığı ve kalitesini belirleyen skorlama sistemini Cox et al. (1987) çalışmalarında yer alan kriterleri değiştirerek kullanmışlardır. 14 gün sonrası elde ettikleri bulgulara göre, sert ve yumuşak doku yanıtında büyüme faktörleri grupları arasında herhangi bir farklılaşma görülmemiştir(Hu et al., 1998). Buna karşın 21 gün sonrasında TGF- β_1 grubundaki örneklerin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılaştığı bulunmuştur(Hu et al., 1998). Kontrol grubunda KH uygulanmış örneklerde lokalize enflamasyon izlenirken, TGF- β_1 grubunda damarsal genişleme, tersiyer dentin köprüsünün tamamlandığı izlenmiştir(Hu et al., 1998).

Çalışmamızda, TZP grubuna ait örneklerin grup içi değerlendirilmesinde, enflamatuar reaksiyon açısından 7.güne ait örneklerde “şiddetli enflamasyon”, 28. güne ait örneklerinde enflamatuar hücre sayısının azalmasına bağlı olarak enflamasyonun şiddetinde büyük bir azalma olduğu gözlemlendi($p<0.05$). Enflamasyon parametrelerinde zamana bağımlı bu değişikliklerin bir benzeri de hiperemi parametresi için gözlemlendi. 7. ve 28.gün sonuçları incelendiğinde zamanla örneklerde hipereminin azaldığı ortaya çıkarıldı($p<0.05$). TZP grubuna ait 7.gün sonuçlarında 11(%46) örnekte nekroza rastlanırken, 28.günde yalnızca 4(%18) örnekte nekroz izlendi. 28.gün gözlem periyodunda daha az örnekte nekroz görüldüğü belirlenerek, anlamlı farklılığın olduğu sonucuna varıldı($p<0.05$). TZP grubu örneklerinin, pulpal iyileşmeye olan olumlu etkisi birçok çalışmada saptanan MTA grubu örnekleri ile DPK uygulamalarında altın standart olarak kabul edilen KH grubu örnekleri ile enflamasyon türü, enflamatuar hücre yoğunluğu ve pulpal hiperemi açısından oluşan farklılıklar anlamlı olmadığı gözlemlendi. Çalışmamızdaki TZP ile KH grupları arasında enflamasyon açısından farklılığın anlamlı olmayışı, Charette (1991),

Hu et al., (1998) sonuçlarını desteklemektedir. Buna karşın Nakashima (1994) köpek kesici dişlerine büyüme faktörleri ile amputasyonlar uygulamış, 70 gün sonrasında örneklerde pulpal rejenerasyonu azaltıcı etkisinin oluştuğunu rapor etmiştir. Nakashima (1994) çalışmasındaki sonuçlarındaki bu durum, pulpal perforasyon boyutlarının farklı olması, hayvan türü seçimi veya büyüme faktörünün yoğunluğunun birim alanda farklı olabilmesi gibi nedenlerden kaynaklandığını düşünüldü. Çalışmamızda, örneklerin herbirine ISO 004 frez ile minimal pulpa perforasyonları oluşturulurken, Nakashima (1994) çalışmasında koronal pulpa tavanı tamamen kaldırılarak, vital amputasyon uygulanmıştır.

Vital endodontik tedavilerde büyüme faktörlerinin tamamına yakınının birlikte kullanımına yönelik ulaşabildiğimiz bir kaynak bulunmamaktadır. Tavşanlar ve koyunlar üzerinde uygulanan hayvan çalışmalarında, TZP eklenmiş ve eklenmemiş otojen kemik greftleri ile sinüs yükseltme operasyonları sonrasında elde edilen sonuçlardan kontrol grupları ile arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Jakse et al., 2003, Butterfield et al., 2005). Buna karşın domuzlar üzerinde uygulanan sinüs yükseltme operasyonunda TZP kullanımının osteoblastlar ve osteosit hücrelerini hedef alarak yeni kemik dokusundaki iyileşmede ivme kazandırdığı rapor edilmiştir (Kassolis et al., 2000).

İnsanlarda 2 hafta izlenen kontrollü çalışmalarda TZP eklenmiş β -TCP kemik grefti ile sinüs yükseltme operasyonu sonrasında kemik dokusunda iyileşme olduğu göstermiştir (Wiltfang et al., 2003), benzer kemik rejenerasyonları da insanlar üzerinde çeşitli uygulamalar ile rapor edilmiştir (Marx et al., 1998, Anitua 1999).

Biyolojik olarak aktif büyüme ve morfogenetik birçok faktörün DPK materyali olarak uygulanmasıyla pulpa perforasyonunu tamir eden sert doku formasyonu görülmüştür. Bone morphogenic protein 2, 4 ve 7'nin (BMP-2, BMP-4 ve BMP-7) ve IGF-I gibi proteinlerin tübüler tersiyer dentin oluşumunu indüklediği bildirilmiştir (Rutherford et al., 1993, Nakashima 1994a, 1994b, Jepsen et al., 1997, Lovschall et al., 2001). Sert doku organik matriksinin önemli protein bileşenlerinden biri olan kemik sialoproteini (BSP) ile gerçekleştirilen bir başka DPK çalışmasında ise osteodentin ile birlikte görülen mineralize atübüler reparatif dentin oluşumu gözlenmiştir (Decup et al., 2000). Periferel pulpa alanlarında TGF- β 1 atübüler yapıda tersiyer dentinogenezis indüksiyonu gerçekleştirirken (Lovschall et al., 2001, Yıldırım

ve ark. 2001), santral pulpa alanlarına implante edildiğinde düzenli tübüler tersiyer dentin oluşumu indüklemektedir (Tziafas and Papadimitriou 1998). Bu *in vitro* çalışmaları *in vivo* olarak destekleyerek, Hu et al., (1998) rat molar dişlerinde 25ng doz ile gerçekleştirilen pulpa kaplamasında TGF- β_1 'in reparatif dentinogenezisi indüklediğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda gerçekleştirilen odontoblast benzeri hücre sayı ortalaması sonunda TZP grubunun, her iki inceleme döneminde de MTA, KH grupları ile EMD grubu 28.gün sonuçlarına göre benzer sonuçlar oluşturduğu bulundu. EMD 7. grubundan ise istatistiksel olarak anlamlı olarak fazla olduğu belirlendi($p<0.05$). TZP'nin perfore pulpa yarası üzerine uygulanmasının, 7.gün sonunda ve 28. gün sonunda negatif kontrol grubu, MTA grubu ve KH grubu ile çok yakın değerlerde odontoblast benzeri hücre sayı ortalamalarına ulaştığı saptandı. Tersiyer dentin kalınlığı açısından, MTA grubundan daha düşük kalınlıkta olmak üzere($p<0.05$), Büyüme faktörlerini içeren TZP grubunda görülen sert doku iyileşmesine yönelik olan rejenerasyonun, büyüme faktörlerinin etkinliğine atfedileceği düşünüldü. Bununla birlikte TZP'nin tersiyer dentin üzerindeki etkileri erken dönemde baskın olduğu ancak süre uzadıkça etkinliğinin MTA grubunun gerisinde kaldığı ve diğer gruplar ile aralarında anlamlı farklılığın olmadığı bulundu. Tersiyer dentin gözlenen örneklerin çoğunda tübüler yapıda olduğu ve kalsifiye dokunun(osteodentinin) oldukça hızlı oluştuğunu gösteren hücrel inklüzyonların varlığı gözlemlendi.

TZP'nin kemik defektlerinin tamirindeki etki mekanizması olarak TZP içindeki trombositlerin, kemik tamiri sırasında periosteumun mitojenik etkisini stümüle etme potansiyeline sahip olmaları şeklinde açıklamıştır (Gruber et al., 2003). Farklı yoğunluklardaki TZP'nin osteoblast benzeri hücrelerin çoğalması üzerine olan etkisinin incelendiği bir çalışmada, yoğunluğun artışına paralel olarak osteoblastların çoğaldığı ve TZP'nin kemik iyileşmesinin hızlandırılmasında olumlu katkıları olacağı savunulmuştur (Weibrich and Kleis. 2002). Bununla birlikte Weibrich et al. (2003) yaptıkları bir başka çalışmada, ne tam kandaki trombosit miktarına ne de TZP içerisindeki trombosit miktarına bakarak elde edilecek büyüme faktörü miktarının tahmin edilemeyeceğini bildirmişlerdir. Landesberg et al. (2000) çalışmalarında 3 donörden elde ettikleri venöz kan örneklerinden, 2 farklı yöntem ile TZP hazırlamışlar ve içeriğindeki büyüme faktörü seviyelerini göstermişlerdir. Büyüme faktörlerinin

tanısında ELISA yöntemi kullanılan çalışmada hücre çoğalmasını uyaran, güçlü kemotaktik özellikleri bulunan ve osteoblast prekürsör hücrelerini etkileyen TGF β ₁ ve PDGF seviyelerinin TZP içerisinde farklı donörlerde farklı olduğunu ancak plazmadaki miktarlarına göre anlamlı derece yüksek olduğunu göstermişlerdir(Landesberg et al., 2000).

Çeşitli biyomateryaller ile DPK uygulanan birçok çalışmada, biyomateryalleri pulpal perforasyon sahasına taşıyabilen ve stabilizasyonunu sağlayabilen bir taşıyıcı yapı tercih edilmiştir(Hu et al., 1997, Hu et al., 1998, Decup et al., 2000, Six et al., 2002). Hu et al. (1997) rat kesici dişlerinde oluşturdukları pulpal perforasyonlara, kollajen yapıda taşıyıcı ile PDGF ve EGF birlikte ve ayrı ayrı gruplar haline uygulamışlardır. Hu et al.(1998) ise rat molar dişlerindeki pulpal perforasyonlara; FGF, IGF, TGF β ₁, PDGF ve EGF ayrı ayrı pulpal perforasyon sahasına kollajen taşıyıcı ile uygulamışlardır. Üstelik steril kollajen membranı, herhangi bir medikament uygulanmaksızın DPK kontrol grubu olarak seçilmiştir. Sonuçta kollajen kontrol grubunda da pulpal enflamasyonun erken dönemde diğer gruplara benzer bulgular gösterildiği bildirilmiştir(Hu et al., 1998). Araştırmacılar bu durumun kollajenin kanama durdurucu etkisinden ve kontamine olmamış pulpal yüzeyde bariyer görevi göstererek erken dönem iyileşmede etkili olduğunu rapor etmişlerdir(Hu et al.,1998).

Decup et al. (2000) 36 adet rat molar dişlerinde hazırladıkları pulpal perforasyonlara çeşitli materyaller ile DPK uygulamıştır. Negatif kontrol grubunda yalnızca cam iyonomer siman ile DPK sağlanmış, taşıyıcı kontrol grubunda ise pulpa üzerine steril jelatin yerleştirildikten sonra cam iyonomer siman ile örtüleme sağlanmıştır. Deney grupları için KH grubunda, KH ve cam iyonomer siman ile Osteojenik protein grubunda, kemik sialoproteini jelatinle pulpaya taşınarak cam iyonomer siman ile DPK uygulanmıştır. 8, 15 ve 30 günlük inceleme dönemlerinde jelatinin herhangi bir terapötik etkisinin olmadığı, pulpada iyileşme gözlemlenmediği, buna karşın KH ve osteojenik protein grubunda mineralize doku ile birlikte düzgün bir yara iyileşmesi gözlemlenmiştir(Decup et al., 2000).

Nakamura et al. (1994) rat molar dişlerinden elde ettikleri doku kültürlerinde 10 ve 21. gün sonrasında odontoblast hücrelerinin çevresinde salgılanan osteodentin yapının cidarında gelişimsel mine proteinlerinin PCR tekniği ile varlığını rapor etmişlerdir. Dişin gelişimi sırasındaki mine proteinlerinden amelogeninin, dentin

yapımında aracı bir madde olabileceğini bildirmişlerdir (Nakamura et al., 1994). EMD, temel içeriği amelogenin proteini olan bir mine matriks türevidir. Amelogenin hidrofobik özellikte ve nötral pH'da suda çözünebilir özellikte bir proteindir. Klinik çalışmalarda, EMD uygulama sonrasında, hasar görmüş kök yüzeyi üzerine tabakalar halinde amelogeninlerin çöktüğü belirtilmektedir (Gestrelus et al., 2000).

EMD ile ilgili etki mekanizması teorilerinden biri, EMD'nin karmaşık sarmal yapıda çözünmez bir matriks oluşturarak fibroblast ve osteoblast gibi doku yenileyici özelliğe sahip hücrelerin yapışma ve çoğalmalarını sağladığı düşünülmektedir (Gestrelus et al., 1997). Aynı zamanda bu çözünmez matriks yapısının yapışan ve çoğalan hücreler tarafından büyüme faktörlerinin ortama salgılanmasına olanak sağladığı rapor edilmiştir (Lyngstadaas et al., 2001). Ancak bu teoriye göre EMD'nin etkisini göstermesi için hücrelerle doğrudan teması gerekmektedir (Gestrelus et al., 1997).

Bir diğer teori ise EMD'nin laboratuvar ortamında üretim aşamasında karmaşık matriks yapısına giren biyoaktif moleküllerin ortama salgılanması sonucu doku rejenerasyonunu sağlaması yönündedir (Veis et al., 2000). Bu teori ile EMD ve osteoblastlar arasında doğrudan bir ilişki olmaksızın, EMD'nin hücre çoğalmasını meydana getirdiği ve bunu çözülebilir bileşenler tarafından sağladığı görüşü ortaya çıkmaktadır. Çözünbilir moleküllerin, büyüme faktörlerinin yapısında olduğu fakat EMD içeriğinde bulunmadığı He et al. (2004) tarafından rapor edilmiştir.

Kawase et al. (2001) EMD içeriğindeki rejeneratif etkiyi oluşturan bileşenler ve etkileri üzerine yaptıkları çalışmada, EMD'nin etki mekanizmasını anlamak için fibroblastlar ve epitel hücrelerinde hücreler arası sinyalizasyon yollarını incelemişlerdir. EMD eklenen fibroblast ve epitel hücre kültürlerinde, hücreler arası sinyal molekülü olarak görev yapan Ca^{+2} molekülü üzerinde bir değişiklik yaratmadığı, buna karşın hücrelerde mitojen aktive edici proteinkinaz (MAPK) molekülünün üretildiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca immünohistokimyasal tekniklerden "Western-Blot" analizi kullanılan çalışmada, EMD'nin içeriğinde TGF- β veya TGF- β benzeri yapıda bir büyüme faktörünün bulunduğunu saptamışlardır (Kawase et al., 2001).

EMD, periodontal dokuların rejenerasyonu için geniş çaplı kullanılan bir materyaldir. EMD'nin osteojenik aktivitesi alveol kemiğindeki defektler üzerinde

yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Gestrelus et al.,1997, Heijl et al.,1997). Osteojenik aktiviteyi arttıran mekanizmalar kesin olarak açıklanamamıştır. EMD ile dentinojenik aktivitenin ilişkisi de bilinmemektedir. EMD kullanılarak yapılan pulpodentinal kompleks ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır (Nakamura et al., 2001,Nakamura et al., 2002, Ishizaki et al., 2003, Igarashi et al., 2003, Nakamura et al., 2004).

Bu çalışmada bir mine matriks türevi olan Emdogain® , diş sert ve yumuşak dokularındaki etkinliğini değerlendirebilmek amacı ile ratların kesici dişlerine uygulanarak, hem kendi içinde hem de farklı maddeler ile kontrollü karşılaştırmaları yapılarak incelendi.

Çalışmamızda EMD grubu örnekler 7.günde değerlendirildiklerinde perforasyon yüzeyinin altında, hücreli ve bol damarlı granülasyon dokusu izlendi. Pulpal yaralanma yüzeyinde odontoblast tabakasının devamlılığını yitirdiği, ancak pulpa dokusu ve odontoblast tabakası normal olarak değerlendirildi. Ayrıca pulpa merkezinde ve matriks bölgesine komşu alanda yoğun anjiogenez izlendi. Örneklerin yaklaşık %50'sinde tersiyer dentin oluşumu ve perforasyon bölgesinde odontoblast benzeri hücrelerin varlığı izlendi. Nekrotik doku varlığının sağlıklı dokuda yabancı cisim reaksiyonu sergileyerek, nekrozun enflamasyonu tetiklediği gösterilmiştir(Andreasen 1994, Hart 2002). Bu nekrotik dokular daha sonra metabolize olarak granülasyon dokusu ile yer değiştirmektedir(Greenhalgh 1998). Granülasyon dokusunun oluşması, kapillerin ve fibroblastların proliferasyonunu sağlayarak, pulpa dokusunun iyileşmesini başlatmaktadır(Hart 2002). Bundan dolayı enflamatuar reaksiyon yara iyileşme aşamasının gerekli ve temel bir bölümünü oluşturmaktadır(Andreasen 1994, Greenhalgh 1998, Hart 2002).

Emdogain®jel uygulanan bir hayvan çalışmasında, köpek dişlerinin pulpal enflamasyonu incelenmiştir. Çalışmada 7.güne ait yaygın bir kapiller konjesyon izlenerek bu durumun Emdogain® jel'in bu alanlara olan yaygın difüzyonu nedeniyle olmuş olabileceği düşünülmüştür (Ishizaki et al., 2003).

Rat molar dişlerine, bir gruba Emdogain® jel ve taşıyıcı madde(Propilen glikol aljinat: PGA), diğer gruba ise yalnızca taşıyıcı madde kullanılarak pulpa amputasyonları uygulanmıştır(Igarashi et al., 2003). Postoperatif 4 gün sonrasına ait kesitlerde, pulpal yara yüzeyinin altındaki bağ dokusunun granüler bir doku ile kaplı

olduğunu ve içerisinde kan, fibrin artıkları, makrofajlar ve fibroblastik hücreler olduğu bildirilmiştir (Igarashi et al., 2003). Bunun yanında örneklerin yaklaşık %11'inde açılan kavite bölgesinin altındaki dentin duvarlarında uzamış odontoblast benzeri hücreler tarafından yeni tamir dentini oluşumu izlendiği bildirilmiştir (Igarashi et al., 2003). 7.güne ait kesitlerde ise benzer şekilde yara yüzeyinin altındaki dentin duvarlarında, yaklaşık olarak örneklerin %67'sinde osteodentin yapıya benzer yeni tersiyer dentin dokusu izlendiği rapor edilmiştir (Igarashi et al., 2003). Araştırmacılar, Emdogain® jel'in pulpa amputasyonlarında, odontoblast benzeri pulpa hücreleri için pozitif bir matriks görevi görüp onların çoğalmasına ve farklılaşmasına neden olduğunu, tamir dentini için uyarıcı olduğunu ve dentin köprüsü oluşumuna katkıda bulunduğunu düşünmektedir (Igarashi et al., 2003).

Nakamura et al. (2004) minyatür domuzların 72 adet alt çene kesici dişlerinin pulpalarını KH ve EMD ile kapladıktan 4.gün, 1., 2., 3., 4., 8., ve 12. haftaların sonunda diş sert ve yumuşak dokularındaki değişiklikleri değerlendirmişlerdir. Bütün kaviteleri cam iyonomer siman ile doldurmuşlardır. 4. gün değerlendirdikleri minyatür domuzlara ait örneklerde, EMD ile pulpal yüzey arasında, akut enflamatuvar alanın üzerinde ince, hücreden yoksun bir nekrotik tabaka izlediklerini ve bu nekrotik tabakanın enflamatuvar hücreler ile çevrelendiğini bildirmiştir (Nakamura et al., 2004). KH grubunda ise 4. günde pulpal damarlarda genişleme, pulpa içi ödem ve hiperemi daha yoğun olarak gözlemlenmiştir (Nakamura et al., 2004). 7. günde ise, Emdogain® jel uygulanan dişlerin tümünde yüzeysel bir hücreden yoksun nekrotik tabaka, altında ise akut enflamatuvar bir canlı pulpa dokusu izlenmiştir. KH grubunda ise örneklerin çoğunda likefaksiyon nekrozu gözlemlenmiştir (Nakamura et al., 2004).

Ishizaki et al. (2003) ve Nakamura et al. (2004) 7. gün akut pulpal enflamasyon bulguları, kapiller değişiklikler ile benzerlik göstermiştir.

Çalışmamızda EMD grubuna ait 7.gün bulguları Igarashi et al. (2003) 7. gün bulguları ile benzerlik göstermekte, hatta perforasyon bölgesinin derininde gelişmeye başlayan yeni dokunun, dentin duvarlarında belirgin bir sınır ile ayrıldığı ve oluşmakta olan yeni sert dokuda hücresel inklüzyonların varlığı izlendi. Nakamura et al. (2004) yapmış oldukları çalışmada 4. gün bulgularından farklı olarak, perforasyon sahasında hücreden fakir nekrotik bir tabaka izlenmemiştir. O alanda yalnızca yoğun enflamatuvar hücre birikimi ve sert doku oluşumu gözlemlendi. 7. gün akut enflamasyon

bulgularımız Nakamura et al. (2004) ve Ishizaki et al. (2003) ile benzerlik gösterdiği görüldü. Nakamura et al. (2004) 4.gün bulgusunda çalışmamızın 7. gün bulgusu ile farklılaşan hücreden fakir nekrotik tabakanın izlenmemesi nedeni kullanılan canlı türü, erken dönem inceleme zamanı farklılıkları ile üst restorasyon seçiminin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda EMD grubunda, pulpal perforasyon bölgesinde odontoblast hücre tabakasının, histomorfometrik olarak 7.gün inceleme döneminde odontoblast benzeri sayı ortalamasının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde az bulundu. Igarashi et al. (2003) EMD'nin pozitif bir matriks görevi üstlenerek yalnızca tek hücre tipine (odontoblastlar) özel bir etki yapmamakla birlikte pulpada değişik hücre tiplerini tamir ve iyileşme için uyardığını belirtilmişlerdir. Çalışmamızdaki odontoblast benzeri hücre sayısı düşük olduğu halde sert doku oluşumunun varlığı bu teori ile açıklanabilir. EMD grubunu örneklerinin 7.günde gözlemlenen sert doku matriksi, EMD'ye bağlı metabolik faaliyetlerinin melenmesi sonucunda odontoblast sayısına bağlı olmaksızın neden olmuş olabilir.

Ishizaki et al. (2003), yapmış oldukları çalışmanın 4.haftasına ait Emdogain® jel grubuna ait örneklerinde, tersiyer dentinin pulpa odasının periferinde meydana geldiğini ancak dentin benzeri bir dokunun (dentin köprüsünün) gelişmediğini bildirmiştir. Ayrıca 4. hafta sonrası pulpa dokusu değerlendirilmesinde, perforasyon yüzeyinde lokalize kronik enflamatuar bir hücre yanıtı gösterdiğini bildirmişlerdir. Tersiyer dentinin altındaki tüm odontoblastların yok olduğunu ve pulpa hücrelerinin atrofik dejenerasyon geçirdiğini gözlemlemişlerdir (Ishizaki et al., 2003).

Nakamura et al. (2001) minyatür domuzlara Emdogain® jeli sınıf V kavitelere uygulamış ve 4. haftaya ait örneklerinde çoğunda yeni dentin benzeri doku ile odontoblast benzeri hücreleri izlediklerini ve dokunun dentin köprüsü gibi yara yüzeyinden biraz daha apikalde geliştiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacıların EMD kullanımının 4 hafta sonrasında değerlendirdiği diğer çalışmalarında ise sert dokunun tübüler dokuya benzediği, sert dokuya komşu olan odontoblast benzeri hücrelerin bitişik olduğu ve pulpada enflamatuar bir bulguya rastlanmayan sağlıklı bir doku izlenmiştir (Nakamura et al., 2002).

Igarashi et al. (2003) Emdogain® jel ile yapmış oldukları vital amputasyon sonrası, 30. günde inceledikleri kesitlerinde, örneklerin toplam %27,3'ünde dentin

köprüsü izlemişlerdir. Çalışmalarında tersiyer dentin oluşumunun 30.günde halen devam ettiği, dentin köprüsünün tamamen oluşmuş olduğu, örneklerde pulpanın enflamatuvar bir bulgusunun olmadığı görülmüştür. Dentin köprüsünün tamamlanmadığı örneklerde koroner pulpanın çevresinde osteodentin benzeri tersiyer dentin ve diffüz kalsifikasyon oluşumu izlemişlerdir. Oluşan osteodentin benzeri dokunun yoğunluğu daha önceden var olan dentin yoğunluğuna benzer olarak bulunmuştur.

Çalışmamızdaki 28.güne ait EMD grubu örneklerin tümünde oluşan sert dokunun pulpa odasının periferini örttüğü ancak erken dönem sonuçlarından farklı olarak odontoblast benzeri hücrelerin sayısını diğer gruplara göre benzer olduğu saptandı($p>0.05$). Gelişen dentin köprüsü kalınlığına ait bu farklılıklar, Ishizaki et al. (2003) 4 hafta sonrası Emdogain® jel grubunun iyileşmeye ait 4. hafta sonrası bulgularını desteklememektedir. Ishizaki et al. (2003) 10 aylık köpeklerin kesici, premolar ve molar dişlerini perfore ettikten sonra kanama kontrolünde %5.25'lik NaOCl ve %3'lük H₂O₂ ile sağlamışlardır. Ayrıca Ishizaki et al. (2003) üst restorasyon seçiminde çinko fosfat simanı tercih etmişlerdir. Çalışmamızda EMD grubunda görülen pulpal iyileşme, Ishizaki et al. (2003) sonuçlarından farklı oluşu; kullandığı deney hayvan modeli, diş tipi seçiminin farklı oluşu, kanama kontrolünde sitotoksik ajanların tercih edilmesi veya üst restorasyon seçiminden kaynaklanmış olabilir. Emdogain® jel üzerine örtüleme amacı ile cam iyonomer siman(Nakamura et al., 2001, 2002, 2004, Igarashi et al., 2003) ve çinko fosfat siman(Ishizaki et al., 2003) gibi birbirlerinden farklı materyaller uygulanmıştır. Tamir dentini oluşumunun gerçekleşmemesi ya da farklı tiplerde sert ve yumuşak doku iyileşmesinin görülmesi, çalışma yöntemlerinde kullanılan örtüleme maddesinin yan etkilerinden veya mikrosızıntıdan kaynaklanmış olabilir.

EMD grubunun 28.gün örneklerinde oluşan sert dokunun atübüler yapıda olduğu, tübüler dentinden belirgin bir sınırla ayrıldığı, hücrel inklüzyonların geç dönemde daha az izlendiği ve pulpada kapiller konjesyon çalışmamızda gözlemlendi. EMD grubuna ait elde ettiğimiz sonuçlar, EMD veya KH karşılaştırılması yapılan Nakamura et al. (2001), Nakamura et al. (2002) ve Nakamura et al. (2004) çalışmalarında 4. haftalarında gözlemlenen sert doku oluşumu ile benzerlik göstermektedir. EMD gruplarında, KH grubuna göre tersiyer dentin oluşumu gözlenen

örnekler birbirlerine yakın olarak bulunurken oluşan tersiyer dentin kalınlığının KH grubuna göre daha ince olduğu gözlemlendi($p>0.05$). Bunun sonucunda EMD'nin KH'e göre daha kontrollü bir tersiyer dentin yapımı olduğu gösterildi. Nakamura et al. (2002), Dycal® ile tedavi edilen minyatür domuz kesici diş pulpalarında, EMD grubuna göre 4. haftada daha kalın bir sert dokunun olduğu, bunun sonucunda da pulpa odasının hacminin azaldığı ve kök kanallarının da daralabileceği rapor edilmiştir(Nakamura et al., 2002).

Kalsiyum hidroksit direkt pulpa kaplamasında en yaygın uygulanan materyaldir. KH'nin direkt pulpa tedavilerinde kullanımına yönelik yapılan bir makale derlemesinde, 1934 yılından bu yana 33 adet çalışmada daimi insan dişlerinde, kontrol grubu veya deney grubu olarak kullanıldığı belirtilmiştir(Dammaschke et al., 2010a). Farklı formlarda insanlara uygulanan KH ile DPK uygulamasının başarı oranı %37'den (Barthel et al., 2000) %97,8(Armstrong and Hoffman 1962)'e kadar çeşitlilik göstermektedir. Bu başarı oranındaki farklılıklar araştırmacıların lastik örtü uygulamaları, takip ettikleri olgu sayıları, kullandıkları yöntem, daimi restorasyon seçimleri, takip süreleri, diş tipi ve hastaya ait faktörler gibi nedenlerden ötürü ortaya çıktığı Dammaschke et al. (2010a) tarafından rapor edilmiştir.

Kalsiyum hidroksitin DPK uygulamalarında, ağız sıvılarında çözünmesi, sağlıklı dentine bağlanma kuvvetinin yetersiz olması ve kalıcı restoratif işlemler için adeziv sistemlere bağlanamaması gibi çeşitli olumsuz yönleri rapor edilmiştir(Cox and Suzuki 1994). Ancak alkalin özelliği, güçlü bakterisidal etkisi, tersiyer dentin oluşturma kapasitesi ve ekonomik oluşu gibi avantajlarından dolayı ile DPK uygulamalarında en çok bilinen ve tercih edilen materyal olma özelliğini korumaktadır(Schröder 1985, Stanley 1989, Stanley 1993).

Yoshida et al. (1994), maymun dişlerine KH ve alfa-trikalsiyum fosfat(α TCP) ile DPK uygulanmasının 4. ve 8. haftaları sonrasında histolojik olarak değerlendirmişlerdir. %1'lik KH uygulanan örneklerde pulpa dokusunda destrüksiyon, perfore sahanın altında kalın sert doku olduğu, bu sert dokunun da koronalde osteodentin, pulpal yüzeyde odontoblast benzeri hücrelerle yakın komşulukta olan tübüler dentin tipinde olduğunu rapor etmişlerdir(Yoshida et al., 1994). α TCP grubu örneklerde atübüler matriks biçiminde ince bir dentin bariyeri olduğu, yaralanma yüzeyinde enflamatuar hücre birikimi gözlemlenmiştir(Yoshida et al., 1994). KH'in

pulpa dokusu ile doğrudan temas halinde olduğu yüzeyde koagülasyon nekrozu gözleendiği, bu nekrozun da sınırlı derinlikte olup, altındaki yüzeyde hücre göçü, hücre farklılaşması ve dentin matriksi salgılanması gibi hücrel rejeneratif olaylar gerçekleştiği ancak kalın bir dentin bariyeri oluşturduğu rapor edilmiştir(Yoshida et al., 1994).

Hebling et al. (1999), 12-15 yaşlarındaki ortodontik amaçlı çekim endikasyonu olan 32 adet daimi premolar diş pulpalarına KH ve bir adeziv sistem ile kaplandıktan 7, 30 ve 60 gün sonra KH grubunda odontoblast benzeri hücrelerin tersiyer dentin ile pulpal yaralanma oldukça yakın komşulukta olduğunu gözlemlemiştir. 7.gün sonrasında kalsiyum hidroksit grubunda, koagülasyon nekrozu alanının altında odontoblast benzeri hücrelerin oluştuğunu ve 60. günde ise dentin köprüsünün oluşumunu tamamladığını belirtmişlerdir. Buna karşın adeziv sistem uygulanan örneklerde ise dirençli yoğun enflamasyon gözlemlenmiş, bu bulgulara sert doku bariyerinin görülmemesi eklenmiştir(Hebling et al., 1999). Araştırmacılar bu durumun monomer yapıda olan adeziv sistemin pulpa için sitotoksik olabileceğinden kaynaklandığını düşünmüşlerdir(Hebling et al., 1999).

Pereira et al. (2000), insan dişleri üzerine DPK uygulamasında adeziv bir sistem ile kalsiyum hidroksitin etkinliğini karşılaştırmıştır. 9 günlük kısa dönem inceleme sonuçlarında, adeziv sistem ile DPK uygulanan dişlerde kapiller genişlemeye bağlı ödem ve orta derecede enflamatuvar reaksiyonların saptandığını, uzun dönemde ise örneklerde pulpada iyileşme ve tersiyer dentin dokusu oluşumunun gözlenmediğini belirtmişlerdir. Buna karşın KH grubu örneklerde erken dönemde pulpal iyileşmenin ve dentin köprüsü oluşumunun 9-12.günlerde başladığı, 53. ve 204. gün incelemelerinde ise sert doku oluşumunun devam ettiğini rapor etmişlerdir. Adeziv sistemin başarısızlığını polimerizasyonun sağlanamadığı örneklerde mikroabseler ve bakteriyel infiltrasyon varlığı ile açıklamıştır(Pereira et al., 2000).

Maymun dişlerinde, KH kontrollü bir başka DPK çalışmasında, 7.günde KH (Dycal) grubunda nekroz ya da abse oluşumu gibi reaksiyonlara rastlamamış, hafif şiddetli enflamasyon saptanmıştır. 30. günde ise tersiyer dentin oluşumu rapor edilmiştir (Kitasako et al., 1998). Aynı araştırmacıların maymunlar üzerinde DPK uyguladıkları bir başka çalışmalarında ise 3.ve 7. günlerde Dycal(KH) grubunda

nekroz, hafif-orta şiddetli enflamasyon ve 30. günde tersiyer dentin oluşumu gözlemlenmiştir(Kitasako et al., 2000b).

Dammaschke et al. (2010c), 36 adet rat molar dişlerine MTA ile direkt pulpa kaplaması (DPK) uygulaması sonrasında 1., 3., ve 7. günlerde pulpal hücre çoğalmasını değerlendirilmiş ve sonuçlarını kalsiyum hidroksit ile karşılaştırmıştır. İmmünohistokimyasal teknik kullanılarak bu iki çalışma grubu ve kontrol grubunun ilgili zamanlara göre hücre sayısı değişiklikleri ile bu değişiklikleri gösteren hücre tipleri belirtilmiştir. Sonuçta her iki materyal arasında anlamlı bir fark bulunmazken kontrol grubu ile deney gruplarının 3. günde hücre sayısının ile 7. Günde izlenen Höhl hücre miktarının anlamlı derecede farklılaştığı rapor edilmiştir. Araştırmacılar Höhl hücrelerinin varlığını potansiyel odontoblast benzeri hücre olarak tanımlayarak tersiyer dentin sentezleyebileceğini tartışmışlardır(Dammaschke et al., 2010c).

Turner et al. (1987) 7. güne ait örneklerinde koagülasyon nekrozu tabakası ile diş pulpası arasında demarkasyon hattı ve ona komşu yeni odontoblast benzeri hücreler izlediklerini bildirmişlerdir. Stanley et al. (1989) ve Heys et al. (1990), 10. güne ait kalsiyum hidroksit grubu örneklerinde, odontoblast benzeri hücreler ve dentin köprüsü oluşumu izlediklerini bildirmiştir.

Çalışmamızın 7.gün sonrasında KH grubuna ait birçok örnekte DPK alanına komşu pulpada birçok odontoblast benzeri hücre izlendi. Ayrıca bazofilik boyanmış bir tabakanın altında, yeni oluşan osteodentin benzeri doku varlığı ve içerisinde hücrel inklüzyonlar gözlemlendi. Çalışmamızda elde edilen bu bulgular Turner et al. (1987), Stanley et al. (1989) ve Heys et al. (1990) erken dönem pulpadaki gözlemlenen değişiklikler ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızın 7.gün KH grubu örneklerindeki pulpal değişiklikler değerlendirildiğinde, Hebling et al. (1999), Pereira et al., (2000) ve Kitasako et al.(2000b) erken dönem sonuçlarına benzer olarak KH grubunda hafif-orta şiddetle enflamasyon varlığı gözlemlendi. Enflamasyon parametrelerindeki bu durum, KH'nin doku sıvısı ile temasta çözünerek kalsiyum iyonlarına ayrışması, bunun sonucunda da pulpanın esas hücrelerinden fibroblast proliferasyonunu arttırması(Torneck et al., 1983) ve odontoblast benzeri hücrelerine farklılaşmasını uyarması(Schröder 1972) olarak açıklanabilir. Çalışmamızda, KH grubunun odontoblast benzeri hücre oluşumu Yoshiba et al. (1994), Hebling et al. (1999) sonuçlarına uyumlu olarak 7. ve 28.

günlerde tersiyer dentine yakın komşulukta olduğu izlendi. Çalışmamızda birim alandaki odontoblast benzeri hücre sayısı her iki zaman periyodunda KH ve MTA grupları için birbirlerine yakın olarak elde edilirken bu durumun Dammaschke et al. (2010c) sonuçları ile oldukça yakın olduğu görüldü.

KH ile yapılan pulpa kaplaması sonrası incelenen örneklerde, oluşan tersiyer dentin dokusunda tünel defektlerinin gözlenmesi nedeniyle KH'nin etkinliği halen tartışılmaktadır(Cox et al., 1996). Çeşitli çalışmalarda KH ile oluşan tersiyer dentinde tünel defektlerine rastlandığı bildirilmiştir(%69.7, Horsted et al., 1982 ve %89, Cox et al., 1996). Yapılan bir çalışmada dentin köprüsü kalınlığı ve KH'e bağlı tünel defektleri arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve aralarında bir ilişki olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Ancak, tünel defektleri gösteren örneklerde bakteriyel geçişin mümkün olabileceği öngörülmüştür(Cox et al., 1996). Maymunlar dişlerinde hazırlanan 235 adet sınıf V kavitenin KH ile direkt pulpa kaplaması sonrasında 192 örnekte izlenen dentin köprüsü oluşumunun 172'sinde tünel defektine rastlanmıştır(Cox et al., 1996). Dentin köprüsü oluşan 192 örneğin, %41(78 örnekte) ise bakteri varlığı ile yoğun pulpa enflamasyonu ile nekroz izlenmiştir(Cox et al., 1996). Cox et al. (1996) tünel defekti varlığının hermetik pulpa kaplamasında başarısızlığın ve mikrosızıntıya bağlı tekrarlayan pulpal enflamasyonların olabileceğini rapor etmiştir.

KH grubuna ait 23 örnekte(%96) tünel defektlerine rastlanmadı. 7. gün sonrası yapılan incelemelerde yalnızca 10. örnekte(Resim 33) tünel defektine rastlamamızın nedeni deney hayvanı türünün farklı oluşundan kaynaklanmış olabilir. İnsanlarda veya primatlarda gözlemlenen biyolojik yanıt sürecinin ilerleyişi ratlarda 30 kat daha hızlı olarak gerçekleşmektedir(Moretton et al., 2000). Bu durumda çalışmamızda kullandığımız 28. gün parametresi yaklaşık insanlarda sert ve yumuşak doku cevabında 30 aya karşılık gelmektedir ki bu süre, daha önce tünel defekti izlenen çalışmalarda 60 günden 6 aya kadar değişen gözlem süreleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık göstermektedir(Horsted et al., 1982, Cox et al., 1996).

Goldberg and Smith (2004), rat dişlerine direkt pulpa kaplaması uygulanan bir çalışmada, genel olarak ilk haftada enflamasyon sürecinin azaldığı, öncü hücrelerin sert doku oluşturmaya başladığı, bu dokunun iyileşmenin 2. haftasında kalsiyum hidroksit ile örtülen pulpada tersiyer dentin bariyeri şekillendiği rapor edilmiştir.

Özata ve ark. (1987) koyun dişleri üzerine yaptıkları çalışmalarında 30 gün sonra nekrotik tabakanın altında odontoblast benzeri hücrelerin palizatik(çit benzeri) dizilimde olduğunu, tersiyer dentin köprüsünün oluşumunu tamamladığını ve pulpa dokusunun sağlıklı olduğunu izlemişlerdir.

Çalışmamızda 28.gün sonrasında, Goldberg and Smith (2004) ikinci hafta bulgularında enflamasyonun düzeyinin azaldığı bulgularına benzer olarak, KH grubunda hiperemi ve enflamatuvar hücre yoğunluğunun diğer maddelere göre daha düşük bulundu($p>0.05$). Enflamasyon parametrelerindeki bu durum, Turner et al. (1987) KH tarafından oluşturulan koagülasyon nekrozu tabakası ile diş pulpası arasında demarkasyon hattı ve ona komşu yeni hücrelerin pulpada canlılıklarını koruduğu biçiminde açıklanabilir.

28.gün sonunda tersiyer dentin oluşumu Özata ve ark. (1987) 30.gün, Hebling et al. (1999) 30.gün ve Kitasako et al. (2000b) 30.gün sonuçlarına benzer olarak gözlemlendi. Çalışmamızın KH grubunun 28.gün örneklerinde Özata ve ark. (1987) 30 gün sonraki bulgularına benzer olarak, çit dizilimli odontoblast benzeri hücreler görüldü. Örneklerde 28 gün sonrası yaptığımız incelemelerde herhangi bir tünel defekti izlenmezken, erken dönemde izlenen hücrel inklüzyonlara da rastlanılmadı. Ancak çok az sayıda osteosit lakünlerine benzer oluşumlar izlendi. 28 güne ait 7. örnekte odontoblastik dizelenmenin bozulduğu ve pulpanın merkezinden itibaren dokuda kalsifikasyonun oluştuğu izlendi. Bu durumun işlem sırasında yapılan hatalı bir basınç sonucunda, pulpaya itilen kalsiyum hidroksit nedeni ile oluştuğunu düşünmekteyiz.

Birçok çalışmada MTA kullanılarak vital endodontik tedavi uygulamaları sonrasında, tersiyer dentin oluşumu gözlemlenmiştir. Özellikle MTA ile direkt pulpa kaplaması sonrasında herhangi bir enflamasyona rastlanmayarak dentin köprüsü oluşumunun tamamlandığı izlenmiştir(Pitt Ford et al. 1996, Tziafas et al. 2002, Andelin et al. 2003, Faraco and Holland 2004). Bir başka çalışmada ise köpek dişlerine gri MTA(ProRoot MTA), beyaz MTA(MTA Angelus), gri Portland simanı(grey: Votorantim- Cimentos, Sao Paulo, Brezilya) ve beyaz Portland simanı(White: Irajazinho; Votorantim-Cimentos Sao Paulo, Brezilya) ile direkt pulpa kaplamaları uygulanmıştır. Kalsiyum hidroksit grubu ile kontrollü olarak köpekler

üzerinde yapılan çalışmada, tersiyer dentin görülme sıklığı en fazla MTA gruplarında bulunmuştur(Faraco and Holland 2001).

Simon et al. (2008) 19 adet rat dişi üzerine bir gruba MTA ile DPK uygulamışlar, diğer gruba ise herhangi bir materyal uygulamayarak adeziv rezin ile örtülemişlerdir. 2., 5. hafta sonuçlarını immünohistokimya, ışık mikrokopi ve taramalı elektron mikroskopisi ile değerlendirmişlerdir. Herhangi bir materyal uygulanmadan örtülen grupta, iyileşmeye dair bir bulguya veya tersiyer dentin oluşumuna rastlanmamıştır. Aksine MTA uygulanan gruplarda 2. hafta sonunda dentin yapımını gösteren dentin sialofosfoproteini (DSPP) immünohistokimyasal yöntemle ince bir hat şeklinde boyanarak ışık mikroskopisinde gözlenmiştir. Bu sonuçlara ek olarak 5. hafta sonunda bu gruba ait örneklerde dentin köprüsünün varlığı izlenmiştir. Pulpal hücrelerin yeni oluşan dentin dokusu ile yakın komşulukta olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda herhangi bir materyal uygulanmadan örtülen pozitif kontrol grubuna ait 24 örnekte Simon et al. (2008) kontrol grubu sonuçları ile benzer şekilde tersiyer dentin oluşumu ve iyileşmeye ait bulgulara rastlanılmadı. Ancak bu sonuçlardan farklı olarak pulpada yoğun enflamasyon ve nekroz da gözlemlendi. Pulpal dokuda enflamasyon bulgularına ait bu farklılığın örtüleme materyali seçiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Simon et al. (2008) çalışmalarında örtüleme materyali olarak adeziv sistemi kullanmışlardır. rat dişleri üzerine adeziv sistemler ile yapılan diğer DPK çalışmalarında, Costa et al. (2000)ve Costa et al. (2003) 60 gün sonrasında histopatolojik incelemede self-etch adezivlerin pulpal enflamasyonun oluşturmadığını rapor etmişlerdir.

MTA ve KH'in karşılaştırmalı direkt pulpa kaplamasının histolojik sonuçları derlendiğinde, birçok çalışmada MTA oldukça üstün bulunmuştur(Pitt Ford et al., 1996, Faraco and Holland 2001, Aeinehchi et al., 2003,Dominguez et al., 2003, Accorinte et al., 2008, Asgary et al., 2008, Min et al., 2008, Nair et al., 2008). Pitt Ford et al. (1996), maymunlar üzerinde her iki maddeyi 5 ay sonrası pulpal durumu gözlemlemiş, Köpeklerde, Faraco Jr and Holland (2001) ve Asgary et al. (2008), 2 ay; Dominiguez et al. (2003), 50-150 günlük sonuçlarını incelemişlerdir. İnsanlarda ise Aeinehchi et al. (2003) 1-6 hafta, Accorinte et al. (2008) 30-60 gün, Min et al. (2008) 2 ay; Nair et al. (2008) 1 hafta, 1 ay ve 3 ay sonrası bu iki maddeyi

incelemişlerdir. MTA'nın, KH'ye göre direkt pulpa kaplama uygulamasındaki üstün özellikleri sonucuna ulaşan bu çalışmalarda MTA'nın doku sıvılarında KH'den daha az çözülebilir oluşu, güçlendirilmiş mekanik direnci, daha iyi kenar uyumu ve daha iyi örtüleme yeteneği olduğu söylenmektedir (Dammaschke et al., 2010c).

Buna karşın birçok çalışmada ise bu iki grubun pulpal iyileşmedeki farklılığın anlamlı olmadığı gösterilmiştir(Queiroz et al., 2005, Iwamoto et al., 2006, Costa et al., 2008, Sawicki et al., 2008, Shayegan et al., 2009, Dammaschke et al., 2010c,2010d). KH ve MTA ile DPK uygulamalarında, Köpek dişleri üzerinde Queiroz et al. (2005) 90 gün, Costa et al. (2008) 60 gün, domuz dişlerinde Shayegan et al. (2009) 3 hafta, rat dişlerinde Dammaschke et al. (2010c,2010d) 1, 3, 7 ve 70 gün, insan dişlerinde ise Iwamoto et al. (2006) 136 gün ve Sawicki et al. (2008) 49-609günlük dönemlerde incelemelerde bulunarak bu iki maddenin pulpal iyileşmede anlamlı bir farklılığın olmadığını rapor etmişlerdir. Ancak, MTA'nın DPK için uygun bir materyal olması konusunda hemfikirdirler(Dammaschke et al., 2010c). Araştırmacılar MTA ve KH maddelerinin sonuçlarının birbirleri ile benzeşmesinin şu şekilde açıklamaktadır. "MTA'nın çeşitli oksit bileşiklerini içeren bir siman tozu olduğu(Dammaschke et al., 2005) ve ilk olarak su ile karıştırılarak uygulanması gerektiği, ancak ilk karışımı doku sıvıları ile temasla gerçekleştiğinde kalsiyum oksit bileşiğinin, kalsiyum hidroksite dönüşebileceği yönündedir. Bu dönüşüm sonrasında kalsiyum ve hidroksil iyonlarına ayrışabilen KH, pH seviyesini yaklaşık 12,5'e arttırarak kalsiyum iyonlarının salgılanmasına yol açmakta(Holland et al., 1999, Faraco and Holland 2001, Takita et al., 2006), sonuç olarak KH ve MTA benzer özellikler sergilerken(Al-Hezaimi et al., 2005), DPK uygulamasında KH'in en uygun alternatifinin MTA olduğu yorumu yapılmıştır(Holland et al., 2001).

Hasheminia et al. (2010) kedilerin 36 adet anterior dişi üzerine farklı materyaller ile DPK uygulamışlar ve 4 ay sonunda histopatolojik olarak pulpodental kompleksi değerlendirmişlerdir. Çalışma grupları olarak MTA, MTA ve lazer kombinasyonu ile KH ve lazer kombinasyonu olarak oluşturulmuştur. Yalnızca MTA uygulanan grupta yer alan örneklerin %80'inden fazlasında tersiyer dentin oluşumu ve örneklerin çoğunluğunda 250 µm den daha kalın olduğu tespit edilmiştir. Sıklıkla bu gruptaki örneklerde enflamasyonun şiddeti düşük olmakla birlikte enflamasyon tipi de akut ve kronik enflamatuvar hücrelerin izlendiği skor 3 olarak belirtilmiştir. Pulpa

nekrozuna örneklerin çoğunda(%63) rastlanmamıştır(Hasheminia et al. 2010). Lazer ve MTA uygulanan grupta ise örneklerin %80'inde tersiyer dentin oluşumu bir önceki gruba göre benzer kalınlık değerleri elde edilmiştir. Enflamasyon türü kronik olarak gözlenirken enflamasyon şiddetinin azaldığı rapor edilmiştir(Hasheminia et al. 2010). KH ve lazer ile tedavi uygulanan diğer grupta ise durum her iki gruba göre anlamlı düzeyde farklı bulunmuştur. Tersiyer dentin oluşumu %60 sıklıkla gözlenirken, kalınlık ölçümü ise örneklerin çoğunluğunda 150µm ve daha düşük olarak rapor edilmiştir. Bu gruba ait enflamatuvar değişiklikler ise enflamasyon orta-şiddetli, yeni oluşan dentinde ise enflamasyon sıklıkla akut olarak izlenmiş, nekroz örneklerin %54'ünde rastlanmıştır(Hasheminia et al. 2010).

Aeinehchi et al. (2003) çalışmalarında, 20-25 yaş arasındaki insanlar üzerinde çekim endikasyonu konulan 3. molar dişleri üzerine KH ve MTA ile DPK tedavileri yapmış ve 1. hafta, 2., 3., 4., ve 6. ay sonuçlarını gözlemlemişlerdir. DPK materyallerinden sonra kavitelere çinko oksit öjenol siman ve amalgam ile örtülenmiştir. 1. hafta sonrasında MTA uygulanan örneklerinde hafif-orta şiddetli enflamasyon, düşük yoğunlukta hiperemi gözlemlenmiştir. KH grubunda ise orta-şiddetli enflamasyon, yoğun hiperemi ve akut enflamasyon gözlemlenmiştir. Her iki grupta da kalsifikasyon veya tersiyer dentin oluşumu gözlemlenmemiştir. Çalışma sonucunda MTA grubunda, KH grubuna göre daha düşük enflamasyon, hiperemi ve nekroz geliştiği, daha kalın tersiyer dentin oluştuğu ve odontoblast hücre tabakasının ise daha sık izlendiği rapor edilmiştir.

Çalışmamızda ise Faraco Jr.ve Holland (2001) sonuçları ile benzer şekilde diğer gruplara göre tersiyer dentin oluşumu MTA 28. gün grubunda en fazla olarak bulundu ($p<0.05$). MTA uygulanan örneklerimizde bu oluşan tersiyer dentin ile yakın komşulukta odontoblast benzeri hücreler gözlemlendi. Enflamasyon şiddeti örneklerin çoğunluğunda orta şiddette hesaplanırken, enflamasyon türü ise daha çok kronik olarak gözlemlendi. MTA grubumuzda örneklerin çoğunda orta yoğunlukta hiperemi gözlenirken, nekroz erken dönemde %17 geç dönemde ise %19 olarak rastlandı. Bu gruba ait bulgularımızda nekroz, enflamasyon şiddeti ve enflamasyon türünün, benzer çalışmaların sonuçlarına göre örtüşmemesinin nedeni, Hasheminia et al (2010) için 4 aylık, Simon et al.(2008) için 2 ve 5 haftalık gözlem sürelerinin farklılığından ileri geldiği düşünüldü.

Tersiyer dentin oluşumu erken dönem için %50 geç dönem için ise %86 olarak bulundu. Hasheminia et al.(2010) çalışmasının tersiyer dentin görülme sıklığının sonuçları ile değerlendirildiğinde yalnız MTA ile MTA ve lazer kombinasyonun olduğu her iki grubun sonucuna çok yakın bir değer çalışmamızın MTA 28.grubunda da elde edildi. Erken dönemde tersiyer dentin görülme sıklığının düşük olarak gözlenmesi Simon et al. (2008) 2. hafta ve Aeinehchi et al. (2003) 1. hafta sonuçlarına paralel olarak bu dönemde tersiyer dentinin yapımının erken evresi olarak yorumlandı.

Tziafas et al. (2002) köpek dişlerine sınıf V kaviteler hazırlayarak mekanik olarak pulpal perforasyonlar sağlamış ve MTA ile DPK uygulamıştır. 1., 2. ve 3. hafta sonuçlarını elektron mikroskopisi ve ışık mikroskopisi ile değerlendirmiştir. MTA'nın erken dönem iyileşme periyodunda etkili bir sert doku oluşumunu indükleyen bir materyal olduğunu rapor etmiştir. MTA'nın dentinojenik aktivitesi ile ilgili olarak, odontoblast benzeri hücrelere dönüşme potansiyeli olan pulpal hücreleri MTA'nın tetikleyerek fibrodentin sentezlenmesini uyarması olarak açıklanmıştır(Tziafas et al., 2002). Çalışmalarının sonuç bölümünde, MTA ile pulpa kaplaması ile ilişkili olarak, ekstrasellüler matriks bileşenleri ile endojen sinyal molekülleri olan büyüme faktörleri arasındaki etkileşimlerin tespit edilmesini içeren başka deneysel verilere ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir(Tziafas et al., 2002).

Yang et al. (2010) rat dişleri üzerinde yaptıkları DPK çalışmalarında, MTA, ve ameloblast ilişkili bir protein olan "ODAM" ile pulpa kaplamaları sonrasında ışıkla sertleşen cam iyonomer siman ile kaviteleri örtülemişler, 1., 4., ve 8., haftalık pulpal sert ve yumuşak doku değişikliklerini immünohistokimyasal ve histopatolojik yöntemler ile belirlemişlerdir(Yang et al., 2010). Çalışmalarının 4. Hafta sonuçlarında MTA grubunda dentin köprüsü meydana geldiği, ODAM grubunda ise DPK sahasında sıkı tersiyer dentin köprüsü oluşumu ve tıkanması izlenmiştir. Enterasan olarak ODAM grubunda gözlemlenen tersiyer dentin oluşumunun, MTA grubunda olduğu gibi bütün pulpa dentin boyunca değil, yalnızca perforasyon sahasında sınırlı bir şekilde olduğunu gözlemlemişlerdir. ODAM'ın etki mekanizması olarak sınırlı bir dentin büyümesi meydana getirebildiğini bu durumun kontrollü bir iyileşmenin önünü açtığını ve pulpal kalsifikasyonlara neden olmayacağını bildirmişlerdir. Yaralanmanın şiddetine bağlı olarak dentin defektleri primer odontoblastların biyosentetik aktivitesinin artışı ve ostedentin oluşumu ile tamir edilebilmektedir. ODAM gibi özel

proteinlerin Matriks Metalloprotein(MMP) sentezini arttırarak dentin mineralizasyonunu başlatıp devam ettirebildiği, biyolojik etkilerinin birçok molekül tarafından düzenlendiğinden dolayı kontrollü bir dentin oluşumu gerçekleşebildiği tartışılmıştır(Yang et al., 2010).

Çalışmamızda tersiyer dentin kalınlıkları değerlendirildiğinde MTA grubunun örneklerde birim alanda gösterdiği tersiyer dentin kalınlıkları diğer gruplara göre anlamlı derecede fazla elde edildi. Yang et al. (2010) sonuçlarına ve tartışmasına ilişkili olarak daha kalın bir tersiyer dentini üreten bir madde, daha biyoyumlu olmamakla birlikte dentin üretimin devamında pulpal kalsifikasyonlar ve daralmaların gözlenebileceği söz konusudur. EMD ve TZP örneklerinde elde edilen tersiyer dentin kalınlığının tersiyer dentinin sentezlendiği ancak kalınlığının MTA grubundan istatistiksel anlamlı olarak az olmak üzere, KH grubuna göre de daha az olduğu gözlemlendi.

Murray et al. (2001), pulpa yaralanmalarında DPK uygulamasından sonra kullanılan üst restorasyon materyallerinin bakteriyel sızıntının önlenmesinde ve tamir dokusunun oluşumunda önemli olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, DPK uygulandıktan sonra kaviteyi en son olarak çeşitli restorasyon materyalleri ile kapatmışlardır. Çalışmalarda çinko oksit öjenol(Chohayeb et al., 1991), çinko oksit öjenol esaslı geçici dolgu maddesi(Yoshimine et al., 1995), amalgam(Jaber et al., 1992, Cox et al., 1996), kompozit rezinler(Jean et al., 1988), çinko fosfat siman(Ishizaki et al., 2003) ve cam iyonomer simanlar(Nakamura et al., 2001, 2002, 2004) kavite örtülenmesinde kullanılmıştır. Zmener et al. (2004) yaşlandırma prosedürlerinden termal siklus yöntemi kullanarak 5mm kalınlığında güçlendirilmiş çinko oksit öjenol siman olan IRM, bir diğer çinko oksit öjenol esaslı geçici dolgu maddesi Cavit® ve polikarboksilat simanın boya penetrasyon ve mikrosızıntı değerlerini çalışmışlardır. Her üç grup arasında 0-2mm seviyesinde sızdırmazlık açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır(Zmener et al., 2004). İnsanlarda geliştirilen bu dolgu maddelerinin sızıntıyı engellemesi için en az 4 mm kalınlığında yerleştirilmesi gerekliliği gösterilmiştir(Webber et al., 1978, Turner et al., 1990). Ancak klinik olarak bu kalınlıklara her zaman ulaşamayacağı bir başka çalışmanın tartışmasında yer almıştır(Zmener et al., 2004).

“Geleneksel” ve “Rezin Modifiye Cam iyonomer Simanlarda” görülen su emiliminin; asit-baz reaksiyonları ile meydana gelen başlıca matriks içine olduğu ve matriks içindeki su konsantrasyonuna bağlı olarak, kontrollü bir süreçte difüzyon katsayısı azaldığı gösterilmiştir(Nicholson and McLean 1992, Eliades and Palaghias 1993, Cho et al., 1995b). Dolayısıyla su emilimi, siman matriksinin hidrolizine bağlı olarak zaman içinde siman kütlelerinin bozulmasına yol açmakta ve restorasyonların klinik ömrünü azaltmaktadır. Bununla birlikte ışıkla polimerize edilen cam iyonomer simanlarda; fotokimyasal reaksiyona bağlı olarak rezin ağının meydana gelmesi ve dentinde rezinlerin infiltre oldukları bir tabaka oluşması (Nitta et al., 1998) gibi nedenlerden dolayı, su emilimi ve suda çözünürlük miktarlarının geleneksel cam iyonomer simanlardan daha az oldukları bilinmektedir (Nicholson and McLean 1992, Eliades and Palaghias 1993, Cho et al., 1995b).

Cattani-Lorente et al. (1999), suda bekletilen bir rezin-modifiye cam iyonomer siman ve bir poliasit-modifiye kompozit rezin materyalin fiziksel özelliklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, her iki materyal karşılaştırıldığında rezin modifiye cam iyonomer simanda gözlenen su emilim miktarının daha fazla olduğunu ve adeta bir hidrojel gibi davranarak daha fazla genişleme gösterdiğini bildirmişlerdir

Çalışmamızda, vital pulpa tedavilerinde bugüne kadar en sık kullanılan “Kalsiyum Hidroksit”, vital pulpa tedavileri ile ilgili yapılan hayvan ve insan çalışmalarda en başarılı sonuçlar elde edilen “Mineral Trioksit Agregat”, kalsiyum hidroksit ile karşılaştırmalı sonuçları hakkında çok az veri bulunan, ancak başarılı sonuçlar elde edilen “Mine Matriks Protein Türevi” ve bugüne kadar vital pulpa tedavilerinde hiç kullanılmamış, büyüme faktörlerinin neredeyse tamamını içeren “Trombositten Zengin Plazma” kullanıldı. Bu çalışmada da örtüleme için çığneme kuvvetlerine dirençli, kenar sızıntısını engellediği bilinen güçlendirilmiş çinko fosfat siman(IRM) kullanıldı.

Çalışmamızın konu başlığını oluşturan Steoroloji bir inceleme yöntemi değildir, iki boyutlu düzlemde gözlenen yapı veya cisimlerin, üç boyutlu özelliklerini anlamayla ilgili olan yöntem bilimidir(Webster’s dictionary 1967, Cruz-Olive 1980, Williams and Rakic 1988, Royet 1991). Sayı, hacim, yüzey alanı, uzunluk ve yoğunluk ölçümü steorolojik teknikler ile gerçekleştirilebilir. Çalışmamızda 2 boyutlu kesitlerin bütüne yakın bir sonuç elde etmek için steorolojik yöntem ile

odontoblast/odontoblast benzeri hücre sayımı ile tersiyer dentin kalınlığı ölçümü gerçekleştirildi.

Sistemik Tekdüze Rastgele Örnekleme (Systematic Unifrom Random Sampling; SURS) sistemik bir örnekleme serisinin, ilk sistemik aralıkta rastgele bir noktadan başlatılması ile elde edilen örnekleme biçimidir. Biyolojik çalışmalar için bilinen en verimli örnekleme yöntemidir. Bu yöntem, bir yapıdan hem sistemik, yani önceden belirlenen sabit bir aralıkla ve hem de rastgele bir tarzda örnekleme yapılmasını mümkün kılar(Nyengaard 1999). Çalışmamızda 1 mm (1000µm) büyüklüğünde hazırlanan kavileri içeren parafine gömülmüş dokuların tamamından, mikrokator ile 4µm kalınlığında eşit kalınlıkta kesitler alındı. Toplamda eşit adımlarla 10 adet kesit elde edilebilmesi için örneğin tamamı mikrokator ile dilimlendi. Sistemik örnekleme aralığının yaklaşık her 100µm de 1 kesit olmak üzere parafine gömülü doku bloktan elde edildi. Kavite sınırından başlanarak her 100µm adımda bir alınan rastgele kesitler, aynı sistemik aralıkla bütün örneklere uygulandığında, bütün gruplar için tekdüze sistemik rastgele örnekler elde edildi.

Çalışmamızda seçilen pulpal enflamasyon kriterleri olarak Hasheminia et al., (2010) kediler üzerine yapmış oldukları DPK çalışmalarındaki pulpal enflamasyon kriterleri ve skorları modifiye edilerek kullanıldı. Bu çalışmanın referans olarak seçilmesinde uygulama yönteminin benzerliği(DPK), deney modeli seçiminin benzerliği(hayvan modeli ve anterior diş), inceleme yöntemi benzerliği (Hematoksilen&Eozin boyama ve 400 kata kadar büyütme altında değerlendirme) olarak sayılabilir. Morfolojik olarak kedi anterior diş boyutları, rat anterior dişlerine göre küçük olduğundan 400 kat büyütmedeki birim alandaki değerlerin de farklılık oluşturacağı düşünüldü. Bu nedenle tanecik sayımında ve kalınlık hesaplamalarında bu kriterlerrat dişlerine göre modifiye edildi. Ayrıca bu çalışmamızın bir sonucu olarak daha önce literatür taramasında karşımıza çıkmayan, rat kesici dişleri için enflamasyon ve sert doku parametreleri düzenlenerek ilk kez olmak üzere birim alandaki hiperemi, odontoblast hücre sayısı ve tersiyer dentin kalınlık değerleri de ortaya kondu.

Pulpanın normal ve patolojik çeşitlenmelerini tanımayı konu alan çalışmalarda farklı inceleme teknikleri kullanılmıştır. Nakamura et al. (1994), rat molar dişlerinden elde ettikleri doku kültürlerinde PCR tekniği kullanarak gelişimsel mine proteinlerinin dentin yapımında aracı madde olduğunu tespit etmişlerdir. Kawase et al. (2001)

gelişimsel mine proteinlerini içeren EMD'nin pulpal rejeneratif etki mekanizmasını daha iyi anlaşılmasını sonuçladıkları çalışmalarında immünohistokimyasal yöntemlerden "Western-Blot" analizi ile içeriğindeki TGF- β varlığını tespit etmişlerdir. Yang et al. (2010), hem histolojik hem immünohistokimyasal yöntem kullanarak odontojenik ameloblast ilişkili protein olan "ODAM"ı MTA ile karşılaştırmış ve sert doku tamirindeki üstünlüklerini gösterebilmiştir. Nakashima (1994) çalışmasında histolojik ve histomorfometrik yöntem kullanarak BMP-2 ve BMP-4 ile DPK sonrasında her dokudan elde ettiği ardışık 5 kesit ile yeni oluşan dentin köprüsünün kalınlığını belirlemiştir. Chong et al. (2006) EMD ve trombosit kaynaklı büyüme faktörünü periodontal dokuda fibroblast yanıtını karşılaştırdıkları çalışmalarında fibroblast sayısını dijital görüntü işleme programında herbir kesitte 750 μ m'lik birim alanda histomorfometrik olarak hesaplamışlardır.

Histopatolojik çalışmalarda doku ve hücrelerin varlığını tespit etmek amacıyla bazı boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak boyama teknikleri ile mikroorganizmaların çok az bir kısmı tanımlanabilmektedir. Çalışmamızda amaç TZP ve EMD maddelerinin, hayvan dişlerinde dentin köprüsü oluşturma yeteneği ve pulpa da gözlenen değişimlerin belirlenip ortaya konması olduğundan herhangi bir bakteri boyasıyla bir uygulama yapılmamıştır. Hemotoksilen-Eozin ile boyanmış kesitlerin bazılarında bakteri kolonizasyonları, restorasyonların civarında tespit edildi. Restorasyonların kenarlarında bakteri kolonizasyonu izlenen örneklerde, besin artıklarının da olduğu gösterildi.

Ketani ve Sağsöz (2009) rat mandibular kondilin histolojik yapısı üzerine cinsiyete etkilerinin klasik histomorfometrik ölçüm yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Hematoksilen-eosin boyama metodu kullanılarak ışık mikroskobu için kalibre edilmiş oküler mikrometreden yararlanmışlardır (Ketani ve Sağsöz 2009). Mikrometrik lam yardımıyla her objektif büyütmesi için bir indeks çıkarmışlar ve mandibular kondilin bölümlerini x40 objektif büyütmesinde ölçmüşlerdir (Ketani ve Sağsöz 2009). Buna karşın Ejiri et al. (2006), antagonisti olmayan rat molarlarındaki uzamanın alveol kemikteki etkisini histolojik ve modern histomorfometrik yöntem ile incelemişlerdir. Elde ettikleri blok kemik örneklerini konfokal lazer taramalı mikroskopta üç boyutlu görüntülerini elde ettikten sonra, bir görüntü analizi yazılım programı ile dişin alveol kemikte kat ettiği mesafeyi μ m cinsinde ölçmüşlerdir. Bu

yöntemi uygularken araştırmacılar üç boyutlu görüntüleri standardize edebilmek için birim alan ölçüm cetveli de kullanmışlardır(Ejiri et al., 2006). Butterfield et al. (2005) TZP ile kemik grefti kullanarak tavşan maksiler sinüs yükseltme operasyonu uygulamışlar, Masson-Trikrom ile boyanan doku örnekleri görüntüleri fotoataçmanlı ışık mikroskobu ile bilgisayara aktarılmıştır. Dijital görüntü işleme programı ile 1x106 µm² büyüklüğünde inceleme alanı belirlenerek kemik yoğunluğunun histomorfometrik incelemesi yapılmıştır (Butterfield et al., 2005).

Histomorfometrik ölçüm yapmayı kolaylaştıran dijital yöntem, klasik ölçüm yöntemlerine göre daha pratiktir. Çalışmamızda kesitlerin odotoblast/odontoblast benzeri sayıların ve tersiyer dentin kalınlığının ölçümünde mikroskoplar için geliştirilmiş olan yazılım programlarından “Leica QWin Plus v3.3.1 Image Analysis” görüntü analizi programı kullanıldı. Bu yöntemle görüntüler üzerine standart sayım cetveli oluşturularak ölçüm yapmak mümkün oldu. Dijital görüntüde, bilgisayar ekran kartı üzerinde 65 milyon farklı rengi tanımlayan bir mikroişlemci(64 bit) ile yazılım programındaki grafik işlemcisi birlikte çalışarak(Leica Qwin Plus v3.3.1 image processor), hücre çekirdeğinin renk kodu tanımlandıktan sonra tanecik sayısını otomatik olarak belirtebilmekte, aynı hücreyi hatalı olarak birkaç defa saymamaktır. Bu da sonuçların güvenilirliğini, klasik histomorfometrik yöntemlere göre arttırmaktadır. Ayrıca istenilen zamanda çalışmaya ara vermek mümkündür. Dijital görüntüler, herhangi bir veri deposunda dijital olarak kaydedilerek uzun süre saklanabilmektedir ve istenilen zamanda aynı resim üzerinde tekrar çalışma yapılabilinmektedir. Yöntemde yüksek çözünürlükteki görüntüler, bilgisayara foto-ataçmanlı ışık mikroskop ile aktarılmaktadır. Bu nedenle yöntemin kullanılabilmesi için bu donanımın bulunması gereklidir. Yazılım programının bir diğeri olumlu özelliğidir de, bütün bu sisteme sahip olunmasa bile, sistemin var olduğı başka bir yerde resimler çekilerek daha sonra programın bir başka bilgisayara kurulumu gerçekleştirildikten sonra da ölçüm yapılabilinmektedir (Leica Microsystems, Website).

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

Farklı kuafaj materyallerinin pulpaya etkilerinin stereolojik yöntemle incelendiği çalışmamızda şu sonuçlar ortaya çıkmıştır:

1. İlk defa rat kesici dişlerinde ölçüleri belirli birim alandaki enflamasyon hücre sayı, kapiller sayı, odontoblast hücre sayı değerlerini bildiren sayısal enflamasyon kriterleri belirlendi.
2. Pozitif kontrol bulguları sonucunda rat kesici dişleri için “kritik yara boyutu” ya da “kritik perforasyon boyutu” 0.4 mm’den daha küçük olduğu sonucuna ulaşıldı.
3. Bütün materyaller erken evrede (7.gün) akut enflamasyon gösterdiği ve zaman ilerledikçe (28.gün) akut enflamasyonun kronik tipe daha yakın olduğu sonucu saptandı.
4. Çalışmamızda “enflamasyon tipi” açısından bütün gruplar için 7.günde akut enflamasyonun hakim olduğu 28. günde ise daha çok kronik enflamasyonun gözlemlendi.
5. Mineral Trioksit Agregat 7. günde en düşük nekrotik tabloyu sergilediği, bu durumun üstün örtüleme kapasitesinden ve düşük çözünürlük sebebiyle oluştuğu sonucuna ulaşıldı.
6. Bütün materyaller erken evrede(7.gün) akut enflamasyon gösterdiği ve zaman ilerledikçe(28.gün) akut enflamasyonun kronik tipe daha yakın olduğu sonucu saptandı.
7. Mine matriks türevi hariç, negatif kontrol grubu, trombosit zengin plazma, kalsiyum hidroksit ve Mineral Trioksit Agregat grupları arasında birim alandaki odontoblast sayıları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadı.
8. Tüm kullanılan materyallerin oluşturdukları sert doku oluşumları arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık oluşmadı.
9. Mine matriks türevinin diğer materyallere göre pulpal uyarılmayı sağlamak için daha uzun bir süreye gerek duyduğunu ortaya çıkardı. Mine matriks türevinin pulpal uyarılmayı oluşturması için bu zaman dilimi 7.günden biraz daha uzun olduğu sonucuna varıldı.

10. Mine matriks türevinin pozitif bir matriks görevi üstlenerek yalnızca tek hücre tipine (odontoblastlar) özel bir etki yapmadığı ve pulpadaki değişik hücre tiplerini tamir ve iyileşme için uyarması olarak saptandı. Ayrıca mine matriks türevine bağlı pulpada metabolik faaliyetlerin ivmelenmesi sonucunda odontoblast sayısına bağlı olmaksızın sert doku matriksinde artışa neden olabileceği sonucuna varıldı.
11. Tersiyer dentin oluşturma kapasiteleri değerlendirildiğinde, bütün çalışma gruplarında ve her iki inceleme döneminde tersiyer dentin varlığı gözlemlendi.
12. Materyal çeşidine bağlı olarak tersiyer dentin kalınlık ölçümlerinde, trombositten zengin plazma (Sıklıkla 99 µm daha az), mine matriks türevi (Sıklıkla 99 µm daha az) ile kalsiyum hidroksit (Sıklıkla 99µm-199µm arası) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını ortaya çıkarıldı. Buna karşın Mineral Trioksit Agregat uygulanan örneklerde (sıklıkla 199µm'den daha kalın) tersiyer dentinin diğer gruplar ile arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptandı.).
13. Mine matriks türevi, trombositten zengin plazma, kalsiyum hidroksit ve Mineral Trioksit Agregat arasında en agresif sert doku tamirini gerçekleştiren materyalin Mineral Trioksit Agregat olduğu sonucuna varıldı.
14. Mineral Trioksit Agregat potansiyel olarak pulpada yoğun kalsifikasyonlara ve hatta pulpanın tamamını içeren kalsifikasyonlara Mine matriks türevi, trombositten zengin plazma, ve kalsiyum hidroksite göre daha yatkın olabileceği sonucuna varıldı.
15. Mine matriks türevi ve trombositten zengin plazmanın, kalsiyum hidroksit ve Mineral Trioksit Agregat'a göre pulpal kalsifikasyon riski düşük iki materyal oldukları sonuçlandı.
16. Trombositten zengin plazmanın içeriğindeki etken olan büyüme faktörü salgılanmasının, trombositlerin 4-7 günlük yaşam süreleri boyunca aktif oluşu daha sonra büyüme faktörü seviyesinin sınırlı alanda azaldığı ancak iyileşmeye olan etkisinin pulpada devam ettiği sonucuna varıldı.
17. Mineral Trioksit Agregat grubu örneklerde gözlemlenen kalın tersiyer dentin oluşumunun aksine trombositten zengin plazma ve mine matriks türevi uygulanan örneklerde daha sınırlı bir alanda tersiyer dentin oluşumu

gözlendi. Ancak trombositten zengin plazmanın yeterli bir örtüleme sağlayarak bir olumsuzluğa neden olmadığı sonucuna varıldı.

18. Trombositten zengin plazmanın vital endodontik tedavilerde klinik kullanıma geçişi için içeriğindeki temel etken ve büyüme faktörü kaynağı olan trombosit sayısının standardize edilmesi gerekliliği sonucuna varıldı.
19. Mine matriks türevi ait bulguların, trombositten zengin plazma ve kalsiyum hidroksit grubuna göre farklı olmaması, mine matriks türevi içeriğinde bulunan amelogenin, amelin gibi mine matriks türevlerinin ve çeşitli büyüme faktörlerinin pulpa hücreleri üzerinde uyarıcı etkisi olduğu görüldü.
20. Çalışmamızın bulguları doğrultusunda mine matriks türevi ve trombositten zengin plazma, biyoaktif bir pulpa kaplama ajanı olarak görev yapabileceği, kalsiyum hidroksit ve Mineral Trioksit Agregat göresert doku oluşturma mekanizmasının farklı olduğu sonucuna varıldı.
21. Çalışmamızda “Stereoloji”de kullanılan “Tekdüze sistematik rastgele örnekleme” ile desteklediğimiz histomorfometrik yöntem ile histoplatolojik yöntem pulpada, birim alandaki odontoblast/odontoblast benzeri hücre sayısını, tersiyer dentin kalınlığını, hiperemi derecesini, enflamatuar hücre yoğunluğunu, enflamasyon tipini ve nekroz varlığını tespit etmemizi sağladı.

Pulpanın iyileşme dinamiği, embriyolojik dönemde meydana gelen mekanizmaların araştırılması ve elde edilen bilgiler doğrultusunda, aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Çeşitli büyüme faktörlerinin ve ekstrasellüler matriks moleküllerinin dişin embriyolojik gelişimi sırasında salgılanması, dişin gelişimini tamamladıktan sonra da çürümeyle veya travmayla oluşan pulpal yaralanmalarda tekrar salgılandığı, birçok çalışmada gösterilmiştir. Biyoaktif maddeler içeren “Mine Matriks Türevi”nin ve “Trombositten Zengin Plazma”nın, pulpa iyileşmesini ve sert doku oluşumunu olumlu olarak etkileyen maddeler olduğu çalışmamızda gösterildi. Bu maddelerin olumlu ve olumsuz özelliklerini ortaya çıkartmak ve klinik uygulamalarda kullanılması için evrim düzeyi yüksek primatlar ve insanlar üzerinde, daha uzun inceleme dönemlerini içeren *in vivo* ve *in vitro* çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varıldı.

ÖZET

Farklı Direkt Kuafaj Materyallerinin Pulpaya Etkilerinin Stereolojik Yöntemle İncelenmesi

Çalışmamızın amacı, Mineral Trioksit Agregat(MTA), kalsiyum hidroksit (KH), Trombositten Zengin Plazma(TZP) ve Mine Matriks Türevi(EMD)ile direkt pulpa kuafajı sonrasında, pulpal enflamatuar yanıtın, tersiyer dentin kalınlığının ve odontoblast benzeri hücre sayısının değerlendirilmesidir. Çalışmamızda 36 adet Wistar albino ratlarından elde edilen 144 adet kesici diş kullanıldı. KH, MTA, TZP ve EMD direct pulpa kaplama ajanı olarak 96 adet kesici diş pulpasına uygulandı. Geriye kalan 48 kesici diştten pozitif ve negative kontrol grupları elde edildi. Çalışmanın operatif bölümü 7. ve 28. gün sonrası dişlerin çekilmesi ile sonlandırıldı. Rutin histolojik takip sonrasında kesitler Hematoksilen ve Eozin ile boyandı. Bütün kesitler enflamasyon yanıtının değerlendirilmesi için ışık mikroskopunda incelendi. Odontoblast benzeri hücreler “Tekdüze Sistematik Rastgele Örnekleme” yöntemi ile desteklenmiş histomorfometrik olarak sayıldı. Ayrıca tersiyer dentin kalınlığı da aynı yöntem ile ölçüldü. Bütün gruplarda pulpa perforasyonunu izleyen 7. ve 28. günlerde odontoblast benzeri sayı ortalamasının arttığı görüldü. En düşük odontoblast benzeri hücre sayısı EMD 7.gün grubunda görüldü($p<0.05$). Tersiyer dentin kalınlığı MTA grubu dışında diğer gruplarda benzer olduğu görüldü. MTA grubu örneklerinde diğer gruplara göre en kalın tersiyer dentin kalınlığı olduğu belirlendi ($p<0.05$). Bu sonuçlardan yola çıkarak EMD ve TZP'nin, MTA'a göre pulpa obliterasyon riskinin daha düşük olduğu sonucuna varıldı. TZP grubu rat kesici pulpasında en çok enflamatuar yanıtı gösterdi ($p<0.05$). TZP trombosit yaşam döngüsü ile ilişkili olarak kısa dönemde daha etkili olduğu sonucuna varıldı. Buna ek olarak biyoaktif materyaller olan EMD ve TZP'nin, pulpa iyileşmesi ve sert doku oluşumunda, KH ve MTA'ya göre farklı bir yol izlediği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Mine matriks türevi, Odontoblast benzeri hücre,Trombositten zengin plazma, Tersiyer dentin oluşumu.

ABSTRACT

The Effects on the Pulp of Different Pulp Capping Materials Using Stereology

The purpose of this study was to evaluate of the pulpal inflammatory response, collected quantitative information about the reparative dentine thickness and the numbers of odontoblast-like cells after direct pulp capping with Mineral Trioxide Aggregate (MTA), calcium hydroxide (CH), Platelet-Rich Plasma (PRP) and enamel matrix derivative (EMD). The experiment was conducted on 36 Wistar albino rats, or a total of 144 incisor teeth. CH, MTA, PRP and EMD were applied as direct capping agents on the incisor pulps of 96 incisors. Positive and negative control groups were created on the remaining 48 incisors. The operative stage of the research ended with the extraction of the teeth on the 7th and 28th days. After the routine and histological sequence, cross sections were stained with Haematoxylin and Eosin. All of the sections were evaluated in terms of inflammatory reaction by histologic analysis taken by light microscope. The numbers of the odontoblast-like cells were counted histomorphometrically supported "Systematic Uniform Randomized Sampling (SURS)". Moreover the thickness of the reparative dentine was measured in same method. The mean of the number of odontoblast-like cells were seen increasing steadily between day 7 and 28 following pulp exposure in all groups. The lowest number of odontoblast-like cells were seen in EMD 7-day group ($p < 0.05$). Reparative dentine thickness was observed similar among all groups except MTA. MTA group was showed thicker reparative dentin formation compared with other groups ($p < 0.05$). Based on the results EMD and PRP showed lower risk of obliteration of the pulp from MTA. The PRP grup showed the most inflammatory response on the rat incisor pulp ($p < 0.05$). It has been concluded that PRP more effective in the short term in related with the trombosit life cycle. Moreover we concluded that the pulp healing and hart tissue formation after capping with EMD or PRP as bioactive materials may have different pathway from CH and MTA.

Keywords: Enamel matrix derivative, Odontoblast-like cell, Platelet-rich plasma, Reparative dentinogenesis.

KAYNAKLAR

- Abdullah D, Ford TR, Papaioannou S, Nicholson J, McDonald F. An evaluation of accelerated Portland cement as a restorative material. *Biomaterials* 2002;23(19):4001-4010.
- Abdullah D, Ghazali N, Pitt Ford TR, McDonald F. The use of scanning electron microscope in biocompatibility testing of accelerated Portland cement. *Annals of Microscopy* 2003;3(21):12-21.
- About I, Murray PE, Franquin JC, Remusat M, Smith AJ. The effect of cavity restoration variables on odontoblast cell numbers and dental repair. *J Dent* 2001;29(2):109-117.
- Accorinte Mde L, Holland R, Reis A, Bortoluzzi MC, Murata SS, Dezan E Jr, et al. Evaluation of Mineral Trioxide aggregate and calcium hydroxide cement as a pulp capping agents in human teeth. *J Endod* 2008;34(11):1-6.
- Accorinte MLR, Loguercio AD, Reis A, Muench A, Araujo VC. Adverse effects on human pulps after direct pulp capping with different components from a total-etch, three step adhesive system. *Dent Mater* 2005; 21(22): 599-607.
- Aeinehchi M, Eslami B, Ghanbariha M, Saffar AS. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. *Int Endod J* 2003;36(3):225-231.
- Agamy HA, Bakry NS, Mounir MM, Avery DR. Comparison of mineral trioxide aggregate and formocresol as pulp-capping agents in pulpotomized primary teeth. *Pediatr Dent* 2004;26(4):302-309.
- Alaçam T. Dentin ve pulpa tedavileri. Alaçam T. Endodonti. İkinci Baskı, Ankara, Barış Yayınları; 2000:107-152
- Alaçam T. Pulpa ve periapikal dokuların biyolojisi. Alaçam T. Endodonti. İkinci Baskı, Ankara, Barış Yayınları; 2000:17-44.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. The effects of short term application of a combination of platelet – derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol* 1991;62(4):458-467.
- Al-Hezami K, Al-Hamdan K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JHS, Rotstein I. Effect of white-colored mineral trioxide aggregate in different concentrations on candida albicans *in vitro*. *J Endod* 2005;31(12):684-686.
- Al-Nazhan S, Al-Judai A. Evaluation of antifungal activity of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2003;29(12):826-827.

- Andelin WE, Browning DF, Hsu GH, Roland DD, Torabinejad M. Microleakage of resected MTA. *J Endod* 2002;28(8):573-574.
- Andelin WE, Shabahang S, Wright K, Torabinejad M. Identification of hard tissue after experimental pulp capping using dentin sialoprotein (DSP) as a marker. *J Endod* 2003;29(14):646-650.
- Andlaw RJ, Rock WP. *A Manual of Pediatric Dentistry, Fourth Ed.*, Churchill Livingstone, London 1996: p.107-108.
- Andreasen JO. Wound healing subsequent to injury. In: *Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth*. Andreasen JO, Andreasen FM, Eds. 3rd ed. Copenhagen: Blackwell Munksgaard, 1994:p.13-76.
- Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14(16):529-535.
- Apaydin ES, Shabahang S, Torabinejad M. Hard-tissue healing after application of fresh or set MTA as root-end-filling material. *J Endod* 2004; 30(1): 21-24.
- Appel, TR, Pötzsch B, Müller J, von Lindern JJ, Berge SJ, Reich RH. Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13(5):522-528.
- Arana-Chavez VE, Massa LF. Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36(8):1367-1373.
- Armstrong WP, Hoffman S. Pulp-cap study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1962;15(16):1505-1509.
- Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghanavati F, Rahimi H. A comparative study of histologic response to different pulp capping materials and novel endodontic cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106(12):609-614.
- Asrari M, Lobner D. *in vitro* neurotoxic evaluation of root-end-filling materials. *J Endod* 2003;29(11):743-746.
- Avery JK. *Essentials of Oral Histology and Embryology*. St. Louis, Mosby Inc., Missouri; 1992: 93-104.
- Balto HA. Attachment and morphological behavior of human periodontal ligament fibroblasts to mineral trioxide aggregate: a scanning electron microscope study. *J Endod* 2004;30(1):25-29.
- Barrow R, Wang C-Z, Evans M, Herndon DN. Growth factors accelerate epithelial repair in sheep trachea. *Lung* 1993;171(2):335-344.
- Barthel CR, Rosenkranz B, Leuenberg A, Roulet J-F. Pulp capping of carious exposures: treatment outcome after 5 and 10 years: a retrospective study. *J Endod* 2000; 26(3):525-528.

- Bates CF, Carnes DL, del Rio CE. Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 1996;22(11):575-578.
- Bayırlı G. Pulpanın histolojisi ve fizyolojisi In: *Diş Pulpası ve Ağrı*. İ.Ü. Basımevi ve film merkezi İstanbul. 1999:s.41-94.
- Bègue-Kirn C, Krebsbach PH, Barlett JD, Butler WT . Dentin sialoprotein, enamelysin and ameloblastin: Tooth specific molecules that are distinctively expressed during murine dental differentiations.*Eur J Oral Sci* 1998;106(5): 963-970.
- Behle C. Photography and the operating microscope in dentistry. *J Californian Dent Assoc* 2001;29(6): 765–771.
- Bleicher F, Couble ML, Farges JC, Couble P, Magloire H. Sequential expression of matrix protein genes in developing rat teeth.*Matrix Biol*1999; 18(7):133–143.
- Block RJ, Bolling D. The amino acid composition of proteins and foods, Thomas, Springfield, IL. In: Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP (1999). The structural biology of the developing dental enamel matrix.*J Struc Biol*1952; 126(1):270-299.
- Bodem O, Blumenshine S, Zeh D, Koch MJ. Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate in a primary molar: a case report. *Int J Paediatr Dent* 2004; 14(2): 376-379.
- Brannström M. *Dentin and Pulp in restorative dentistry*. Nacka: Dental therapeutics AB, Stockholm,1981:81.
- Brookes SJ, Robinson C, Kirkham J, Bonass WA. Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. *Archs Oral Biol* 1995; 40(5): 1-14.
- Bruno, G. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part: technological concepts and evolution. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* March 2006; 101(3):37-44.
- Butterfield KJ, Bennett J, Gronowicz G, Adams D. Effect of platelet-rich plasma with autogenous bone graft for maxillary sinus augmentation in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63(5):370-376.
- Calle A. Intercellular junctions between human odontoblasts: a freeze-fracture study after demineralization. *Acta Anat* 1985; 122(3):138-44.
- Cam KH. Pediatric Endodontic Treatment In: *Pathways of the pulp*. Cohens S, Burns RC. Eds. 9th Ed., Toronto, Mosby, 1994:p.637-41.
- Cam Y, Lesot H, Colosetti P, Ruch JV. Distribution of transforming growth factor- β 1- binding proteins and low affinity epidermal receptors during odontoblast differentiation in the Mouse.*Arch Oral Biol* 1997;42(7): 385-391.

- Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontol* 2002; 37(4):300–6.
- Camilleri J, Montesin FE, Brady K, Sweeney R, Curtis RV, Ford TR. The constitution of mineral trioxide aggregate. *Dent Mater* 2005;21(4):297-303.
- Camps J, Dejoux J, Remusat M, About I. Factors influencing pulpal response to cavity restorations. *Dent Mater* 2000; 16(8): 432-440.
- Caplan AI. Mesenchymal stem cells and gene therapy. *Clin Orthop* 2000; 379:57-70
- Carlson NE, Roach RB. Platelet – Rich Plasma: Clinical Applications in Dentistry. *JADA* 2002;133(21):1383–1386.
- Cassidy N, Fahey M, Prime SS, Smith AJ. Comparative analysis of transforming growth factor-beta isoforms 1-3 in human and rabbit dentine matrices. *Arch Oral Biol* 1997;42(27): 219-223.
- Cattani-Lorente MA, Dupuis V, Moya F, Payan J, Meyer JM. Comparative study of the physical properties of a polyacid-modified composite resin and a resin-modified glass ionomer cement. *Dent Mater* 1999; 15(2): 21-32.
- Cengiz T. (1996). *Endodonti*, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, İzmir.
- Cerny R, Slaby I, Hammarström L, Wurtz T. A novel gene expressed in rat ameloblasts codes for proteins with cell binding domains. *J Bone Miner Res* 1996; 11(15): 883- 891.
- Charette MF. Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. *J Periodont Res* 1991;27(23):285-290.
- Cho E, Kopel H, White SN. Moisture susceptibility of resin-modified glass-ionomer materials. *Quintessence Int* 1995b; 26: 351-8.
- Cho MI, Lin W-L, Genco R-J. Platelet derived growth factor modulated guided tissue regeneration therapy. *J Periodontol* 1995a;66(2):522-530.
- Chohayeb AA, Adrian JC, Salamat K. Pulpal response to tricalcium phosphate as a capping agent. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991(4):71:343-5.
- Choi BH, Zhu SJ, Kim B., Huh JY, Lee SH, Jung JH. Effect of platelet rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an *in vitro* study. *Int J Oral and Maxillofac Surg* 2005; 3(5):420-424.
- Chong BS, Pitt Ford TR, Hudson MB. A prospective clinical study of Mineral Trioxide Aggregate and IRM when used as root-end filling materials in endodontic surgery. *Int Endod J* 2003;36(8):520-6.
- Christensen GJ. Pulp capping 1998. *JADA* 1998;129(7):1297-1299.

Cohen S, Burns CR. *Pathways of the Pulp*, Mosby Company, St. Louis, Missouri, 2002, p. 411-428, 588.

Costa CAS, Duarte PT, de Souza PP, Giro EM, Hebling J. Cytotoxic effects and pulpal responses caused by a mineral trioxide aggregate formulation and calcium hydroxide. *Am J Dent* 2008; 21(8): 255-261.

Costa CAS, Edwards CA, Hanks CT. Cytotoxic effects of cleansing solutions recommended for chemical lavage of pulp exposure. *Am J Dent* 2001; 14(9): 25-30

Costa CAS, Hebling J, Hanks CT. Current status of pulp capping with adhesive systems: a review. *Dent Material* 2000; 16(12): 188-197.

Costa CAS, Mesas AN, Hebling J. Pulp response to direct capping with adhesive system. *Am J Dent* 2000; 13(13): 81-87.

Costa CAS, Oliveira MF, Giro EMA, Hebling J. Biocompatibility of resin-based materials used as pulp capping agents. *Int Endod J* 2003; 36(1): 831-839.

Cox CF, Bergenholtz G, Heys DR, Syed SA, Fitzgerald M, Heys R. Pulp capping of the dental pulp mechanically exposed to oral microflora: A 1-2 year observation of wound healing in the monkey. *J Oral Pathol* 1985; 14(11): 156-168.

Cox CF, Bergenholz G, Fitzgerald M, Heys DR, Heys RJ, Avery JK, Baker JA. Capping of the dental pulp mechanically exposed to the oral microflora- A 5 week observation of wound healing in the monkey. *J Oral Pathol* 1982; 11(12): 327-339.

Cox CF, Bogen G, Kopel HM, Ruby JD. Repair of pulpal injury by Dental materials In: *Dental Pulp*. Hargreaves KM, Goodis HE, Eds. Quintessence Publishing Co, Inc Chicago IL. 2002: p.325-343.

Cox CF, Keall CL, Keall HJ, Ostro E, Bergenholtz G. Biocompatibility of surface-sealed dental materials against exposed dental pulps. *J Prosthet Dent* 1987; 57(14): 1-8.

Cox CF, Suzuki S. Re-evaluating pulp protection: calcium hydroxide liners vs. cohesive hybridization. *J Am Dent Assoc* 1994; 125(2): 823- 831.

Cox CF, Sübay RK, Ostro E, Suzuki S, Suzuki SH. Tunnel defects in dentin bridges: their formation following direct pulp capping. *Oper Dent* 1996b; 21(4): 4-11.

Cox CF, Sübay RK, Suzuki S, Suzuki SH, Ostro E. Biocompatibility of various dental materials: pulp healing with a surface seal. *Int J Periodont Rest Dent* 1996a; 16(6): 241-251.

Cox CF. Pulp protection and direct capping with Ca(OH)₂ versus adhesive resin systems: a review of factors leading to failure or success. Tagami J, Toledo M, Prati C. *Advanced Adhesive Dentistry International Symposium*. Granada, Kuraray Co. Ltd.; 1999: 149- 145.

Cox FC, Sübay RK, Ostro E, Suzuki S. Tunnel defects in dentin bridges: their formation following direct pulp capping. *Oper Dent* 1996; 21(7): 4-11.

- Cruz – Orive LM. On the estimation of particle number. *J Microsc* 1980; 120(6): 15-27.
- Cuicchi B. Dentinal fluid dynamics in human teeth, *in vivo*. *J. Endod* 1995; 21(1): 191.
- Cvek M, Granath L, Cleaton- Jones P, Austin J. Hard tissue barrier formation in pulpotomized monkey teeth capped with cyanoacrylate or calcium hydroxide for 10 and 60 minutes. *J Dent Res* 1987; 66(13): 1166-1174.
- Çalışkan MK. *Endodontide Tanı ve Tedaviler*. Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul 2006.
- Çalışkan MK, Öztop F. Ülseröz pulpitis tanısı konmuş iki olgunun vital amputasyon sonrası kök pulparlarının histopatolojik incelenmesi. *EÜDFD Özel Sayı* 1989; 1(2): 15-29.
- D'Souza R. Development of the pulpodentin complex. In: *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Hargreaves KM, Goodis HE, Eds., IL, Quintessence Publishing Co, Inc; 2002: p. 13-40.
- D'souza RN, Bachman T, Baumgartner KR, Butler WT, Litz M. Characterization of cellular responses involved in reparative dentinogenesis in rat molars. *J Dent Res* 1995;74(4):702-709.
- Dammaschke T, Gerth HUV, zücher H, Schafer e. chemical and physical surface and bulk material characterization of white proRoot MTA and two Portland cements. *Dent Mater* 2005;21(5):731-738.
- Dammaschke T, Leidinger J, Schäfer E. Long-term evaluation of direct pulp capping—treatment outcomes over an average period of 6.1 years. *Clin Oral Invest* 2010d; 14(6):559–567.
- Dammaschke T, Stratmann U, Danesh G, Schäfer E, Ott KHR. Reaction of rat pulp tissue to Carisolv 'new gel'—A histocytological evaluation. *Australian Dent J* 2006;51(1): 57-63.
- Dammaschke T, Stratmann U, Fischer RJ, Sagheri D, Schäfer E. Proliferation of rat molar pulp cells after direct pulp capping with dentine adhesive and calcium hydroxide. *Clin Oral Invest* 2010b; Doi:10.1007/s00784-010-0409-7.
- Dammaschke T, Stratmann U, Wolff P, Sagheri D, Schäfer E. Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: an immunohistologic comparison with calcium hydroxide in rodents. *J Endod* 2010c; 36(5): 814-819.
- Dammaschke T, Stratmann U, Wolff P, Sagheri D, Schäfer E. Mineral trioxide aggregate for Direct pulp: a histologic comparison with calcium hydroxide in rat molar teeth. *Quintessence Int* 2010d;41(6):20-30.
- Dammaschke T. rat molar teeth as a study model for direct pulp capping research in dentistry. *Lab Anim* 2010; 44(1):1-6.

- De Feritas JF. Characterization and aqueous extraction of calcium hydroxide. *Aust Dent J* 1982;27(6):352-356.
- de Leimburg ML, Angeretti A, Ceruti P, Lendini M, Pasqualini D, Berutti E. MTA obturation of pulpless teeth with open apices: bacterial leakage as detected by polymerase chain reaction assay. *J Endod* 2004;30(12):883-886.
- de Obarrio JJ, Aruz-Dutari, JL., Chamberlain, TM., Croston, A. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000; 20(5):487-97.
- Deakins M. Changes in ash, water and organic content of pig enamel during calcification, *J Dent Res*, 1942;21(6):429.
- Decup S, Six N, Palmier B, Buch D, Lasfargues JJ, Salih E, Goldberg M. Bone sialoprotein induced reparative dentinogenesis in the pulp of rat's molar. *Clin Oral Investig* 2000; 4(1): 110-119
- Deuel TF, Senior RM, Huang JS, Griffin GL. Chemotaxis of monocytes and neutrophils to platelet-derived growth factor. *J Clin Invest* 1982;69(5):1046-1049.
- Deutsch D, Catalano-Sherman J, Dafni L, David S, Palmon A. Enamel matrix proteins and ameloblast biology. *Connect Tissue Res* 1995; 32(6): 97-107.
- Diekwisch T, David S, Bringas P, Santos V, Slavkin HC. Antisense inhibition of AMEL translation demonstrates supramolecular controls for enamel HAP crystal growth during embryonic mouse molar development. *Development* 1995; 117(8): 471-482.
- Diekwisch TGH, Ware J, Fincham AG, Zeichner-David M. Immunohistochemical similarities and differences between amelogenin and tuftelin gene products during tooth development. *J Histochem Cytochem* 1997; 45(11): 859-866.
- Doha, D.M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S.L., Dohan, A.J.J., Mouhyi, J., and Bruno, G. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101(3): 37-44.
- Doha DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Histological and Scanning electron microscopy assessment of various vital pulp therapy materials. *J Endod* 2003;29(3):324-333.
- Duailibi SE, Duailibi MT, Vacanti JP, Yelick PC. Prospects for tooth regeneration. *Periodontol* 2000;2006;41(1): 177-187.
- Eastoe JE. The amino acid composition of proteins from the oral tissues. II. The matrix proteins in dentine and enamel from developing deciduous human teeth. *Arch Oral Biol* 1963; 8(15): 633-652.

Eastoe JE. The chemical composition of bone and tooth, *Adv Flourine Res Dent Caries Prevent* 1965; 3(4): 5-16.

Eastoe JE. Enamel protein chemistry-Past, present and future. *J Dent Res* 1969;58(4): 753-764.

Economides N, Pantelidou O, Kokkas A, Tziafas D. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. *Int Endod J* 2003;36(1):44-48.

Eidelman E, Holan G, Fuks AB. Mineral trioxide aggregate vs. formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report. *Pediatr Dent* 2001;23(1):15-8.

Ejiri S, Toyooka E, Tanaka M, Anwar RB, Kohno S. Histological and histomorphometrical changes in rat alveolar bone following antagonistic tooth extraction and/or ovariectomy. *Arch Oral Biol* 2006 Nov;51(11):941-50.

Eliades G, Palaghias G. *In vitro* characterization of visible light-cured glass ionomer liners. *Dent Mater* 1993; 9(6): 198-203.

El-Meligy OA, Avery DR. Comparison of apexification with mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. *Pediatr Dent* 2006;28(3):248-53.

Emdogain[®] jelUser's Manuel, Biora AB, Malmö, İsveç.

Erdilek N, Tezel H, Özata F. Vazokonstriktör içeren ve içermeyen lokal anestezipler kullanılarak yapılan vital amputasyonların dentinogenezis ve pulpa reaksiyonu yönünden histolojik tetiki, *Türk Oral Biyoloji Dergisi*, 2001; 2(4): 236-268.

Estrela C, Bammann LL, Estrela CR, Silva RS, Pecora JD. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J* 2000;11(1):3-9.

Faraco Jr IM, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol* 2001;17(16):163-166.

Faraco Jr IM, Holland R. Histomorphological response of dogs' dental pulp capped with white Mineral Trioxide Aggregate. *Brazil Dent J*2004;15(8): 104–108.

Fava LRG, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: Classification and clinical indications. *Int Endod J* 1999;32(9):257-282.

Fédération Dentaire International(FDI), Commission of Dental Materials, Instruments, Equipment and Therapeutics. Recommended standart practices for biological evaluation of dental materials. *Int Dent J* 1980; 30(11):140-188.

Feilzer AJ, Gee AJ, Davidson CL. Setting stresses in composites two different curing modes. *Dent Mater* 1993;9(1):2-5.

- Ferreira CF, Carriel Gomes MC, Filho JS, Granjeiro JM, Oliveira Simoes CM, Magini RS. Platelet-rich plasma influence on human osteoblasts growth. *Clin Oral Impl Res* 2005; 16(13): 456-460.
- Ferris DM, Baumgartner JC. Perforation repair comparing two types of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2004;30(6):422-424.
- Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP, Sarte P, Lav EC, Diekwisch T, Slavkin HC. Self-assembly of a recombinant amelogenin protein generates supramolecular structures. *J Struct Biol* 1994; 112(14):103-109.
- Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP. The structural biology of the developing dental enamel matrix. *J Struct Biol* 1999;126(4):270-299.
- Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP. The structural biology of the developing dental enamel matrix. *J Struct Biol* 1999; 126(12): 270-299.
- Fischer EJ, Arens DE, Miller KH. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and Super-EBA as a root-end filling material. *J Endod* 1998;24(3):176-179.
- Fitzgerald M, Chiego DJ, Heys DR. Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. *Arch Oral Biol* 1990;35(6):707-715.
- Fitzgerald M. Cellular mechanisms of dentinal bridge repair using H-thymidine. *J Dent Res* 1979;58(spec ISS D):2198-2206.
- Fong CD, Slaby I, Hammarström L. Amelin: An enamel-related protein, transcribed in the cells of epithelial root sheath, *J Bone Miner Res* 1996; 11(9): 892-898.
- Ford TR, Torabinejad M, Abedi HR, Bakland LK, Kariyawasam SP. Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. *J Am Dent Assoc* 1996; 127(21): 1491-4.
- Foreman PC, Barnes IE. A review of calcium hydroxide. *Int Endod J* 1990; 23(11): 283-287.
- Foster BL, Somerman MJ. Regenerating the periodontium: is there a magic formula?. *Orthod Craniofacial Res* 2005; 8(14): 285-91.
- Frame JW. A convenient animal model for testing bone substitute materials. *J Oral Surg* 1980;38(1):176.
- Franz FE, Holz J, Baume LJ. Ultrastructure (SEM) of dentin bridging in human dental pulp, *J Biol Buccale* 1984;12(21): 239-246.
- Franz FE, Holz J, Baume LJ. Microradiographic assessment of neodentinal bridging following direct pulp capping in human teeth. *J Endod* 1985; 11(17): 6- 10.

- Freeman E., Turnbull R.S.: The role of osseous coagulum as a graft material. *J Periodont Res* 1973; 8(1): 229.
- Freymler EG, Aghaloo TL. Platelet-Rich Plasma: Ready or Not? *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62(5): 484 – 488.
- Fridland M, Rosado R. Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. *J Endod* 2003;29(12):814-817.
- Fukae M, Tanabe T. Non-amelogenin components of porcine enamel in the protein fraction free from the enamel crystals. *Calcif Tissue Int* 1987;40(7): 286- 293.
- Fukae M, Tanabe T, Uchida T, Yamakoshi Y, Shimizu M. Enamelins newly formed bovine enamel, *Calcif Tissue Int* 1993; 53(6): 257-261.
- Fusayama T. Factors and prevention of pulp irritation by adhesive composite resin restorations. *Quintessence Int* 1987; 18(1): 633-641.
- Gangler P. The controversy: restoration technique-should there be exclusively adhesive restorations? *Dtsch ZahnarztlZ* 2005;60(21):11-14.
- Garg, AK., Gargenese, D., Peace, I. Using platelet-rich plasma to develop an autologous membrane for growth factor delivery in dental implant therapy. *Dent Implantol Update*. 2000; 11(3):1–4.
- Gentry PA. The mammalian blood platelet: its role in haemostasis, inflammation and tissue repair, *J Comp Pathol* 1992; 107(6): 243-270.
- Gestrelus S, Andersson C, Johansson A-C, Persson E, Brodin A, Rydhag L, Hammarström L. Formulation of enamel matrix derivative for surface coating. Kinetics and cell colonization. *J Clin Periodontol* 1993; 24(4): 678-684.
- Gestrelus S, Andersson C, Lidström D, Hammarström L, Somerman M. *in vitro* studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol* 1997; 24(1): 685-692.
- Gestrelus S, Lyngstadaas SP, Hammarström L. Emdogain- periodontal regeneration based on biomimicry. *Clin Oral Invest*. 2000; 4(4): 120-125.
- Goldberg M, Septier D, Rapoport O, Young M, Ameye L. Biglycan is a repressor of amelogenin expression and enamel formation: an emerging hypothesis. *J Dent Res* 2002; 81(6): 520-524.
- Goldberg M, Six N, Decup F, Lasfargues JJ, Salih E, Tompkins K, Veis A. Bioactive molecules and the future of pulp therapy. *Am J Dent* 2003;16(9): 66-77.
- Goldberg M, Smith AJ. Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biological basis for repair and tissue engineering. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(4): 13- 27.

- Graham L, Cooper PR, Cassidy N, Nor JE, Sloan AJ, Smith AJ. The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials* 2006;27(5): 2865-2873.
- Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 1998;30(21):1019-1030.
- Greenhalgh DG. The Role of Growth Factors in Wound Healing. *J Trauma Injury Infect Critic Care* 1996; 41(1): 159 – 167.
- Gruber R, Kandler B, Jindra C, Watzak G, Watzek G. Dental pulp fibroblasts contain target cells for lysophosphatidic acid. *J Dent Res* 2004; 83(6):491-5.
- Gruber R, Karreth F, Fromm Jet F, Fiseher MB, Watzek G. Platelets are mitogenic for periosteum-derived cells. *J Orthop Res* 2003;2(21): 941-8.
- Gruber R, Karreth F, Kand. Ier B. Platelet-released supernatants increase migration and proliferation, and decrease osteogenic differentiation of bone marrow derived mesenchymal progenitor cells under *in vitro* conditions. *Platelets* 2004;15(16): 29-35.
- Gundersen HJ. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *J Microsc* 1986; 143(Pt 1):3-45.
- Hafez AA, Cox CF, Tarim B, Otsuki M, Akimoto N. An *in vivo* evaluation of hemorrhage control using sodium hypochlorite and direct capping with a one-or two-component adhesive systems in exposed non-human primate pulps. *Quintessence Int* 2002; 33(12):261-272
- Hägewald S, Pishon N, Jawor P, Bernimoulin J-P, Zimmermann B. Effects of enamel matrix derivative on proliferation and differentiation of primary osteoblasts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;98(7): 243-9.
- Haglund R, He J, Jarvis J, Safavi KE, Spangberg LS, Zhu Q. Effects of root-end filling materials on fibroblasts and macrophages *in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(6):739- 45.
- Hall RC, Embery G, Shellis RP. Biological and structural features of enamel and dentine: current concepts relevant to erosion and dentine hypersensitivity. In: *Tooth Wear and Sensitivity*. Addy M, Embery G, Edgar WM, Orchardson R, Ed., London: Martin Dunitz Ltd, 2000: p.3- 18.
- Hammarström L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol* 1997; 24(7): 658-668.
- Hammarström L, Heijl L, Gestrelus S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol* 1997; 24(2): 667-669.

Hanks CT, Bergenkoltz G, Kim JS. Protein synthesis *in vitro* in the presence of Ca(OH)₂ containing pulp- capping medicaments. *J Oral Pathol* 1983; 12(1): 356-365.

Hardy I, Liewehr FR, Joyce AP, Agee K, Pashley DH. Sealing ability of One-Up Bond and MTA with and without a secondary seal as furcation perforation repair materials. *J Endod* 2004;30(9):658-61.

Hargreaves KM, Goodis HE. *Seltzer and Benders's Dental Pulp*, Quintessence Publishing, Co, Inc, Chicago IL 2002. p. 354-356.

Hart J. Inflammation: its role of healing of acute wounds. *J Wound care* 2002;11(6):205-209

Hasheminia SM., Feizi G., Razavi SM., Feizianfard M., Gutknecht N., Mir M. A comparative study of three treatment methods of direct pulp capping in canine teeth of cats: a histologic evaluation. *Lasers Med Sci* 2010; 25(8):9-15

He J, Jiang J, Safavi KE, Spangberg LSW, Zhu Q. Direct contact between enamel matrix derivative (EMD) and osteoblasts is not required for EMD-induced cell proliferation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98(14): 370-375.

Hebling J, Giro EM, Costa CA. Biocompatibility of an adhesive system applied to exposed human dental pulp. *J Endod* 1999; 25(17): 676-682.

Heide S. The effect of pulp capping and pulpotomy on hard tissue bridges of contaminated pulps. *Int Endod J* 1991; 24(18): 126-134.

Heijl L, Heden G, Svärdröm G, Östgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1997; 24(11): 705-714.

Heitmann T, Unterbrink G. Direct pulp capping with a dentinal adhesive resin system: A pilot study. *Quintessence Int* 1995; 26(17): 765-70.

Heldin P, Laurent TC, Heldin C-H. Dimerization of B-type platelet-derived growth factor receptors occurs after ligand binding and is closely associated with receptor kinase activation. *J Biol Chem* 1989;264(12):8905-8912.

Herr P, Holz J, Baume LJ. Mantle dentine in man: A quantitative microradiographic study. *J Biol Buccale* 1986; 14(5): 139-146.

Heys DR, Cox CF, Heys RJ, Avery JK. Histological considerations of direct pulp-capping agents. *J Dent Res* 1981; 60(7): 1371-1379.

Heys DR, Fitzgerald M, Heys RJ, Chiego DJ. Healing of primate dental pulps capped with Teflon. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1990; 69(4): 227-237.

- Hiramatsu, T., Okamura, T., Imai, Y., Kurosawa, H., Aoki, M., Shin'oka, T., and other. Effects of autologous platelet concentrate reinfusion after open heart surgery in patients with congenital heart disease. *Ann Thorac Surg* 2002; 73(4):1282–1285.
- Hoang AM, Klebe RJ, Steffenson B, Ryu OH, Simmer JP. Amelogenin as a cell adhesion protein. *J Dent Res* 2002; 81(7): 497-500.
- Holland R, de Souza V, Nery MJ, Faraco Junior IM, Bernabe PF, Otoboni Filho JA, et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. *Braz Dent J* 2001;12(1):3-8.
- Holland R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabe PF, Dezan Junior E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999;25(3):161-166.
- Holland R, de Souza V, de Mello W, Nery MJ, Bernabé PFE, Otoboni Filho JA. Permeability of the hard tissue bridge formed after pulpotomy with calcium hydroxide: A histologic study. *J Am Dent Assoc* 1979; 99(8): 472-475.
- Holland R, Otoboni Filho JA, de Souza V, Nery MJ, Bernabe PF, Junior ED. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. *J Endod* 2001;27(4):281-284.
- Horsted P, El Attaar K, Langeland K. Capping of monkey pulps with dycal and calcium eugenol cement. *Oral Surg oral Med Oral Path* 1981; 52(9): 531-533.
- Howell K, Hopkins N, McLaughlin P. Combined confocal microscopy and stereology: a highly efficient and unbiased approach to quantitative structural measurement in tissues. *Exp Physiol* 2002; 87(6):747-756.
- Hsien HC, Cheng YA, Lee YL, Lan WH, Lin CP. Repair of perforating internal resorption with mineral trioxide aggregate: a case report. *J Endod* 2003;29(8):538-539.
- <http://www.leica-microsystems.com/products/microscope-software/quantitative-imaging/details/product/leica-qwin-plus-1/> (Erişim tarihi 02.02.2011)
- Hu CC, Fukae M, Uchida T, Qian Q, Zhang KH, Ryu OH, Tanabe T, Yamakoshi Y, Murakami C, Dohi N, Shimizu M, Simmer JP. Sheathlin: cloning, cDNA/ polypeptide sequences, and immunolocalization of porcine enamel sheath proteins. *J Dent Res* 1997; 76(2): 648-657.
- Hu C-C, Sakakura Y, Sasano Y, Shum L, Bringas P Jr, Werb Z, Slavkin HC. Endogenous epidermal growth factor regulates the timing and pattern of embryonic mouse molar tooth morphogenesis. *Int J Dev Biol* 1992;36(1):505-516.
- Hu C-C, Slavkin HC. The role of platelet derived growth factor in the development of embryonic mouse molars. *Int J Dev Biol* 1995;39(6):939-945.
- Hu C-C, Sun X, Zhang C, Simmer JP. A comparison of enamelin and amelogenin expression in developing mouse molars. *Eur J Oral Sci* 2001;109(7):125-32.

- Hu C-C, Zhang C, Qian Q, Tatum NB. Reparative dentin formation in rat molars after direct pulp capping with growth factors. *J Endod* 1998;24(12):744-751.
- Hu JCC, Zhang C, Yun SS, Qian Q, Ranly DDM. Platelet derived growth factor-BB and epidermal growth factor as pulp capping medicaments in rat incisors. *J Hard Tissue Biol* 1997;6(7):121-129.
- Huang TH, Yang CC, Ding SJ, Yan M, Chou MY, Kao CT. Biocompatibility of human osteosarcoma cells to root end filling materials. *J Biomed Mater Res B Appl* 2005;72(1):140-145.
- Hwas M, Sandrick JL. Acid and water solubility and strength of calcium hydroxide bases. *J Am Dent Assoc* 1984; 108(16): 46-48.
- Igarashi R, Sahara T, Shimizu-Ishiura M, Sasaki T. Pocine enamel matrix derivative enhances the formation of reparative dentine and dentine bridges during wound healing of amputated rat molars. *J Electron Microscopy* 2003; 52(21): 227-236.
- Inai T, Kukita T, Ohsaki Y, Nagata K, Kukita A, Kurisu K. Immunohistochemical demonstration of amelogenin penetration towards the dental pulp in the early stages of ameloblast development in rat molar tooth germs. *Anat Rec* 1991; 229(13): 259- 270.
- International Standard Organisation. ISO 7405 Dentistry-Preclinical Evaluation of Biocompatibility of Medical Devices Used in Dentistry- Test Methods for Dental Material. Geneva: International Standard Organisation, 1997.*
- Ishizaki NT, Matsumoto K, Kimura Y, Wang X, Yamashita A. Histopathological study of dental pulp tissue capped with enamel matrix derivative. *J Endod* 2003; 29(16): 176-179.
- Ishizeki K, Fujiwara N, Nawa T. Morphogenesis of mineralized tissues induced by neonatal mouse molar pulp isografts in the spleen. *Arch Oral Biol* 1989; 34(8):465-473.
- Iwamoto CE, Adachi E, Pameijer CH, Barnes D, Romberg EE, Jefferies S. Clinical and Histological evaluation of white proroot mta in direct pulp capping. *Am J Dent* 2006;19(1):85-90.
- Jaber L, Mascres C, Donahue WB. Electron microscope characteristics of dentin repair after hydroxylapatite direct pulp capping in rats. *J Oral Pathol Med* 1991; 20(5): 502-508.
- Jaber L, Mascres C, Donahue WB. Reactions of the dental pulp to hydroxyapatite as a capping agents on the cell proliferation of cultured fibroblasts. *J Endod* 1996; 22(9): 281-283
- Jakse N, Tangl S, Gilli R, Berghold A, Lorenzoni M, Eskici A, et al. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res* 2003;14(4):578-583.

- Jansen van Rensburg BG. Dentine. In: *Oral Biology*. Jansen van Rensburg BG., Ed., ILChicago, Quintessence Publishing Co, Inc; 1995: p. 271-280.
- Jean A, Kerebel B, Kerebel LM, Legeros RZ, Hamel H. Effects of various calcium phosphate biomaterials on reparative dentin bridge formation. *J Endod* 1988;2(4):83-87.
- Jean AH, Pouezat JA, Daculsi G. Pulpal response to calcium phosphate materials. In vivo study of calcium phosphate materials in endodontics. *Cell Mater* 1993;3(7):193-200.
- Jepsen S, Albers HK, Fleiner B, Tucker M, Charette M. Recombinant human osteogenic protein 1 induces dentin formation: An experimental study in miniature swine. *J Endod* 1997; 23: 378-382.
- Jiang J, Goodarzi G, He J, Li H, Safavi KE, Spångberg LSW, Zhu Q. Emdogain-gel stimulates proliferation of odontoblasts and osteoblasts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102(28): 698-702.
- Joffe E. Preserving tooth vitality. *Oper Dent* 2003;28(4):465-468.
- Kaida H, Hamachi T, Anan H, Maeda K. Wound healing process of injured pulp tissues with Emdogain gel. *J Endod* 2008; 34(15): 26-30.
- Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald R. Effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1965; 20(22): 340-349.
- Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald R. The exposed germ-free pulp: effects of topical corticosteroid medication and restoration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1969; 27(25): 60-67.
- Kanno T, Takahashi T, Tsujisawa T, Ariyoshi W, Nishihara T. Platelet Rich Plasma Enhances Human Osteoblast-Like Cell Proliferation and Differentiation. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63(11):362-369.
- Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J Periodontol* 2000;71(16):1654-1661.
- Kawasaki K, Tanaka S, Ishikawa T. On the daily incremental lines in human dentine. *Archs Oral Biol* 1980; 24(18): 939-943.
- Kawase T, Okuda K, Momose M, Kato Y, Yoshie H, Burns DM. Enamel matrix derivative (Emdogain[®]) rapidly stimulates phosphorylation of the MAP kinase family and nuclear accumulation of smad2 in both oral epithelial and fibroblastic human cells. *J Periodont Res* 2001; 36(28): 367-376.
- Keiser K, Johnson CC, Tipton DA. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod* 2000;26(5):288-91.

- Ketani MA, Sağsöz H. Sıçanlarda Mandibular Kondilin Histolojik Yapısı Üzerine Cinsiyetin Etkilerinin Histomorfometrik Olarak İncelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 2009;4(1): 31-38.
- Kettering JD, Torabinejad M. Investigation of mutagenicity of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod* 1995;21(11):537-542.
- Kim S, Edwall L, Trowbridge H, Chien S. Effects of local anesthetic on blood flow in dogs. *J Dent Res* 1984; 63(6): 650-652.
- Kim SG, Chung CH, Kim YK, Park JC, Lim SC. Use of particulate dentinplaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17(1):86-94.
- Kingsmill VJ, Boyde A. Mineralisation density of human mandibular bone: quantitative backscattered electron image analysis. *J Anat* 1998;192(Pt 2):245-256.
- Kirkham J, Robinson C, Weatherell JA, Richards A, Fejerskov O, Josephsen K. Maturation in developing permanent porcine enamel *J Dent Res* 1988; 67(2): 1156-1160.
- Kiryati AA. The effect of hydrocortisone plus polyantibiotics upon the damaged and infected dental pulp of rat molars. *J Dent Res* 1958;37(6):886-901.
- Kitasako Y, Inokoshi S, Fujitani M, Otsuki M, Tagami J. Short term reaction of exposed monkey pulp beneath adhesive resins. *Operative Dent* 1998;23(7):308-17.
- Kitasako Y, Shibata S, Arakawa M, Cox CF, Tagami J. A light and transmission electron microscopic study of mechanically exposed monkey pulps: Dynamics of fiber elements during early dentin bridge formation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000a; 89(2): 224-230.
- Kitasako Y, Shibata S, Pereira PNR, Tagami J. Short-term dentin bridging of mechanically exposed pulps capped with adhesive resin systems. *Operativ Dent* 2000b;25(21):155-62.
- Koh ET, McDonald F, Pitt Ford TR, Torabinejad M. Cellular response to Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod* 1998;24(8):543-547.
- Koh ET, Torabinejad M, Pitt Ford TR, Brady K, McDonald F. Mineral trioxide aggregate stimulates a biological response in human osteoblasts. *J Biomed Mater Res* 1997;37(3):432-439.
- Kopel HM. Considerations for the direct pulpa capping procedure in primary teeth: A review of the literature. *J Dent Child* 1992;3(2):141-148.
- Koulaouzidou EA, Papazisis KT, Economides NA, Beltes P, Kortsaris AH. Antiproliferative effect of mineral trioxide aggregate, zinc oxide-eugenol cement, and glass-ionomer cement against three fibroblastic cell lines. *J Endod* 2005;31(1):44-46.

- Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent* 1994; 16(6):29-35.
- Kozlov M, Massler M. Histologic effect of various drugs on amputated pulps of rat molars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1960;13(7):455-469
- Krebsbach PH, Lee SK, Matsuki Y, Kozak CA, Yamada K, Yamada Y. Full-length sequence, localization and chromosomal mapping of ameloblastin: A novel tooth-specific gene. *J Biol Chem* 1996; 271(8): 4431-4435.
- Lado EA, Pappas J, Tyler K, Stanley HR, Walker C. *in vitro* antimicrobial activity of six pulp capping agents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986; 61(8): 197-200.
- Lagerström M, Dahl N, Nakahori Y, Nakagome Y, Bäckman B, Landegren U, Petterson U. A deletion in the amelogenin gene (AMG) causes X-linked amelogenesis imperfecta (AIH1). *Genomics* 1991;10(2): 971-975.
- Landesberg R, Moses M, Karpatkin M. Risks of using platelet rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg* 1998;56(7):1116-1117.
- Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 2000;38(2):297-300.
- Landesberg R, Moses M, Karpatkin M. Risks of using platelet rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg* 1998;56(4): 1116–1117.
- Landesberg, R., Roy, M., Glickman, R.S. Quantification of growth factors levels using a simplified method of platelet rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 2000; 58(12): 297–300.
- Lau EC, Mohandes T, Shapiro LJ, Slavkin HC, Snead ML. Human and mouse amelogenin gene loci are on the sex chromosomes. *Genomics* 1989; 4(17): 162-168.
- Lawrence WT, Diegelmann RF. Growth factors in 'wound healing. *Clin Dermatol* 1994;12(3):157-69.
- Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod* 1993;19(11):541-544.
- Lesot H, Begue-Kirn C, Kübler MD, Meyer JM, Smith AJ, Cassidy N. Et al. Experimental induction of odontoblast differentiation and stimulation during reparative processes. *Cell Mater* 1993; 3(2): 201-217.
- Levine N, Pulver F, Torneck CD. Pulpal therapy in primary and young permanent teeth. In: *Pediatric Dentistry: Total Patient Care*. Wei SHY, Ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1988: p. 298-312

- Lind M. Growth Factors: Possible New Clinical Tools. A review. *Acta Orthop Scand*1996; 67(4); 407–417.
- Lim KC, Kirk EEJ. Direct pulp capping: a review. *Endod Dent Traumatol*1987;3(7): 213-219.
- Limeback H, Sakarya H, Chu W, Mac Kinnon M. Serum albumin and its acid hydrolysis peptides dominate preparations of mineral-bound enamel proteins. *J Bone Miner Res*1989; 4(8): 235-241.
- Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*1993; 4(16): 679-725.
- Linde A, Lundgren T. From serum to the mineral phase. The role of the odontoblast in calcium transport and mineral formation. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):213-22.
- Liu Y, Kalen A, Risto O, Wajhstrom O. Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate *in vitro* in pH dependent. *Wound Repair Regen*2002; 10(13): 336-340.
- Lovschall H, Fejerskov O, Flyvbjerg A. Pulp-capping with recombinant human insulin-like growth factor I (rhIGF-I) in rat molars. *Adv Dent Res* 2001; 15(15): 108-112.
- Lyngstadaas SP, Lundberg E, Ekdahl H, Andersson C, Gestrelus S. Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol*2001;28(2): 181-188.
- Mackert JR, Twiggs SW, Russell CM, Williams AL. Evidence of a critical leucite particle size for microcracking in dental porcelains. *J Dent Res* 2001; 80(6):1574-1579.
- Mackert JR, Williams AL. Microcracks in dental porcelain and their behavior during multiple firing. *J Dent Res* 1996; 75(7):1484-1490.
- Main C, Mirzayan N, Shabahang S, Torabinejad M. Repair of root perforations using mineral trioxide aggregate: a long-term study. *J Endod* 2004;30(2):80-83.
- Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plas Reconstr Surg*2001; 107(1):229–237.
- Mangin C, Yesilsoy C, Nissan R, Stevens R. The comparative sealing ability of hydroxyapatite cement, mineral trioxide aggregate, and super ethoxybenzoic acid as root-end filling materials. *J Endod* 2003;29(4):261-264.
- Mannai, C. Early implant loading in severely resorbed maxilla using xenograft, autograft and platelet-rich plasma in 97 patients. *J Oral Maxillofac Surg*. 2006; 64(6): 1420- 1426.

- Margolis HC, Beniash E, Fowler CE. Role of macromolecular assembly of enamel matrix proteins in enamel formation. *J Dent Res* 2006; 85(1): 775-793.
- Marshall GW, Balooch M, Kinney JH, Marshall SJ. The dentin substrate structure and properties related to bonding. *J Dent* 1997; 25(14): 441-458.
- Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(16):638-646.
- Marx RE, Garg AK. *Dental and Craniofacial Applications of Platelet Rich Plasma, Oral and maxillofacial surgery Miller school of medicine University of Miami*. ISBN 0- 86715-432-2. ABD: Quintessence Publishing, IL, 2005.
- Marx, RE. Platelet-rich plasma: A source of multiple autologous growth factors for bone grafts. In: *Tissue Engineering*. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE, Ed., Berlin: Quintessence 1999: p.71-82.
- Marx, RE. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma preparation [discussion]. *J Oral Maxillofac Surg* 2000;58(17):300–301.
- Marx RE. Platelet Rich Plasma: Evidence to Support its Use. *J. Oral Maxillofac Surg* 2004; 62(12): 489 – 496.
- Masterton JB. The healing of wounds of the dental pulp. *Dent Pract Dent Rec* 1966;16(15): 325-339.
- Matsuo T, Nakanishi T, Shimizu H, Ebisu S. A clinical study of direct pulp capping applied to carious exposed pulps. *J Endod* 1996; 22(16): 551-556.
- Maurice CG, Schour I. experimental cavity preparations in the molar of the rat. *J Dent Res* 1955;34(17):429-442.
- Mc Comb D. Comparison of physical properties of commercial calcium hydroxide lining cement. *J Am Dent Assoc* 1983; 107(12): 610- 613.
- Mejare I. Endodontics in primary teeth. Bergenholtz G, Horsted- Bindslev P, Reit C. *Textbook of Endodontology*. Oxford, Blackwell Munksgard Publishing Ltd, 2003: p. 92-108.
- Melin M, Joffre-Romeas A, Farges JC, Couble ML, Magloire H, Bleicher F. Effects of TGF- β 1 on dental pulp cells in cultured human teeth slices. *J Dental Res* 2000; 79(21): 1689-1696.
- Min K-S, Park H-J, Lee S-K. Effect of mineral trioxide aggregate on dentin bridge formation and expression of dentin sialoprotein and heme oxygenase-1 in human dental pulp. *J Endod* 2008;34(2):666-670.
- Mitchell PJ, Pitt Ford TR, Torabinejad M, McDonald F. Osteoblast biocompatibility of mineral trioxide aggregate. *Biomaterials* 1999;20(2):167-173.

- Mjör IA. *Dentin Biology in Restorative Dentistry*. Quintessence Publishing, Chicago Co, Inc. 2002:p.125-147.
- Mjör IA, Dahl E, Cox CF. Healing of pulp exposures: an ultrastructural study. *J Oral Pathol Med* 1991; 20(17): 496-501.
- Mjör IA, Nordal I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biol* 1996; 41(10): 401-412.
- Mohammadi Z, Modaresi J, Yazdizadeh M. Evaluation of the antifungal effects of mineral trioxide aggregate materials. *Aust Endod J* 2006;32(3):120-122.
- Moretton TR, Brown CE, Legan JJ, Kafrawy AH. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. *J Biomed Mater Res* 2000;52(26):528-533.
- Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Sperr W. The CO₂ laser as in an aid direct pulp capping. *J Endod* 1998; 24(2): 248-251.
- Mulliken JB, Glowacki J. Induced osteogenesis for repair and construction in the craniofacial region. *Plast Reconstr Surg* 1980;65(1):553.
- Murray PE, Matthews JB, Sloan AJ, Smith AJ. Analysis of incisor pulp cell populations in Wistar rats of different ages. *Arch Oral Biol* 2002a;47(7):709–715.
- Murray PE, About I, Lumley PJ, Franquin JC, Remusat M, Smith AJ. Human odontoblast cell numbers after dental injury. *J Dent* 2000a; 28(4):277-285.
- Murray PE, Franquin JC, Remusat M, Smith AJ. Restorative pulpal and repair responses. *JADA* 2001;132(9):482-491.
- Murray PE, Hafez A, Smith AJ, Cox CF. Hierarchy of pulp capping and repair activities responsible for dentin bridge formation. *Am J Dent* 2002b; 15(10): 236-243.
- Murray PE, Hafez AA, Smith AJ, Cox CF. Bacterial microleakage and pulp inflammation associated with various restorative materials. *Dent Mater* 2002; 18(11): 470-478.
- Murray PE, Lumley P, Smith G, Franquin JC, Smith AJ. Postoperative pulpal and repair responses. *JADA* 2000;131(14):321-329.
- Murray PE, Lumley PJ, Hafez AA, Cox CF, Smith AJ. Preserving the vital pulp in operative dentistry: 4. factors influencing successful pulp capping. *Dent Update* 2002;29(15):225-233.
- Murray PE, Lumley PJ, Ross HF, Smith AJ. Tooth slice organ culture for cytotoxicity assessment of dental materials. *Biomaterials* 2000a; 21 (16):1711- 21.
- Muruzabal M, Erasquin J. Discussion of methods and criteria in evaluation of periapical response. *Int Dent J* 1970;20(2):539-554.

Nair PNR, Duncan HF, Pitt Ford TR, Iuder Hu. Histological, ultrastructural and quantitative investigations on the response of healthy human pulps to experimental pulp capping with mineral trioxide aggregate: a randomized controlled trial. *Int Endod J* 2008;41(17):128-150.

Nakamura M, Bringas P Jr, Nanci A, Zeichner-David M, Ashdown B. Translocation of enamel proteins from inner enamel epithelia to odontoblasts during Mouse tooth development *Anat Rec* 1994; 238(27): 383-396.

Nakamura Y, Hammarström L, Lundberg E, Ekdahl H, Matsumoto K, Gestrelus S, Lyngstadaas SP. Enamel matrix derivative promotes reparative processes in the dental pulp. *Adv Dent Res* 2001; 15(2): 105-107.

Nakamura Y, Hammarström L, Matsumoto K, Lyngstadaas SP. The induction of reparative dentine by enamel proteins *Int Endod J* 2002;35(1): 407-417.

Nakamura Y, Slaby I, Matsumoto K, Ritchie HH, Lyngstadaas SP. Immunohistochemical Characterization of Rapid Dentin Formation Induced by Enamel Matrix Derivative. *Calcif Tissue Int* 2004;75(7): 243-252.

Nakashima M. The induction of reparative dentine in the amputated dental pulp of the dog by bone morphogenetic protein. *Arch Oral Biol* 1990;35(11): 493-497.

Nakashima M. Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenetic proteins (BMP) -2 and -4. *J Dent Res* 1994;73(8): 1515-1522.

Nakashima M. Induction of dentine in amputated pulp of dogs by recombinant human bone morphogenetic proteins-2 and 4 with collagen matrix. *Arch Oral Biol* 1994b; 39(2): 1085-1089.

Nakashima M. The effects of growth factors on DNA synthesis, proteoglycan synthesis and alkaline phosphatase activity in bovine dental pulp cells. *Arch Oral Biol* 1992;37(9):231-236.

Nanci A, Zalzal S, Lavoie P, Kunikata M, Chen W-Y, Krebsbach PH, Yamada Y, Hammarström L, Simmer JP, Fincham AG, Snead ML, Smith CE. Comparative immunochemical analyses of the developmental expression and distribution of ameloblastin and amelogenin in rat incisors. *J Histochem Cytochem* 1998; 46(11): 911-934.

Nanci A. *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure and Function*. 6th ed. St. Louis, USA. Mosby, Missouri 2003.

Nicholson JW, McLean JW. A preliminary report on the effect of storage in water on the properties of commercial light-cured glass-ionomer cements. *Br Dent J* 1992; 173(16):98-101.

Nicholson JW. Biologic considerations. In: *Fundamentals of Operative Dentistry A Contemporary Approach*. Schwartz RS, Summitt JB, Robbins JW, Ed., Illinois(IL), Quintessence Publishing Co, Inc; 1996: p.1-26.

Niinuma A. Newly developed resinous direct pulp capping agent containing calcium hydroxide (MTYA-Ca). *J Endod* 1999; 32(1): 475- 478.

Nitta Y, Yamada T, Morigami M, Hosoda H. Study on dental cement Part 5. Cryo-SEM observation on dentin-glass polyalkenoate cement interface . In: Iwami Y, Yamamoto H, Sato W, Kawai K, Torii M, Ebisu S. Weight change of various lightcured restorative materials after water immersion. *Oper Dent* 1998; 23(21): 132-137.

Nyborg H. Healing Processes in the pulp on capping; a morphologic study; experiments on surgical lesions of the pulp in dog and man. *Acta Odontol Scand* 1955; 13(Suppl 16):1-130.

Nyengaard JR. Stereologic methods and their application in kidney. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(13): 1100-23.

Obersztyn A, Jedrzejczyk J, Smiechowska W. Direct capping of infected rat incisor pulp with lyophilized dentin chips, prednisolone and neomycin. *Czas Stomatol* 1969; 22(2):115-22.

Obersztyn A. A new method for testing drugs used in direct pulp capping on a rat incisor as an experimental model. *Czas Stomatol* 1965; 18(5):213-220.

Ogino, Y., Ayukawa, Y., Tsukiyama, Y., Koyano, K. The effect of platelet-rich plasma on the cellular response of rat bone marrow cells *in vitro*. *Oral surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100(3):302-307.

Oguntebi BR, Clark AE, Wilson J. Pulp capping with Bioglass and autologous demineralized dentin in miniature swine. *J Dent Res* 1993; 72(4):484-489.

Oguntebi BR, Heaven T, Clark AE, Pink FE. Quantitative assessment of dentin bridge formation following pulp capping in miniature swine. *J Endod* 1995; 21(6): 79-82.

Oida S, Nagano T, Yamakoshi Y, Ando H, Yamada M, Fukae M. Amelogenin gene expression in porcine odontoblasts. *J Dent Res* 2002; 81(8): 103-108.

Okiji T. Pulp as a connective tissue. In: *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Hargreaves KM, Goodis HE, Ed., Chicago, IL: Quintessence Publishing Co, Inc, 2002: p.95-122.

Olsson B, Sliwowski A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *J Endod* 1981; 7(6):355-369.

Ørving T (1967). Phylogeny of tooth tissues: evolution of some calcified tissues in early vertebrates. In: *Structure and chemical organization of teeth*. Miles AEW, editor. Vol. I. New York: Academic Press, s 45- 110. In: Goldberg M, Septier D. Phospholipids in Amelogenesis and Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(3): 276-290.

- Osorio RM, Hefti A, Vertucci FJ, Shawley AL. Cytotoxicity of endodontic materials. *J Endod* 1998;24(2):91-96.
- Oursler MJ. Osteoclast Synthesis, Secretion and Activation of Latent Transforming Growth Factor – β . *J Bone Miner Res* 1994; 9(1): 443–452.
- Özata F, Piskin B, Erdilek N, Aktaner O, Tuncer AV. Comparison of calcium hydroxide and formocresol pulpotomies in primary teeth in lambs: preliminary study. *J Endod* 1987; 13(6): 328-335.
- Panagakos FS, O'Boskey JF Jr, Rodriguez E. Regulation of pulp cell matrix metalloproteinase production by cytokines and lipopolysaccharides. *J Endod* 1996; 22(7):358-361.
- Papagerakis P, MacDougall M, Hotton D, Bailleul-Farestier I, Oboeuf M, Berdal A. Expression of amelogenin in odontoblasts. *Bone* 2003; 32(2): 228-240.
- Park JB, Matsuura M, Han KY, Norderyd O, Lin WL, Genco RJ, et al. Periodontal regeneration in class 3 furcation defects of beagle dog using guided tissue regenerative therapy with platelet-derived growth factor. *J Periodontol* 1995; 66(1): 462-477.
- Pashley DH, Carvalho RM, Tay FR, Yoshiyama M. Uncovering the secrets of the self-healing potential of pulp-dentin complex. In: *Modern Trends in Adhesive Dentistry. Proceedings of the Adhesive Dentistry Forum*. Yoshiyama M, Nishitani Y, Nakabo S, Cox CF, Ed., Okayama, Japan. 2002: p.116.
- Pashley DH, Livingston MJ, Reeder OW, Horner J. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine invitro. *Archs Oral Biol.* 1978; 23(7): 1127-1133.
- Pashley DH. Pulp-dentin Complex. In: *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Hargreaves KM, Goodis HE, Ed., IL, Chicago: Quintessence Publishing Co, Inc, 2002: p.63-93.
- Perdigao J, Lopes M. Dentin Bonding- Questions for the New Millennium. *J Adhes Dent* 1999; 1(2): 191-209.
- Pereira JC, Segala AD, Costa CA. Human pulpal response to direct pulp capping with an adhesive system. *Am J Dent* 2000; 13(5):139-147.
- Perez AL, Spears R, Gutmann JL, Opperman LA. Osteoblasts and MG-63 osteosarcoma cells behave differently when in contact with ProRoot MTA and White MTA. *Int Endod J* 2003;36(8):564-570.
- Phillips RW. *Biological consideration in use of dental materials*. Indiana: W. B. Saunders Company, 1991. p:124-127
- Piez KA. The nature of the protein matrix of human enamel. *J Dent Res Abstracts IADR* 1960;39(2):712.

- Pisanti S, Sciaky I. Origin of calcium in the repair wall after pulp exposure in the dog. *J Dent Res* 1964; 43(26): 641-644.
- Pitt Ford TR, Torabinejad M, Abedi HR, Bakland LK, Kariyawasam SP. Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. *Am J Dent* 1996; 127(21): 1491-1494.
- Pitt Ford TR, Torabinejad M, McKendry DJ, Hong CU, Kariyawasam SP. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 79(6): 756-763.
- Pontoriero R, Wennstrom J, Lindhe J. The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. A prospective controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 1999; 26(1): 833-840.
- Prosser HJ, Groffman DM, Wilson AD. The effects of composition on the erosion properties of calcium hydroxide. *J Dent Res* 1982; 61(14): 1431-1435.
- Queiroz AM, Assed S, Leonardo MR, Nelson-filho P, Silva LAB. MTA and calcium hydroxide for pulp capping. *J Appl Oral Sci* 2005; 13:126-130.
- Rampado ME, Tjaderhane L, Friedman S, Hamstra SJ. The benefit of operating microscope for access cavity preparation by undergraduate students. *J Endod* 2004; 30(16): 863-7.
- Robinson C, Brookes SJ, Shore RC, Kirkham J. The developing enamel matrix: nature and function. *Eur J Oral Sci* 1998; 106(11): 282-291.
- Robinson C, Lowe NR, Weatherell JA. The amino acid composition, distribution and origin of tuft protein in human and bovine dental enamel. *Arch Oral Biol* 1975; 20(1): 29-42.
- Robiony M, Polini F, Costa F, Politi M. Osteogenesis distraction and Platelet rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: Preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg* 2002, 60(2): 630-635.
- Ross R. Platelet derived growth factor. *Ann Rev Med* 1987; 38(1): 71-79.
- Rowe NL. Nonunion of the mandible and maxilla. *J Oral Surg* 1969; 27(3): 520.
- Royet JP. Stereology: A method for analyzing images. *Prog Neurobiol* 1991; 37(5): 433-474.
- Ruch JV, Lesot H, Begue-Kirn C. Odontoblast differentiation. *Int J Develop Biol* 1995; 39(9): 51-68.
- Rutherford B, Fitzgerald M. A New Biological Approach To Vital Pulp Therapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 1995; 6(1): 218-229.

- Rutherford RB, Wahle J, Tucker M, Rueger D, charette m. Induction of reparative dentine formation in monkeys by recombinant human osteogenic protein-1. *Arch Oral Biol*1993;38(7):571-576.
- Rutherford RB, Gu K. Treatment of inflamed ferret dental pulps with bone morphogenetic proteins (BMP)-7. *Eur J Oral Sci*2000; 108(2): 202-206.
- Rutherford RB, Spangberg L, Tucker M, Charette M. Osteogenic protein-1 stimulates reactionary dentin formation. *J Dent Res* 1995; 74 (SI): p.83.
- Rutherford RB, Spangberg L, Tucker M, Rueger D, Chatterre M. The time-course of the induction of reparative dentine formation in monkeys by recombinant human osteogenic protein-I. *ArchOral Biol*1994; 39(1): 833-838.
- Rutherford RB. BMP-7 gene transfer to inflamed ferret dental pulps. *Europ J Oral Sci* 2001;109(7): 422.
- Sabbarini J, Mounir M, Dean J. Histological evaluation of enamel matrix derivative as a pulpotomy agent in primary teeth. *Pediatr Dent* 2007; 29(10): 475-479.
- Saidon J, He J, Zhu Q, Safavi K, Spangberg LS. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod* 2003;95(4):483-9.
- Sammartino, G., Tia, M., Marenzi, G., Lauro, A.E., D'Agostino, E., Claudio, P.P. Use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in periodontal treatment after extraction of impacted mandibular third molars. *JOral Maxillofacial Surg.* 2005;63(6): 766-770.
- Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is Platelet Rich Plasma the Perfect Enhancement Factor? A Current Review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18(12): 93-103.
- Sano H, Cuicchi B, Mathews WG, Pashley DH. Tensile properties of mineralised and demineralised human and bovine dentin. *J Dent Res* 1994; 73(15): 1205-1211.
- Santamaria M, Milagres D, Stuaní AS, Stuaní MBS, Ruellas ACO. Initial changes in pulpal microvasculature during orthodontic tooth movement: a stereological study. *Eur J Orthod*2006;28(3):217-220.
- Sasaki T, Kawamata-Kido H. Providing an environment for reparative dentine induction in amputated rat molar pulp by high molecular weight hyaluronic acid. *Arch Oral Biol* 1995;40(17):203-219.
- Sasaki T, Kido HK. Providing an environment for reparative dentine induction in amputated rat molar pulp by high molecular-weight hyaluronic acid. *Arch Oral Biol* 1995;40(11):209-219.
- Sasaki T, Nakagawa K, Higashi S. Ultrastructure of odontoblasts in kitten tooth germs as revealed by freeze-fracture. *Arch Oral Biol* 1982;27(10):897-904.

- Sawa Y, Horie Y, Yamaoka Y, Ebata N, Kim T, Yoshida S. Production of colony-stimulating factor in human dental pulp fibroblasts. *J Dent Res* 2003; 82(2):96-100.
- Sawicki L, Pameijer CH, Emerich K, Adamowicz-Klepalska B. Histological evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide in direct pulp capping of human immature permanent teeth. *Am J Dent* 2008;21(1):262-266.
- Scheerer SQ, Steiman HR, Cohen J. A comparative evaluation of three root-end filling materials: an *in vitro* leakage study using *Prevotella nigrescens*. *J Endod* 2001;27(1):40-42.
- Schmitt D, Lee J, Bogen G. Multifaceted use of ProRoot MTA root canal repair material. *Pediatr Dent* 2001;23(4):326-330.
- Schou S, Holmstrup P, Jorgensen T, Skovgaard LT, Stolze K, HjørtingHansen E, Wenzel A. Anorganic porous bovine-derived bone mineral (BioOss[®]) and EPTFEmembrane in the treatment of peri-implantitis in cynomolgus monkeys. *Clin Oral Impl Res* 2003; 14(5):535-547.
- Schröder U. Effect of an extra-pulpal blood clot on healing following experimental pulpotomy and capping with calcium hydroxide. *Odontol Rev* 1973;24(10):257-269.
- Schröder U. Effects of calcium-hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation and differentiation. *J Dent Res* 1985;64(1):541-548.
- Schröder U, Garanath LE. Early reaction of intact human teeth to calcium hydroxide following experimental pulpotomy and its significance to the development of the hard tissue barrier. *Odontol Revy* 1971; 22: 379-395.
- Schröder U, Granath L-E. Scanning electron microscopy of hard tissue barrier following experimental pulpotomy of intact human teeth and capping with calcium hydroxide. *Odontol Revy* 1972;23(16): 211-304.
- Schröder U. Evaluation of healing following experimental pulpotomy of human teeth and capping with calcium hydroxide. *Odontol Revy* 1972;23:329-340.
- Schuurs AHB, Gruythuisen RJM, Wesselink PR. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: a review. *Endod Dent Tramadol* 2000;16(6):240-250.
- Schwartz RS, Mauger M, Clement DJ, Walker WA, 3rd. Mineral trioxide aggregate: a new material for endodontics. *J Am Dent Assoc* 1999;130(7):967-975.
- Sciaky I, Pisanti S. Localization of calcium placed over amputated pulps in dog's teeth. *J Dent Res* 1960; 39(11): 1128-1132.
- Shapiro IM, Wuthier RE, Irwing JT. A study of the phospholipids of bovine dental tissues. I. Enamel matrix and dentine. *Arch Oral Biol* 1966; 11(10): 501-512.

- Shayegan A, Petein M, Vandeen Abbele A. The use of beta-tricalcium phosphate, white MTA, white portland cement and calcium hydroxide for direct pulp capping of primary pig teeth. *Dent Traumatol* 2009;25(7):413-419.
- Simard-Savoie S, Lemay H, Taleb L. The effect of epinephrine on pulpal microcirculation. *J Dent Res* 1979; 58(36): 2074-2079.
- Simmons D, Gu TT, Krebsbach PH, Yamada Y, Macdougall M. Identification and characterization of a cDNA for mouse ameloblastin. *Connect Tissue Res* 1998; 39(23): 3-12.
- Simon P, Cooper A, Smith B, Picard C, Naulin Ifi A, Berdal Evaluation of a new laboratory model for pulp healing: preliminary study. *Int Endod J* 2008; 41(1): 781–790.
- Siqueira Jr JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: A critical review. *Int Endod J* 1999; 32(3): 361-369.
- Six N, Lasfargues J-J, Goldberg M. Differential repair response in the coronal and radicular areas of the exposed rat molar pulp induced by recombinant human bone morphogenetic protein 7 (osteogenic protein 1). *Arch Oral Biol* 2002;47(5):177-187.
- Slavkin HC, Boyd A. Cementum: an epithelial secretory product. *J Dent Res* 1974; 53(10): 157.
- Slavkin HC, Diekwisch T. Evolution in tooth developmental biology: of morphology and molecules. *Anat Rec* 1996; 235(26): 131-160.
- Sloan AJ, Smith AJ. Stimulation of the dentine-pulp complex of rat incisor teeth by transforming growth factor-beta isoforms 1-3 *in vitro*. *Arch Oral Biol* 1999;44(1):149-156.
- Sluyk SR, Moon PC, Hartwell GR. Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate when used as a furcation perforation repair material. *J Endod* 1998; 24(11): 768-771.
- Smith AJ. Dentin formation and repair In: *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Hargreaves KM, Goodis HE, Ed., IL Chicago: Quintessence, Co, Inc, 2002 p. 112-140.
- Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Begue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):273-280.
- Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Begue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):273-280.
- Smith AJ, Lesot H. Induction and regulation of crown dentinogenesis: embryonic events as a template for tissue repair? *Crit Rev Oral Biol Med* 2001;12(3):425-437.
- Smith AJ, Murray PE, Lumleu PJ. Preserving the vital pulp in operative dentistry: I. a biological approach. *Restorative dentistry* 2002;29(3):64-69.

Smith AJ, Smith G. Solubilisation of TGF- β 1 by dentine conditioning agents, *J Dent Res* 1998; 77: 1034 abstr. 3224.

Smith AJ, Tobias RS, Murray PE. Transdental stimulation of reactionary dentinogenesis in ferrets by dentine matrix components. *J Dent* 2001; 29(7):341-346.

Smith C, Marks AD, Liebherman M. *Marks' Basic Biochemistry A Clinical Approach*. Lippincott: Williams & Wilkins, New York City 2007 p.189-190.

Smith GN and Walton RE: Periodontal ligament injection: distribution of injected solutions, *Oral Surg* 1983; 55(8):232-238.

Snuggs HM, Coz CF, Powel CS, White KC. Pulpal healing and dentinal bridge formation in an acidic environment. *Quintessence Int* 1993; 24: 501-510.

Soffer E, Ouhayoun JP, Anagnostou F. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(5):521-528.

Spahr A, Lyngstadaas SP, Slaby I, Haller B, Boeckh C, Tsoulfidou F, Hammarström L. Expression of amelogenin and trauma-induced dentin formation. *Clin Oral Invest* 2002;6(1): 51-57.

Stanley HR. Pulp capping: conserving the dental pulp- can it be done? Is it worth it? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 68(27): 628-639.

Stanley HR, Clark AE, Pameijer KH, Louw NP. Pulp capping with a modified bioglass formula. *Am J Dent* 2001; 14(17): 227-232.

Stanley HR, Lundy T. Dycal therapy for pulp exposures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972; 34(8): 818-827.

Stanley HR, White CL, McGrey L. The rate of tertiary (reparative) dentine formation in the human tooth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966;21(4):180-189.

Stanley HR. Criteria for standardising and increasing credibility of direct pulp capping studies. *Am J Dent* 1998;11(Spec ISS):S17-34.

Stanley HR. Effects of dental restorative materials: local and systemic responses reviewed. *J Am Dent Assoc* 1993; 124(2):76-90.

Stanley HR. Pulp capping: conserving the dental pulp- it can be done? Is it worth it. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 68(7): 628- 639.

Steflik DE, Corpe RS, Lake FT, Young TR, Sisk AL, Parr GR, Hanes PJ, Berkery DJ. Ultrastructural analyses of the attachment (bonding) zone between bone and implanted biomaterials. *J Biomed Mater Res* 1998; 39(4):611-620.

Sterio OC. The unbiased estimation of number and size of arbitrary particles using the disector. *J Microsc* 1984; 134(Pt 2): 127-136.

Stockton LW. Vital pulp capping: A worldwide procedure. *J Can Dent Assoc* 1999;65(4):328-331.

Stowe TJ, Sedgley CM, Stowe B, Fenno JC. The effects of chlorhexidine gluconate (0.12%) on the antimicrobial properties of tooth-colored ProRoot mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2004;30(6):429-431.

Sturdevant JR, Lundeen TF, Sluder TB. Clinical Significance of Dental Anatomy, Histology, Physiology and Occlusion. In: *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry. Fourth Edition*. Sturdevant JR, Heymann HO, Swift EJ, Ed: St. Louis, Mosby Inc, Missouri, 2002: p.13-62.

Suzuki M, Ogisu T, Kato C, Shinkai K, Katoh Y. Effect of CO₂ laser irradiation on wound healing of exposed rat pulp. *Odontol* 2011; 99(1): 34-44.

Suzuki S, Nagano T, Yamakoshi Y, Gomi K, Arai T, Fukae M, Katagiri T, Oida. Enamel Matrix Derivative Gel Stimulates Transduction of BMP and TGF- β . *J Dent Res* 2005; 84(6): 510-514.

Sübay K, Aşçı S. Human pulpal response to hydroxyapatite and a calcium hydroxide material as direct capping agents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1993; 76(8): 485-492.

Sübay RK, Aşçı S, Kaya H, Cox CF. Human pulpal response after partial pulpotomy with two calcium hydroxide products. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1995; 80(10):330-337.

Taira Y, Shinkai K, Suzuki M, Kato C, Katoh Y. Direct pulp capping effect with experimentally developed adhesive resin systems containing reparative dentin-promoting agents on rat pulp: mixed amounts of additives and their effect on wound healing. *Odontology* 2001 Apr 23.

Takagi K., Urist MR.: The reaction of the dura the bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. *Ann Surg* 1982; 196(1):100.

Takita T, Hayashi M, Takeichi O, et al. Effect of mineral trioxide aggregate on proliferation of cultured human dental pulp cells. *Int Endod J* 2006;39(4):415-422.

Takuma S, Nagai N. Ultrastructure of rat odontoblasts in various stages of their development and maturation. *Arch Oral Biol* 1971; 16(9):993-1011.

Tam LE, Pulver E, McComb D, Smith DC. Physical properties of calcium hydroxide and glass-ionomer bases and lining materials. *Dent Mater* 1989; 5(1): 145-149.

Leinfelder KF. Changing restorative traditions: the use of bases and liners. *J Am Dent Assoc* 1994; 125(1): 65-67.

Tang HM, Torabinejad M, Kettering JD. Leakage evaluation of root end filling materials using endotoxin. *J Endod* 2002;28(1):5-7.

- Tassani P, Otto D, Szekely A, Meiser B, Uberfuhr P, Pfeiffer M, Jaenicke U. Transfusion of Platelet Rich Plasma from the Organ Donor during Cardiac Transplantation. *J Clin Anesth* 1997; 9(4): 409-414.
- Termine JD, Belcourt AB, Christner PJ, Conn KM, Nylen MU. Properties of dissociatively extracted fetal tooth matrix proteins. Principal molecular species in developing bovine enamel. *J Biol Chem* 1980; 20(24): 9760-9768.
- Thomson TS, Berry JE, Somerman MJ, Kirkwood KL. Cementoblasts maintain expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2003;29(6):407-412.
- Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999;25(3):197-205.
- Torabinejad M, Higa RK, McKendry DJ, Pitt Ford TR. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. *J Endod* 1994;20(4):159-163.
- Torabinejad M, Hong CU, Lee SJ, Monsef M, Pitt Ford TR. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. *J Endod* 1995a;21(12):603-608.
- Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995b;21(7):349-353.
- Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. *J Endod* 1995c;21(8):403-406.
- Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Cytotoxicity of four root end filling materials. *J Endod* 1995d;21(10):489-492.
- Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKendry DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasam SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. *J Endod* 1997;23(4): 225-228.
- Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 1995e;21(3):109-112.
- Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod* 1993;19(12):591-595.
- Torneck CD, Moe h, Howley TP. The effect of calcium hydroxide on pocine pulp fibroblasts *in vitro*. *J Endod* 1983;9(10):131-136.
- Tozum TF, Demiralp B. Platelet-Rich Plasma: A Promising Innovation in Dentistry. *J Can Dent Assoc* 2003;69(10),664.
- Trowbridge H, Kim S, Suda H. Structure and functions of the dentin and pulp complex. In: *Pathways of the Pulp. Eighth Edition*. Cohen S, Burns RC, Ed., St. Louis, Mosby Inc, Missouri, 2002: p.411-455.

Tselnik M, Baumgartner JC, Marshall JG. Bacterial leakage with mineral trioxide aggregate or a resin-modified glass ionomer used as a coronal barrier. *J Endod* 2004;30(11):782-4.

Turk A, Ishida K, Jensen A, Wollman J, Miller T. Enhanced Healing of Large Cranial Defects by an Osteoinductive Protein in Rabbits. *Plastic Reconstruct Surg* 1993; 92(4): 593-600.

Turnbull RS, Freeman E. Use of wounds in the parietal bone of the rat for evaluating bone marrow for grafting into periodontal defects. *J Peridont Res* 1974; 9(2):39.

Turner C, Courts FJ, Stanley HR. A histological comparison of direct pulp capping agents in primary canines. *ASDC J Dent Child* 1987;54: 423-428.

Turner JE, Anderson RW, Pashley DH, Pantera EA. Microleakage of temporary endodontic restorations in teeth restored with amalgam. *J Endod* 1990;16(3):1-4.

Tziafas D. The future role of a molecular approach to pulp-dentinal regeneration, *Caries Research* 2004; 38: 314-320.

Tziafas D, Alvanou A, Panagiotakopoulos N, Smith AJ, Lesot H, Komnenou A, Ruch JV. Induction of odontoblast-like cell differentiation in dog dental pulps after *in vivo* implantation of dentine matrix components. *Arch Oral Biol* 1995;40(5):883-893.

Tziafas D, Alvanou A, Papadimitriou S, Gasic J, Komnenou A. Effects of recombinant basic fibroblast growth factor, insulin-like growth factor- II and transforming growth factor- β 1 on dog pulp cells *in vivo*. *Arch Oral Biol* 1998; 43(10): 431-444.

Tziafas D, Kolokuris I, Alvanou A, Kaidoglou K. Short-term dentinogenic response of dog dental pulp after its induction by demineralized or native dentine, or predentine. *Arch Oral Biol* 1992;37(12):119-128.

Tziafas D, Lambrianidis T, Beltes P. Inductive effect of native dentin on the dentinogenic potential of adult dog teeth. *J Endod* 1993;19(4):116-122.

Tziafas D, Pantelidou O, Alvanou A, Belibasakis G, Papadimitrou S. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. *Int Endod J* 2002; 35(5): 245-254.

Tziafas D, Papadimitriou S. Role of exogenous TGF-beta in induction of reparative dentinogenesis *in vivo*. *Eur J Oral Sci* 1998; 106 (Suppl 1):192-196.

Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. Designing new treatment strategies in Vital pulp therapy. *J Dent* 2000;28(10):77-92.

Tziafas D. Basic mechanisms of cytodifferentiation and dentinogenesis during dental pulp repair. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):281-290.

Tziafas D. Induction of reparative dentinogenesis *in vivo*: a synthesis of experimental observations. *Connect Tissue Res* 1995;32(2):297-301.

- Vahtokari A, Vainio S, Thesleff I. Associations between transforming growth factor- β 1 RNA expression and epithelial-mesenchymal interactions during tooth morphogenesis. *Development* 1991;113(3): 985-994.
- Valois CR, Costa ED. Influence of the thickness of mineral trioxide aggregate on sealing ability of root-end fillings *in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97(1):108-111.
- Vargas JW, Liewehr FR, Joyce AP, Runner RR. A comparison of the *in vitro* retentive strength of glass-ionomer cement, zinc-phosphate cement, and mineral trioxide aggregate for the retention of prefabricated posts in bovine incisors. *J Endod* 2004 30(11):775-777.
- Veis A, Tompkins K, Alvares K, Wei K, Wang L, Wang XS et al. Specific amelogenin gene splice products have signaling effects on cells in culture and in implants *in vivo*. *J Biol Chem* 2000; 275(45): 41263-41272.
- von Arx T. Frequency and type of canal isthmuses in first molars detected by endoscopic inspection during periradicular surgery. *Int Endod J* 2005;38(2):160–168.
- von Wurmb-Schwark N, Bosinski H, Ritz-Timme S. What do the X and Y chromosomes tell us about sex and gender in forensic case analysis? *J Forensic Sci Leg Med* 2007; 14(12): 27-30.
- Wakida K, Amizuka N, Murakami C, Satoda T, Fukae M, Simmer JP, Ozawa H, Uchida T. Maturation ameloblasts of the porcine tooth germ do not Express amelogenin. *Histochem Cell Biol* 1999; 111(4): 297-303.
- Wang FS, Kuo YR, Wang CJ, Yang KD, Chang PR, Huang YT, et al. Nitric oxide mediates ultrasound-induced hypoxia-inducible factor-1 α activation and vascular endothelial growth factor-A expression in human osteoblasts. *Bone* 2004; 35(2): 114-123.
- Watts A, Paterson RC. Migration of materials and microorganisms in the dental pulp of dogs and rats. *J Endod* 1982;8(1):53-58.
- Webber RT, del Rio CE, Brady JM, Segall RO. Sealing quality of a temporary filling material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978;46(5):123–130.
- Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE, Wagner W. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14(6): 357-362.
- Weibrich G, Kleis WK. Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of 2 different methods for the preparation of platelet rich plasma. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13(4):437–443.

Weldon JK, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF. Sealing ability of mineral trioxide aggregate and super-EBA when used as furcation repair materials: a longitudinal study. *J Endod* 2002;28(6):467-470.

West MJ. New stereological methods for counting neurons. *Neurobiol Aging* 1993; 14(4):275-285.

White C, Bryant N. Combined therapy of mineral trioxide aggregate and guided tissue regeneration in the treatment of external root resorption and an associated osseous defect. *J Periodontol* 2002;73(12):1517-1521.

White JD, Lacefield WR, Chavers LS, Eleazer PD. The effect of three commonly used endodontic materials on the strength and hardness of root dentin. *J Endod* 2002;28(12):828-830.

Whitman, D.B., Berry, R.L., Gren, D.M. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55(10): 1294-1299.

Williams WR, Rakic P. Three-dimensional counting: an accurate and direct method to estimate numbers of the cells in sectioned material. *J Comp Neurol* 1988; 278(6): 344-352.

Wiltfang J, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Zimmermann R, Kessler P. Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clin Oral Implants Res* 2003;14:213-218.

Wiltfang J, Kloss FR, Kessler P, Nkenke E, Schultze-Mosgau S, Zimmermann R, et al. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. An animal experiment. *Clin Oral Impl Res* 2004;15(1): 187–193.

Wu MK, Kontakiotis EG, Wesselink PR. Decoloration of 1% methylene blue solution in contact with dental filling materials. *J Dent* 1998;26(7):585-589.

Yamakoshi Y. Carbohydrate moieties of porcine 32 kDa enamelin. *Calcif Tissue Int* 1995;56(6): 323-330.

Yang IS, Lee DS, Park JT, Kim HJ, Son HH, Park JC. Tertiary dentin formation after direct pulp capping with odontogenic ameloblast-associated protein in rat teeth. *J Endod* 2010;36(12):1956-1962.

Ye L, Le TQ, Zhu L, Butcher K, Schneider RA, Li W, DenBesten PK. Amelogenins in human developing and mature dental pulp. *J Dent Res* 2006;85(4): 814-818.

Yıldırım S, Alaçam A, Sarıtaş ZK, Oygür T. Transforming Growth Factor B1 'in Pulpa Tedavilerinde Kullanılabilirliğinin Histopatolojik Olarak Araştırılması. *GÜ Dişhek Fak Derg* 2001;18(4):123-132.

Yoshihara K, Yoshihara N, Iwaku M. Histological observations of hard tissue barrier formation in amputated dental pulp capped with tricalcium phosphate containing calcium hydroxide. *Endod Dent Traumatol* 1994; 10(1): 113-120.

Yoshimine Y, Maeda K. Histologic evaluation of tetracalcium phosphate-based cement as a direct pulp-capping agent. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 79(10): 351-358.

Yu CY, Boyd NM, Cringle SJ, et al. An *in vitro* and *in vivo* comparison of the effects of vasoactive mediators on pulpal blood vessels in rat incisors. *Arch Oral Biol* 2002;47(7):723-737.

Zeichner MD. Is there more to enamel matrix proteins than biomineralization? *Matrix Biology* 2001; 20(9): 307-316.

Zetterström O, Andersson C, Eriksson L, Fredrikson A, Friskopp J, Heden G, Jansson B, Lundgren T, Nilveus R, Olsson A, Renvert S, Salonen L, Sjöström L, Winell A, Östgren A, Gestrelus S. Clinical safety of enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) in the treatment of periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1998;24(10): 697-704.

Zmener O, Banegas G, Pameijer CH. Coronal microleakage of three temporary restorative materials: an *in vitro* study. *J Endod* 2004; 30(8):582-584.

EKLER

Ek 1. HADYЕК Onay Formu

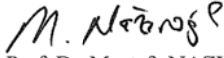
T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
ISPARTA

SAYI : 1101531123159569-143
KONU: Etik Kurul Kararı

08/12/2009

SAYIN
Yrd.Doç.Dr. Murat MADEN
(SDÜ Diş Hekimliği Fak. Endodonti A.D. Öğretim Üyesi)

“Direkt Kuafaj Materyallerinin Pulpaya Etkilerinin Stereolojik Yöntemle İncelenmesi” konulu projeniz Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 08 ARALIK 2009 tarih ve 09 sayılı kararı ile uygun bulunmuştur. Kararın bir örneği ekte sunulmuştur. Bilgilerinize rica ederim.


Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU
Süleyman Demirel Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

Ek 1 Devamı:

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİV. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
08.12.2009	27	09

SDÜ. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 08 ARALIK 2009 tarihinde Saat 15:35'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

09-SDÜ Diş Hekimliği Fak. Endodonti A.D. Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Murat MADEN'in yürütücüsü olduğu, Dr.Ekim Onur ORHAN, Dr.Ahmet SAVGAT'ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Direkt Kuafaj Materyallerinin Pulpaya Etkilerinin Stereolojik Yöntemle İncelenmesi" konulu çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı (hafta)
	Wistar Albino	Erkek	28	300-350gr

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU BAŞKAN	Yrd.Doç.Dr.Efkan UZ BAŞKAN YARDIMCISI	Prof.Dr.Fatih GÜLTEKİN ÜYE
		
Doç. Dr.Sema BIRCAN ÜYE	Doç.Dr.Münire ÇAKIR ÜYE	Yrd.Doç. Dr.Bilge ÇADIR ÜYE
		
Vet.Hekim İsmail UZ ÜYE	Eczacı Mustafa Serhan DERYAL ÜYE	Vet.Hekim İshak Suat ÖVEY ÜYE
		
KATILMADI	KATILMADI	

Ek 2: Hayvan Deneyleri Uygulama Sertifikası



REPUBLIC OF TURKEY
SÜLEYMAN DEMİREL UNIVERSITY
ETHICS COMMITTEE of EXPERIMENTAL ANIMAL USAGE

Certificate No: 2008-2/004

CERTIFICATE OF EXPERIMENTAL ANIMAL USAGE

Dear : Ekim Onur ORHAN

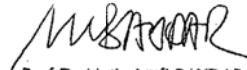
has successfully completed the course in Laboratory
Animal Science for **Researchers**

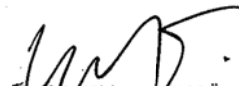
24-28 November, 2008
ISPARTA

Course Subjects (Type of course and hours)

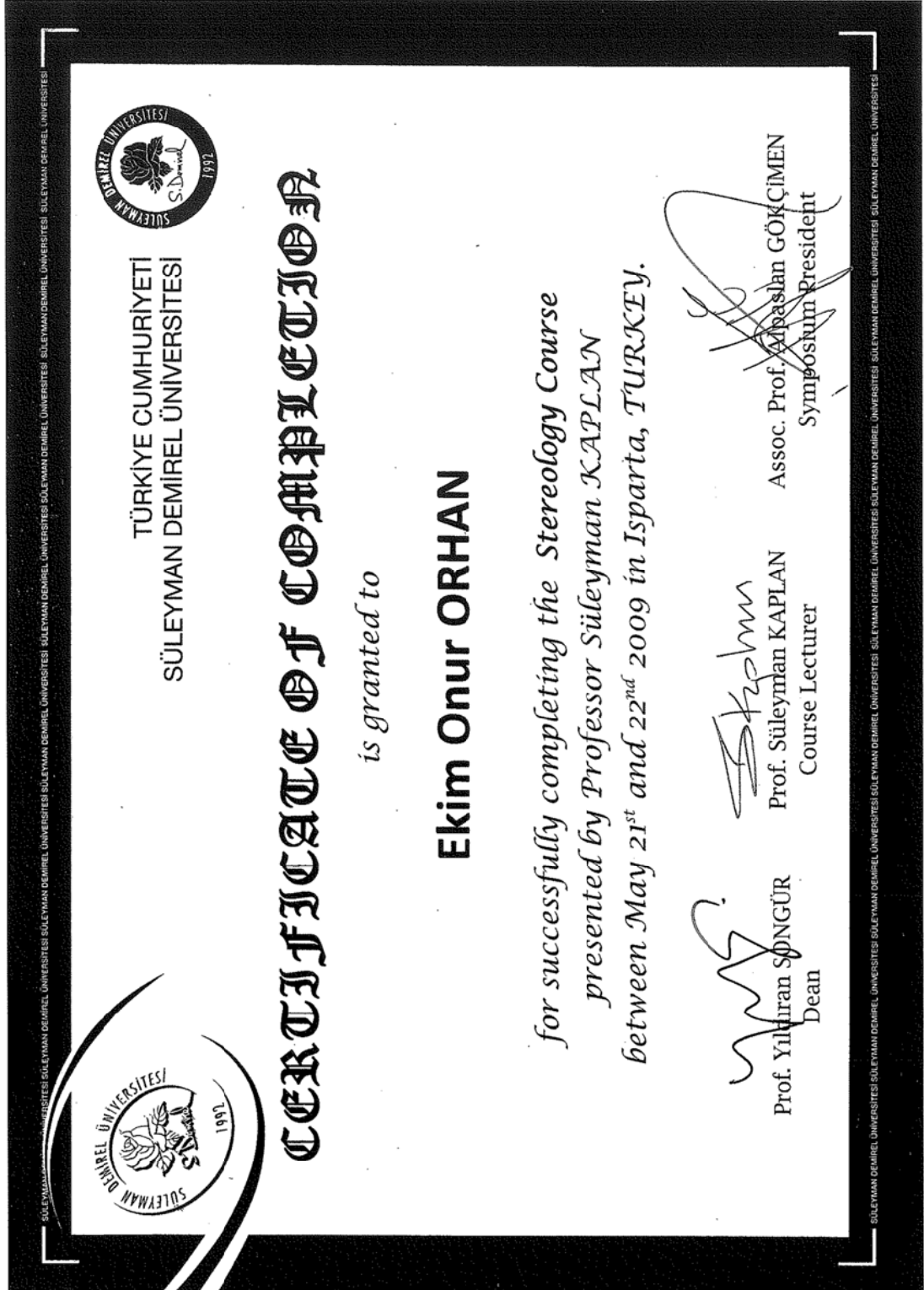
Anatomy, histology, physiology and biochemistry of laboratory animals (Theory, 3 hours)
Legislations (Theory, 2 hours)
Ethic of laboratory animals (Theory, 2 hours)
Alternative methods (Theory, 4 hours)
Handling Techniques (Theory, 3 hours)
Drug administration and injection techniques (Theory, 3 hours)
Bloodletting and sampling techniques (Theory, 3 hours)
Anaesthesia-euthanasia techniques (Theory, 3 hours)
Management of laboratory (Theory, 1 hour)
Basic laboratory hygiene safety procedures (Theory, 6 hours)
Welfare and behaviour of laboratory animals (Theory, 3 hours)
Production of laboratory animals (Theory, 2 hours)
Nutrition of laboratory animals (Theory, 1 hour)
Disease of laboratory animals (Theory, 2 hours)
Health and safety conditions of labourers (Theory, 2 hours)
Training in laboratory (Practice, 40 hours)

The participant has been given a written examination,
and all essential requirements have been achieved.


Prof. Dr. Metin Lütfi BAYDAR
Rector of the Süleyman Demirel University


Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR
Dean of the Medical School,
Chairman of the Animal Ethics Committee

Ek 3: Stereoloji Uygulama Sertifikası



ÖZGEÇMİŞ

1 Ekim 1983 Ankara'da doğdum, ilk öğrenimimi 1989-1995 yılları arasında Özel Yükseliş Koleji İlkokulu'nda, orta öğrenimimi 1995-1998 yılları arasında Özel Yükseliş Koleji Ortaokulu'nda, lise öğrenimimi ise 1998-2000 yılları arasında Bahçelievler Deneme Lisesi, Ankara'da tamamladım. 2000 yılında Hacettepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesinde lisans öğrenimime başladım. 2005 yılında mezun oldum. 2006 bahar döneminde Isparta'da Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Endodonti Anabilim Dalı Doktora Programına başladım. 2007 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne araştırma görevlisi olarak atandım. 2008 yılında Finlandiya'nın Oulu şehrindeki Oulu üniversitesinde Erasmus değişim programına katıldım. 2008 de Sağlık Bilimleri Enstitüsü araştırma görevlisi temsilcisi seçildim. 2010 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş hekimliği Fakültesi'ne atandım, İngilizce ileri düzey olmak üzere Almanca ve Fince bilmekteyim.