

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SAĞLIKLI VE ENFLAME DENTAL PULPADA ADAMTS
DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dt. Halise Filiz GÖLBAŞI

**ENDODONTİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ali ERDEMİR**

2020-KIRIKKALE

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SAĞLIKLI VE ENFLAME DENTAL PULPADA ADAMTS
DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dt. Halise Filiz GÖLBAŞI

**ENDODONTİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ali ERDEMİR**

**Bu tez TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı ile desteklenmiştir.
Proje No: 118S841**

2020-KIRIKKALE

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Endodonti Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/02/2020

İmza
Prof. Dr. Hatice DOĞAN BUZOĞLU
Hacettepe Üniversitesi,
Diş Hekimliği Fakültesi
Jüri Başkanı

İmza
Prof. Dr. Zeliha YILMAZ
Hacettepe Üniversitesi,
Diş Hekimliği Fakültesi
Üye

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

İmza
Prof Dr. H. Ebru OLGUN
Kırıkkale Üniversitesi,
Diş Hekimliği Fakültesi
Üye

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

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER	VIII
TABLolar	IX
ÖZET	X
SUMMARY	XII
1. GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
1.1 Dental Pulpa	4
1.1.1 Dental Pulpanın Biyokimyasal Özellikleri	4
1.2 Dental Pulpanın Enflamasyonu.....	7
1.2.1 Dental Pulpa Hastalıklarının Etiyolojisi.....	8
1.2.2 Dental Pulpa Hastalıklarının Histopatolojisi.....	9
1.2.3 Dental Pulpa Hastalıklarının Sınıflandırılması	11
1.2.3.1 Geri Dönüşümlü Pulpitis.....	11
1.2.3.2 Geri Dönüşümsüz Pulpitis	12
1.2.3.3 Pulpa Nekrozu	12
1.3 Pulpa Enflamasyonunda Görülen Enflamatuar Medyatörler	13
1.3.1 Nöropeptitler	13
1.3.2 Sitokinler	14
1.3.3 Enzimler	15
1.3.3.1 Matriks Metalloproteinazlar	15
1.3.3.1.1 ADAMTS Ailesinin Keşfi ve Sınıflandırılması	19
1.3.3.1.2 ADAMTS'lerin Moleküler Yapısı	22
1.3.3.1.3 ADAMTS Ailesinin Görevleri	24
1.3.3.1.4 Enflamasyonda ve Diğer Klinik Çalışmalarda ADAMTS'ler	26
2. GEREÇ ve YÖNTEM	30
2.1 Etik Kurul Onayı	30
2.2 Hasta Seçimi.....	30

2.3 Pulpa Doku Örneklerinin Alınması.....	31
2.4 ELİSA Testi	33
2.5 İstatistiksel Analiz.....	41
3. BULGULAR	42
3.1 Klinik Bulgular	42
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
5. KAYNAKLAR	58
6. EKLER	66
7. ÖZGEÇMİŞ	76



ÖNSÖZ

Doktora eğitimimin ilk gününden itibaren beni sabırla ve özveriyle destekleyen, bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, her daim gösterdiği sonsuz emek için müteşekkir olacağım değerli danışman hocam, anabilim dalı başkanımız ve dekanımız Sn. Prof. Dr. Ali ERDEMİR'e,

Çalışmamızın laboratuvar aşamalarında bize sunduğu pratik ve teorik destek için Sn. Prof. Dr. Üçler KISA'ya,

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

Tez izleme komitesindeki saygıdeğer hocalarım Sn. Prof. Dr. Hatice Ebru OLGUN, Sn. Dr. Öğr. Üyesi Ali TÜRKYILMAZ ve Sn. Dr. Öğr. Üyesi Ezgi DOĞANAY YILDIZ'a,

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

Hayatım boyunca her konuda sonsuz sevgi ve destekleriyle yanımda olan herşeyden çok sevdiğim canım annem Meryem KABAKÇI, babam Şahin KABAKÇI, ablalarım Dilek BURAN, Ayşe ÖZDEMİR ve kardeşim Hanife KABAKÇI'ya,

Yaşadığım her zorlukta destek ve anlayışla yanımda olan, hayatıma mutluluk katan sevgili eşim Ömer GÖLBAŞI'na,

Saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADAM:	A disintegrin and metalloproteinase
ADAMTS1:	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs1
ADAMTS4:	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs4
ADAMTS9:	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs9
ADAMTSL:	ADAMTS benzeri
CGRP:	Kalsitonin gen kaynaklı protein
DOS:	Dişeti oluğu sıvısı
ECM:	Ekstrasellüler matriks
ELİSA:	Enzime bağlı immunosorban yöntem
GAG:	Glikozaminoglikan
HIF-1α:	Hipoksi indüklenen faktör-1 alfa
IL:	İnterlökin
IL-1:	İnterlökin-1
MDC:	Metalloproteaz/disintegrin/sistein
MMP1:	Matriks metalloproteinaz-1
MMP3:	Matriks metalloproteinaz-3
MMP8:	Matriks metalloproteinaz-8
MMP9:	Matriks metalloproteinaz-9
MMP13:	Matriks metalloproteinaz-13
ml:	Mililitre
μL:	Mikrolitre
ng:	Nanogram
nm:	Nanometre
NKA:	Nörokinin A
PBS:	Fosfat tamponlu salin
PMNL:	Polimorfonükleer lökosit

SP:	Substance P
TIMP1:	Metalloproteinaz doku inhibitörü-1
TIMP2:	Metalloproteinaz doku inhibitörü-2
TIMP3:	Metalloproteinaz doku inhibitörü-3
TME:	Temporamandibuler eklem
TNF:	Tümör nekroz faktör
TNF-α:	Tümör nekroz faktör-alfa
TSP:	Trombospondin
TSP1:	Trombospondin 1
VEGF-A:	Vasküler endotelyal faktör-a
°C:	Santigrad derece

ŞEKİLLER

Şekil 1.1 ADAMTS, MMP ve ADAM temel domain yapıları arasındaki farklılıklar	23
Şekil 1.2 ADAMTS proteinazlarının görevlerine göre sınıflandırılması.....	24
Şekil 2.1 Endomotor ve apeks bulucu.....	32
Şekil 2.2 Kök kanal tedavisinde kullanılan materyaller.....	33
Şekil 2.3 Eppendorf tüplerinde saklanan pulpa doku örnekleri.....	34
Şekil 2.4 Doku örneklerinin muhafaza edildiği -80 °C soğutucu.....	35
Şekil 2.5 Çalışmada kullanılan vorteks cihazı.....	35
Şekil 2.6 Sonics Vibra-cell ultrasonik homojenizatör.....	36
Şekil 2.7 Homojenize edilen örnekler.....	36
Şekil 2.8 Çalışmada kullanılan Hettich Micro 22R santrifüj cihazı.....	37
Şekil 2.9 Çalışmada kullanılan ELİSA kiti.....	37
Şekil 2.10 İnkübe edilen örnekler.....	38
Şekil 2.11 ELİSA BioTek EL×50 otomatik yıkayıcısı.....	39
Şekil 2.12 ELİSA kitlerine stop solüsyonu eklendikten sonraki renk değişimi.....	39
Şekil 2.13 BioTek Uquant MQ×200 ELİSA okuyucusu.....	40
Şekil 2.14 Protein ölçümü yapılan örnekler.....	40
Şekil 3.1 Örneklerdeki ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 ve TIMP3 miktarlarının gruplara göre dağılımı	45

TABLULAR

Tablo 1.1 Pulpadaki spesifik protein türlerinin görevleri.....	5
Tablo 1.2 Dentin ve pulpada bulunan ECM komponentleri (proteoglikanlar) ve hücreler.....	6
Tablo 1.3 MMP'ların alt grupları.....	16
Tablo 1.4 ADAMTS üyelerinin bilinen substratları.....	21
Tablo 3.1 Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyet, yaş, diş numarası ile ilgili verileri.....	43
Tablo 3.2 Tüm örneklerde medyatör miktarlarındaki değişim.....	44
Tablo 3.3 Cinsiyete göre tüm örneklerde medyatör miktarındaki değişim.....	45
Tablo 3.4 Yaş aralıklarına göre tüm örneklerde medyatör miktarındaki değişim.....	46
Tablo 3.5 Sağlıklı grup içerisinde cinsiyete göre medyatör değişimleri.....	46
Tablo 3.6 Sağlıklı grup içerisinde yaş aralıklarına göre medyatör değişimleri.....	47
Tablo 3.7 Enflame grup içerisinde cinsiyete göre medyatör değişimleri.....	47
Tablo 3.8 Enflame grup içerisinde yaş aralıklarına göre medyatör değişimleri.....	48

ÖZET

Sağlıklı ve Enflame Dental Pulpada ADAMTS Düzeylerinin Karşılaştırılması

Pulpada bulunan farklı medyatör miktarlarının değişimlerini tespit etmek, histolojik inceleme yapılmadan pulpa hastalıklarında diagnostik bir biyomarker geliştirilebilmesi adına önemli görülmektedir. Bundan dolayı bu çalışmanın amacı; sağlıklı ve enflame dental pulpanın ECM'inde bulunan proteoglikanları parçalayan farklı ADAMTS'lerin (-1,-4,ve -9) ve ADAMTS'leri inhibe eden TIMP düzeylerini karşılaştırmaktır.

İnsana ait sağlıklı ve enflame pulpa doku örnekleri kök kanal tedavisi endikasyonu konulan gönüllü hastalardan elde edildi (48 adet). Sağlıklı pulpa doku örnekleri profilaktik amaçla çekim endikasyonu olan üçüncü molar dişler, herhangi bir patolojiye sahip olmayan ortodontik amaçla çekilecek dişler ve protetik amaçla kök kanal tedavisi yapılacak klinik ve radyografik olarak sağlıklı tanımına uyan dişlerden, enflame pulpa doku örnekleri ise özellikle geri dönüşümsüz pulpitis semptomları gösteren dişlerden toplandı. Tüm tedavi ve dental pulpa doku örnekleri toplama protokolleri rubber-dam izolasyonu ve lokal anestezi altında yapıldı. Dişlerde varsa çürük ya da restorasyon frez kullanılarak uzaklaştırıldı. Pulpa odası tavanı dikkatli bir şekilde kaldırıldıktan sonra açılan pulpa, odasından steril bir ekskavator ve tirnerf kullanılarak çıkarıldı. Sağlıklı ve enflame pulpa doku örnekleri eppendorf tüplerinde -80 °C de (Nüve DF 490, Ankara Türkiye) ileriki kullanım aşamasına kadar muhafaza edildi.

Eppendorf tüplerindeki örnekler homojenizasyon işleminden sonra mikrosantrifujde (Hettich Micro 22R, Tuttlingen, Germany) santrifüj edildi. Elde edilen pulpa supernatantlarında protein miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü. ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 ve inhibitör olarak da TIMP3 düzeyleri ELİSA kitleri (USCN, Wuham, China) kullanılarak ölçüldü. Parametrik veriler için bağımsız örneklem t testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA), non-parametrik veriler için Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı.

Sağlıklı ve enflame pulpa doku örneklerinin ADAMTS1, ADAMTS9 ve TIMP3 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p<0.05$), ADAMTS4 düzeyi için ise anlamlı bir fark olmadığı ($p>0.05$) belirlendi. Sağlıklı pulpa doku örneklerine kıyasla enflame pulpa doku örneklerinde ADAMTS1 ve -9 düzeylerinin arttığı, TIMP3 düzeyinin azaldığı bulunmuştur ($p<0.05$). Tüm örnekler değerlendirildiğinde cinsiyet ve yaş aralıklarına göre ADAMTS1, -4, -9 ve TIMP3 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). Enflame grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde cinsiyete göre ADAMTS9 düzeyi kadınlarda erkeklere kıyasla anlamlı bir şekilde yüksek bulunurken ($p<0.05$), enflame ve sağlıklı gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde ise cinsiyet ve yaş aralıklarına göre diğer medyatörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0.05$).

Sonuç olarak, ADAMTS1, ADAMTS9 ve TIMP3'un pulpal enflamasyonda rol oynayabileceği düşünölmektedir.

Anahtar Sözcükler: ADAMTS, Dental Pulpa, ECM, MMP, Proteoglikan

SUMMARY

The Comparison of ADAMTS Levels in Healthy and Inflamed Dental Pulp

It is important to identify the changes in the different mediators in the pulp to develop a diagnostic biomarker in pulp diseases without histological examination. Therefore, the aim of this study; to compare different ADAMTS (-1,-4, and -9) that break down the proteoglycans present in the ECM of a healthy and inflamed dental pulp and TIMP levels that inhibit ADAMTS.

Healthy and inflamed human dental pulps' tissue samples were collected during endodontic treatments or after teeth extraction from volunteer patients (48 pieces). Healthy pulp tissue samples were collected from third molar teeth that indicated extraction for prophylactic purposes, teeth to be extracted for orthodontic purposes without any pathology and clinically and radiographically healthy teeth that have indicated root canal treatment for prosthodontic purposes, inflamed pulp tissue samples especially from the teeth showing irreversible pulpitis symptoms. All treatment and dental pulp samples collection protocols were performed under rubber dam isolation and local anesthesia. If the teeth have caries or restoration, they were removed by using drills. After the pulp chamber was carefully unroofed, the whole pulp tissue was excised with a spoon excavator and turnerfs. Healthy and inflamed pulps were directly transferred to eppendorf tubes and stored at -80 °C (Nüve DF 490, Ankara Türkiye) until further use.

Pulp tissue samples were homogenized in saline soutuion in eppendorf tubes and then centrifuged in a microcentrifuge (Hettich Micro 22R, Tuttlingen, Germany). Protein concentrations in pulp supernatants were determined spectrophotometrically. Levels of ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 and for the inhibitor TIMP3 were measured in supernatants of human dental pulp tissue extracts using ELISA kits (USCN, Wuham, China). Independent sample t test and one-way analysis of variance (ANOVA) were used for parametric data, Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests were used for non-parametric data.

There was a statistically significant difference between ADAMTS1, ADAMTS9 and TIMP3 levels of healthy and inflamed pulp tissue samples

($p < 0.05$), but there was no significant difference for ADAMTS4 levels ($p > 0.05$). It was found that ADAMTS1 and 9 levels were higher in the inflamed group compared to the healthy group, while TIMP3 level decreased ($p < 0.05$). When all samples were evaluated, it was found that there was no statistically significant difference between ADAMTS1, -4, -9 and TIMP3 levels according to gender and age ranges ($p > 0.05$). When the inflamed group was evaluated within itself, ADAMTS9 level was found to be significantly higher in women compared to men ($p < 0.05$), whereas when the inflamed and healthy groups were evaluated within themselves, there was no statistically significant difference between other mediators according to gender and age ranges ($p > 0.05$).

Keywords: ADAMTS, Dental Pulp, ECM, MMP, Proteoglycan

1. GİRİŞ

Dental pulpa, kan damarları, sinir lifleri, farklılaşmış ve farklılaşmamış mezenşimal hücreler ve ekstraselüler matriksten (ECM) oluşmuş bir bağ dokusudur (Orsini ve ark. 2011). Dentinle kapalı halde bulunan dental pulpa ‘dentin-pulpa kompleksi’ şeklinde ifade edilen fonksiyonel bir bütünü oluştururlar. Mekanik, termal, osmotik stresler gibi dış kaynaklı zararlı uyaranlar ya da çürükten kaynaklanan bakteriyel enfeksiyonlar dentin tübüleri vasıtasıyla pulpaya ulaşmaktadır (Muromachi ve ark. 2015).

Mikrobiyal, fiziksel, kimyasal ya da iatrojenik faktörlerle etkilenen dental pulpada farklı safhalarda enflamatuar değişimler oluşmaktadır. Dental pulpa dokusunun enflamasyonuna pulpitis denilmektedir. Pulpitis geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olmak üzere iki safhadan oluşur. Çürük lezyonuna yakın bulunan dental pulpanın bir kısmının enfeksiyonu geri dönüşümlü pulpal enflamasyon sürecini anlatırken, geniş bölümünün enfeksiyonu geri dönüşümsüz pulpal enflamasyon sürecini ifade etmektedir (Mente ve ark. 2016). Günümüzde geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz pulpitis vakaları sadece hastanın ağrı hikayesi, klinik semptomlar ve ekspoz pulpanın kanama süresi gibi klinik parametrelere dayalı olarak ayırt edilmeye çalışılmaktadır. Pulpal dokunun histolojik olarak incelenmesi pulpal enflamasyon basamağının kesin olarak belirlenmesine izin verecektir. Ancak bu histopatolojik inceleme diş çekilmeden mümkün olamamaktadır (Mejare ve ark. 2012). Diş hekimleri pulpa hastalıklarının tedavisinde sıklıkla ideal tedavi yöntemine karar verme problemi yaşamaktadırlar. Geri dönüşümlü pulpitis vakalarında biyoyumlu materyaller kullanılarak vital pulpa tedavileri uygulanmakta, böylece dişin sağlığı ve canlılığı korunmaktadır. Geri dönüşümsüz safhada ise dişin canlılığının korunamadığı kök kanal tedavileri endikedir (Yu ve Abbott 2007, Mass ve Zilberman 2011). Diş çekilmeden histopatolojik olarak hastalığın safhasının belirlenebilmesi için diagnostik bir biomarker geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Pulpa enflamasyonunda diğerk enflamatuar hastalıklarda da olduğu gibi ECM'in yıkımı söz konusudur. ECM, hücreleri bir arada tutan, çok sayıda protein, hormon, proteoglikan ve büyüme faktörleri içeren, birçok biyolojik olayda işlev gören, hücrelerin arasında bulunarak boşlukları dolduran dinamik bir yapıdır (Uslu ve Eltaş 2015). Çoğunluğu matriks metalloproteinaz (MMP) aile üyesi olmak üzere ECM'in birçok proteolitik enzimi vardır (Stamenkovic 2003). ECM'in proteolitik yıkımında proteaz işlevi bulunan çok sayıda molekül görev almaktadır. Bu moleküller, domain yapılarına göre değişik protein aileleri olarak bilinmektedirler. Proteazlar; sistein, aspartik asid, serin, treonin proteazlar ve metalloproteazlar olmak üzere 5 sınıf ve 63 alt grup altında sınıflandırılmıştır (Hynes ve Naba 2012). Fizyolojik ve patolojik süreçlerin her ikisinde de rol alan MMP, son dönemde tüm ECM enzimleri arasında dikkat çekmeye başlamıştır. Çinko ve kalsiyum bağılı olarak çalışan MMP, kollajen ve bütün bağ dokusu yapısında bulunan ve uygun şartlarda tüm ECM bileşenlerini parçalayabilen proteolitik enzim grubudur. Güncel olarak bilinen 28 MMP aile üyesi vardır, fakat insanda 6 alt gruba ayrılmış şekilde, 23 çeşit MMP bulunmaktadır (Mazzoni ve ark. 2015). MMP'lar doğal olarak iki tip protein tarafından inhibe edilirler. Bunlar MMP doku inhibitörü (TIMP- tissue inhibitor of metalloproteinases) ve alfa2 makroglobin'dir (Nagase ve Woessner 1999).

Sağlıklı ve enflame dental pulpada çeşitli MMP düzeyleri araştırılmıştır. MMP ailesinin üyesi olan ADAMTS'ler (A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs) ile ilgili ECM'in çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerinde rol aldığını gösteren çalışmalar yapılmıştır (Kuno ve ark. 1997, Apte 2009). ADAMTS'lerin çoklu modüler yapıları onları direkt ya da dolaylı multifonksiyonel kılmaktadır. ADAMTS enzimlerinin birçok dokuda bulunmaları ile birlikte embriyonik dönemde de sentezlendikleri rapor edilmiştir (Jungers ve ark. 2005). Bu enzimler; remodeling, pıhtılaşma, anjiyogenez ve ovulasyon gibi fizyolojik süreçlerde ve ECM'in parçalanması, tümör hücre invazyonu ve metastaz gibi patolojik olaylarda görev almaktadır (Tortorella ve ark. 2009). ADAMTS proteazlara hem domain yapıları hem de ECM'te bulunmaları nedeniyle her geçen gün ilgi artmaktadır. Artritten kansere, enflamasyondan infertiliteye kadar geniş bir yelpazede karşımıza çıkan ADAMTS'ler, tıropatik çalışmalarda araştırmacıların

dikkatini çeken aday genlerdir (Demircan ve ark. 2013). ADAMTS'lerin MMP'lerden farklı bölgelerden peptit bağlarını koparttıkları bilinmektedir. Ancak pulpa hastalıklarında etkin olup olmadıklarına dair herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Son yıllarda, proteomik alanda yapılan araştırmalar hastalıkların tanı ve prognozunun belirlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Proteomik çağda bu proteazların yer aldığı patofizyolojik süreçlerin daha detaylı şekilde açığa çıkmasına ihtiyaç duyulmaktadır. ADAMTS genleri ilk defa farelerde kolon kanserinde enflamasyonla ilişkili gen olarak Kuno ve ark. (1997) tarafından klonlandıktan sonra günümüze kadar enflamasyonla ilişkisini araştıran bir takım çalışmalar yapılmıştır.

Pulpa dokusuna ait enzimlerin ayrıntılı bilgilerinin ortaya çıkması ile hastalıkta ve tıropatik alanda etkilerinin anlaşılması teşhis ve tedavi protokolü için kullanılmasını sağlayacaktır.

Bu çalışmanın amacı; sağlıklı ve enflame dental pulpanın ECM'inde bulunan proteoglikanları parçalayan farklı ADAMTS (-1,-4,ve -9) ve ADAMTS'leri inhibe eden TIMP düzeyleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığını ortaya koymaktır.

GENEL BİLGİLER

1.1 Dental Pulpa

Dental pulpa; mikroorganizmaların bulunduğu oral ortamdan koruyan dentin, mine ve sementle çevrili, güçlü mekanik destek sağlayan sert bir yapının içerisinde bulunur. Bu sert yapı bütünlüğünü kaybettiğinde dental pulpa olumsuz uyarıların etkisi altında kalır.

Dental pulpa, nöral krest hücrelerinden (ektomezenşim) kaynaklıdır. Bu hücrelerin çoğalması ve yoğunlaşması ile dental papilla oluşur. Pulpa, çevresinde bulunan özelleşmiş bir hücre tabakası olan odontoblastlar ile embriyonik bağ dokusuna güçlü bir benzerlik gösterir (Trowbridge ve Kim 1994). Fiziki durumu, yüksek duyuşal sinir inervasyon insidansı ve zengin mikro dolaşım sistemi komponentleri, dental pulpayı eşsiz bir doku haline getirir (Yu ve Abbott 2007).

1.1.1 Dental Pulpanın Biyokimyasal Özellikleri

Dental pulpa, kollajen bir ECM içerisinde saklı hücreler içeren gevşek bir bağ dokusudur. %75 su ve %25 organik matriksten oluşur. Pulpanın başlıca kollajen fibrili, pulpada düzensiz bir halde çeşitli boyutlarda bulunan tip I kollajendir. Çok miktarda tip III kollajen de bulunmaktadır. Kollajen olmayan protein içeriği proteoglikanların varlığı ile karakterizedir. Bu proteoglikanlar decorin, biglycan, versikan, syndecan, tenascin, fibronektin ve glikozaminoglikanların (GAG) dört çeşidi olan kondroitin sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat ve hyaluronandır. Bu spesifik protein türleri pulpada hücre bağlanmasını kolaylaştırmaktan büyüme faktörlerinin sabitlenmesine kadar uzanan bir takım süreçlerde rol oynamaktadırlar (Sloan 2015) (Tablo 1.1).

Tablo 1.1 Pulpadaki spesifik protein türlerinin görevleri (Sloan 2015).

Pulpanın Proteoglikan Türleri	Türlerin Fonksiyonları
Decorin	Tip I kollajen ve TGF- β bağlanma
Biglycan	Kollajen fibrinogeneziste düzenleme
Versican	Geniş hidrate proteoglikan türlerinin aggregasyonunu kolaylaştırma
Syndecan	Hücre yüzeyini fibröz proteinlere bağlayarak/matriks bağlanması; FGF bağlanması
Tenascin	Hücre adezyonunun inhibiyonu/tetiklemesi; hücre migrasyonunun etkilenmesi
Fibronectin	İntegrin tanıma yoluyla matrikse hücre adezyonu

Pulpa, içerisinde bulunan hücrelerin faaliyetlerini kontrol etmede önemli bir rolü bulunan dinamik bir matrikse sahiptir. Tip I ve III kollajen sistemleri ile ilgili proteoglikanlar ve glikoproteinler pulpa yapısını stabilize eden bir iskelet meydana getirirler. Bununla birlikte organik moleküller, hücre migrasyonunu, adezyonunu, farklılaşmasını ve fonksiyonunu etkilemesine izin verirler. Pulpada büyük miktarlarda kondroitin sülfat ve daha az miktarda da dermatan sülfat bulunmaktadır. GAG hidrofildir ve boşluğun çoğunu dolduran jellerden oluşur. Hidrate olduklarında şişerler ve bu durum pulpadaki yüksek sıvı basıncını açıklayabilir, ancak mekanik desteğe de katkıda bulunur. Hyaluronan'un proteine bağlı olmadığı ve matriks yoluyla hücre geçişini kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Matriksin kütesine ve stabilitesine katkıda bulunmalarına rağmen, hücre davranışını etkilemek için adezyon molekülleri olarak hareket ederler, büyüme faktörlerine koruma sağlarlar ve biyolojik olarak etkinliğini de artırır (Sloan 2015). Dentin ve pulpa dokusunun ECM komponentleri Goldberg ve ark. (2004)'nın belirttiği şekilde Tablo 1.2'de verilmiştir. Proteoglikanlardan decorin, biglycan ve versican ile ilgili olan ADAMTS üyelerinin sağlıklı ve enflametal pulpadaki düzeyleri, pulpitisin teşhis ve tedavi planlamasında marker olarak geliştirilebilir. Versican da pulpa, dentin, sement ve periodontal ligament gibi çeşitli bağ dokularında bulunan bir proteoglikandır (Sone ve ark. 2005).

Tablo 1.2 Dentin ve pulpada bulunan ECM komponentleri (proteoglikanlar) ve hücreler (Goldberg ve Smith 2004).

	Dentin	Pulpa
Hücreler	Odontoblastlar	Fibroblastlar, vasküler hücreler, perisitler, nöral hücreler, histiyositler/makrofajlar, dendritik hücreler, lenfositler, mast hücreleri.
Kollajenler	Tip I (%98) Tip III(%1-2) ve Tip V(%1) (Dentin ECM in %90 ı)	Tip I (%56) Tip III(%41) ve Tip V(%2) TipVI (%0.5) mikrofibril ile ilintili
Kollajen olmayan proteinler	(Dentin ECM in %10 u) Proteoglikanlar CS/DS PG ler: decorin-biglycan (CS-4 %81, CS-%6 14, CS/DS %2) CS-4 ve -6, %60; DS, %34; KS,%2KS PG lar : lumican, fibromodulin, Osteoadherin Amelogenin 5-7 kDa Büyüme Faktörleri: TGF- β , ILGF-I ve -II, FGF-2, VEGF, PDGF Metalloproteinazlar: kollajenaz (MMP-1), jelatinazlar (MMP-2 ve -9), stromelysin-1 (MMP-3), enamelysin (MMP-20), MT1-MMP, TIMP-1 den -3 e	Versikan CS-4 ve -6, %60; DS, %34; KS, %2 Hyaluronik asid BMP' ler TGF- β için Tip IA and II reseptörler, activin ve BMP'ler MMP'lar: kollajenazlar, jelatinazlar, stromelysin-1 TIMP'ler

1.2 Dental Pulpanın Enflamasyonu

Dental pulpa, fonksiyonlarını tehlikeye sokan ve sağlığına zarar veren bazı iritanlara maruz kalmaktadır. Diş dokularının mikroorganizmalar, kimyasal ve fiziksel iritasyon ve iatrojenik etkenlerle etkilenmesi durumunda pulpada iltihabi değişimler oluşmaktadır. İritanlar; kısa süreli, uzun süreli ve travma nedeniyle olabilmektedir. İritan çeşitlerinin ya da yaralanmaların pulpa üzerinde farklı etkileri olacaktır. Genel olarak etkiler, akut enflamasyon, kronik enflamasyon veya nekroz şeklinindedir. Kısa süreli iritan maddeler genellikle akut enflamasyona neden olurken, bunu takiben iritasyonun devam etmemesi veya artık oluşmaması ile enflamasyon çözümlenmesi ve dokuların onarımı gözlemlenir. Eğer iritan uzun süre devam ederse enflamasyon kronikleşir (Yu ve Abbott 2007, Aşçı 2014). Çürükler, çatlaklar, kırıklar ve uyumu bozulmuş restorasyon marjinleri mikroorganizmaların ve toksinlerinin pulpaya girmesine yol açar. İritasyonlara karşı pulpanın cevabı enflamasyon şeklinindedir ve eğer tedavi edilmezse pulpa nekrozu ile sonuçlanır. Enflamasyon çevre alveoler kemiğe yayılabilir ve periapikal patolojiye neden olabilir. Pulpa kaynaklı problemlerin önemi hafife alınmamalıdır (Yu ve Abbott 2007). Pulpa hastalığının en ciddi sonucu, hayatı tehdit edici olabilen oral sepsistir (LeJeune ve Amedee 1994, Walsh 1997). Eğer enfeksiyon maksiller dişlerden yayılırsa pürülene sinüzit, menenjit, beyin apsesi, orbital selülit ve kavernoöz sinüs trombozuna neden olurken, mandibular dişler Ludwig anjina, parafarengeal apse, mediastinit, perikardit, amfizem ve tromboflebit'e neden olabilir. Bununla birlikte, kaybedilen diş sayısı bozulmuş dentisyona, yetersiz beslenmeye ve bazı emosyonel sorunlara yol açar (Yu ve Abbott 2007).

1.2.1 Dental Pulpa Hastalıklarının Etyolojisi

Normal pulpa, pulpanın semptomsuz olduğu ve pulpa testine normal cevap verdiği klinik bir tanıdır. Dişin yaşına bağlı olarak pulpada fibrozis ve kalsifikasyonlar görülebilir. Birkaç saniyeden fazla sürmeyecek şekilde soğuk veya elektrik testine cevap verebilir. Radyografik olarak lamina dura ve periodontal aralığın genişliği normaldir. Kanal kalsifikasyonu ya da rezorbsiyon gözlenmez. Perküsyon, palpasyon ve ısırma testlerine cevap vermez (Messing ve Stock 1988, Aşçı 2014).

Dental pulpada meydana gelen enflamasyona sebep olabilecek etyolojik faktörler mikrobiyal, fiziksel ve kimyasal etkilerle olabilir (Çalışkan 2006, Alaçam 2011a).

Mikrobiyolojik Etkenler: Dental pulpaya, mikrobiyolojik etkenlerin oluşturdukları veya ürettikleri asitler, toksinler, fermentler gibi ajanların ulaşmasıyla veya dentin tübülleri vasıtasıyla dental pulpanın etkilenmesi sonucu pulpa enflamasyonu oluşabilmektedir (Çalışkan 2006).

Bakteriyel etkenlerin en önemli kaynağı diş çürüğüdür. Bakteriler dişteki kırık, çatlak, erozyon ya da dens in dente, dens invaginatus gibi anomaliler yoluyla pulpa dokusunu etkileyebilirler. Diş preperasyonu, derin kavitasyon işlemleri, sabit protezlerin simantasyonu esnasında uygulanan basınç ile bakteriler dental pulpaya doğru itilebilir. Dental pulpanın mikrobiyolojik olarak etkilenmesi için mikroorganizmaların yeterli sayı veya virulansa ulaşması gerekmektedir. Pulpa dokusunun direnci düştüğünde ve mikroorganizmaların sayı ve virulansı yükseldiğinde hiperemi oluşabilir. Pulpa zaten hiperemik durumdaysa daha şiddetli enflamasyon gelişebilir (Çalışkan 2006, Alaçam 2011a).

Fiziksel Etkenler: Bu etkenlerin büyük kısmı iatrojeniktir, yani çoğu zaman diş hekimi tarafından oluşturulur. Pulpanın cevabı fiziksel etkenlerin şiddet ve süresine göre değişir. Kavite açılması veya diş preperasyonu sırasında pulpa mekanik ve ısıl olarak zarar görebilir. Aynı zamanda kullanılan kaide ya da dolgu materyalleri de pulpanın ısıl iritasyonuna neden olabilirler. Travma sonucu dişlerde görülen lüksasyon, avülsiyon gibi yer değiştirmeler apikal kan damarlarının sekteye uğramasına neden olacaktır. Açık apeksli dişlerde bu apikal kan damarları yeniden

tamir olamadığı durumlarda pulpanın revaskülarizasyonu gerçekleşemez (Çalışkan 2006, Yu ve Abbott 2007).

Kimyasal Etkenler: Dental pulpaya kimyasal etkenlerin ulaşabileceği iki yol bulunur. Bunlardan birincisi çeşitli amaçlarla diş hekiminin dentin üzerine yerleştirdiği kimyasal maddeler, ikincisi ise pulpaya kan damarları aracılığıyla ulaşan kimyasal ajanlardır. Daimi ve geçici dolgu materyalleri, dentini temizlemek, sterilize etmek veya hassasiyet gidermek için kullanılan materyallerde bulunan ajanlar pulpada iltihabi değişikliklere yol açabilir. İkinci yol ise kurşun, arsenik, civa gibi vücuda dışarıdan alınan kimyasallar ya da diyabet, gut, nefrit gibi hastalıklar sonucu oluşan toksik metabolitlerin kan yoluyla pulpada hasar oluşturmasıdır (Çalışkan 2006).

1.2.2 Dental Pulpa Hastalıklarının Histopatolojisi

Pulpanın iltihabı ECM’te meydana gelen dejenerasyon ve yıkım değişimleridir. İltihapta iki asıl değişim mevcuttur. Kan damarlarının çeperlerindeki geçirgenliğin artışı ve ECM’te yapısal ve metabolik değişimlerdir. Bu değişimler, fazlarına göre, latent, hiperemik, seröz, pürülan ve tamir fazları şeklinde incelense de fazların kesin sınırlarla birbirinden ayrılması mümkün değildir (Çalışkan 2006).

Latent faz: Patojen uyarıların konak dokuya ulaşması ve ilk hastalık belirtilerinin ortaya çıkmasına kadar geçen süre olarak tanımlanır. Bu fazda dokunun hücrelerinde, hücreler arası maddede ve kan dolaşımında biyokimyasal değişiklikler gözlenmektedir. Vazoaktif medyatörler ortaya çıkmaktadır (Torabinejad ve ark. 2014).

Patojen uyarıların doğrudan etkilediği hücreler genellikle, bağ dokusu hücreleri, kan hücreleri ya da kan damarları endotelleridir. Bu hücrelerin bozulmasıyla vazoaktif medyatörler ortaya çıkar. Histamin, kinin gibi kan damarlarının dilate olmasına ve geçirgenliklerinin artmasına neden olan vazoaktif medyatörler ile prostoglandin grubundan medyatörlerin ortamda var olduğu gösterilmiştir (Çalışkan 2006).

Hiperemik faz: Damarlar üzerinde vazoaktif medyatörlerin dilatasyon etkisi ile ilk gözlenebilir olay meydana gelir. Ortamda kan akışının artmasına bağlı olarak sıcaklık, ağrı ve kızarıklık artar. Daha sonra genişleyen kan damarlarında kan akışı

azalır ve tamamen durabilir. Bu duruma staz denilmektedir. Stazda oksijen azlığı ya da yokluğu görülür. Bu faza kadar ortaya çıkan bütün olaylar geri dönüşümlüdür.

Seröz faz: Dilatasyona uğramış kan damarlarının çeperlerinden interkapiller bölgeye bir sıvı geçişi olur ve ödem oluşur. Kanın sıvısının çeper dışına çıkışı damar çeperinin iki ayrı taraftaki basınç farklılığı ve çeperin geçirgenliği şeklinde iki faktöre bağlıdır.

Damarların içinde kanın hidrostatik basıncı ve damarların dışında ise dokuların kolloidal yapısından kaynaklanan osmotik basınç bulunmaktadır. Bu iki basınç sağlıklı hallerde birbirine eşit ve bir sıvı geçişi olmazken, patolojik durumlarda hidrostatik basınç osmotik basınçtan daha yüksektir. Bu durumda kan sıvısının çeper dışına hareketi söz konusudur (Çalışkan 2006).

Normal şartlarda kapiller çeperlerinin geçirgenliği azdır. Ancak su ve sodyum molekülleri gibi küçük moleküllerin geçişi mümkündür. Patolojik durumlarda vazoaaktif medyatörler gibi etkenlerle kapillerlerin geçirgenliği artar (Çalışkan 2006).

Pürülan faz: Bu fazda kanın hücresel elemanları damar dışına çıkmaktadır. Bu geçişe diyapedez denilmektedir. Kemotaksis, amidoit hareket gibi olaylarla kan hücrelerinin çeper dışına çıkması izah edilebilir. Kanın diyapedezindeki ilk hücreler polimorfonükleer lökositlerdir (PMNL). Bu hücreler kapiller dışına çıktıktan sonra parçalanarak birkaç gün içinde ölürlür. Dokuya hasar veren uyaran devam etmiyorsa enflamasyonu gideren tamir olayları başlayacaktır. Şayet devam ediyorsa ortamdaki PMNL çıkışı ve parçalanması devam edecek ve böylece çok sayıda ölü hücre cerahat oluşmasına neden olacaktır (Cengiz 1983, Alaçam 2011a).

Tamir fazı: Ölmüş PMNL'lerin ve doku artıklarının ortamdaki kaldırılması tamir fazında ilk gerçekleşen olaydır. Ödemden lenfatik drenajı ile ölmüş olan hücre kalıntıları da odağı terk eder. PMNL'ler ile mononükleer lenfositler yer değiştirir, lenfositler de diferansiyasyona uğrayarak perihistiyosit, histiyosit, makrofaj ve fibroblastlara farklılaşırlar (Çalışkan 2006).

1.2.3 Dental Pulpa Hastalıklarının Sınıflandırılması

Pulpa hastalıklarının sınıflandırılmaları literatürde farklı şekillerde yapılmıştır. Pulpal ve periapikal hastalık sınıflandırmalarını geliştirmek için yıllar içinde birçok girişimde bulunulmuş, çalışmalar klinik semptomlar ile histopatoloji arasında bir korelasyon yapılmasının zor olduğunu göstermiştir. Tedavi planı seçeneklerini düzenlemek için klinik sınıflandırmalar geliştirilmiştir. Klinik ortamında histopatolojik olarak inceleme yapılamadığı için, pulpa hastalıklarının terminolojisi ve sınıflandırılması kesin histopatolojik sonuçlar yerine klinik semptom ve bulgulara göre yapılmaktadır (Hargreaves ve Berman 2016).

Günümüz klinik sınıflandırma 2012 yılında Amerikan Endodontistler Birliği tarafından önerilen tanım ve sınıflandırılmaya dayanmaktadır. Bugünkü sınıflandırma geri dönüşümlü pulpitis, geri dönüşümsüz pulpitis ve pulpa nekrozu şeklinde yapılmaktadır (Hargreaves ve Berman 2016).

1.2.3.1 Geri Dönüşümlü Pulpitis

Geri dönüşümlü pulpitiste, pulpanın iyileşme potansiyeli bulunmaktadır. Etken ortadan kalktığında hafif düzeydeki iltihap geriler ve pulpa eski sağlığına geri döner. Çürükler, uyumu bozulmuş restorasyonlar, travma sonucunda veya yeni yapılan restorasyonları takiben ortaya çıkabilir. Soğukta, ekşi ve tatlı uyaranlarla ağrı oluşabilir. Spontan ağrı yoktur. Uyaranlar karşısında ağrı hafif düzeyde ve kısa sürelidir. Etken ortadan kalktığında ağrı kesilir. Periodontal aralık ve lamina dura normaldir. Perküsyonda genellikle cevap negatiftir.

Geri dönüşümlü pulpitiste tedavi, etyolojik etken ortadan kaldırılarak gerekli vital pulpa tedavisinin yapılmasıdır (Aşçı 2014).

1.2.3.2 Geri Dönüşümsüz Pulpitis

Geri dönüşümsüz pulpitis, pulpa bağ dokusunun iritasyona karşı klinik olarak gösterdiği iltihabi cevaptır. Etken faktör ortadan kalksa bile iltihap çözülmez ve tablo yavaş ya da hızlı bir biçimde pulpa nekrozuna doğru ilerler (Çalışkan 2006, Alaçam 2011a, Aşçı 2014).

Hastada geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz pulpa hastalığının olup olmaması vital tedavi veya kök kanal tedavisi seçiminde önemlidir.

Vazodilatasyonu takiben oluştuğu için etyolojik olarak geri dönüşümlü pulpitis benzemektedir. Pulpal kan damarlarının dilatasyonu sonucu damar geçirgenliği ve damar içi basıncın yükselmesiyle damar dışına sıvı eksudasyonu ve lökosit infiltrasyonu gerçekleşir ve bunun sonucunda pulpa içi basınç artar. Pulpa içi basınç artmasıyla spontan ağrı başlar. Pulpal basınç ne kadar fazlaysa ağrının şiddeti o oranda fazladır. Ağrı sürekli ya da aralıklı olabildiği gibi dayanılabilir şiddetten zonklayıcı şekle kadar değişken olabilir. Radyografik olarak pulpa iltihabının ileri safhalarında periodontal ligamentte hafif bir aralanma görülebilir. İltihap apikale geçiş yapmadıysa diş palpasyon ve perküsyonda normal tepki verir. Pulpada sadece ağrı reseptörleri bulunmaktadır. Basınç reseptörleri periapikal bölgede bulunur. Ağrılı dişin ayırt edilebilmesi iltihabın periapikse ulaşması ile mümkün olur. Geri dönüşümsüz pulpitis, önceden asemptomatik duruma geçmiş olan, kronik iltihaplı bir pulpanın akut hale geçmesinden de kaynaklanabilir (Alaçam 2011a).

1.2.3.3 Pulpa Nekrozu

Geri dönüşümsüz pulpiti takiben pulpa nekrozu oluşur. Pulpada kan akımı durmuştur ve pulpa sınırları artık fonksiyonlarını yitirmiştir. Pulpal testler çoğunlukla negatiftir (Albini 1973). Elektrikli pulpa testi ya da soğuk uyaranlara cevap vermezken diş uzun süre ısı uygulandığında diş uyarana cevap verebilir. Bunun nedeni pulpa odasındaki sıvı ve gaz artıklarının hacimce büyümesi ve apikal dokulara geçmesi ile

ilgili olabilir. Pulpanın nekrotik hale geçmesiyle enflamasyon periradiküler dokulara doğru ilerler. Bu dokulara geçtiğinde diş semptomatik hale gelebilir.

Pulpa nekrozu bölümlü veya tam olabilir. Birden fazla kanallı bir dişte tüm kanalları kapsamayabilir ve diş bu yüzden uyarılara karşı farklı cevaplar verebilir (Berman 1985).

1.3 Pulpa Enflamasyonunda Görülen Enflamatuar Medyatörler

Pulpa enflamasyonunda görülen enflamatuar medyatörler; nöropeptitler, sitokinler ve enzimlerdir.

1.3.1 Nöropeptitler

Nöromodülatör ve nörohormon fonksiyonları olan küçük yapıli proteinlerdir ve nörotransmitter olarak çalışırlar. İmmünohistokimyasal ve moleküler biyolojik metodlarla tanımlanan 60'dan fazla nöropeptit bulunmaktadır. Nöropeptitlerin çoğunluğu ilk olarak beyin ve bağırsak sisteminde bulgulanmıştır. Yapılan çalışmalarda özellikle bulunduğu dokularda enflamasyon durumunda, ekspresyonlarının arttığı gösterilmiş ve enflamasyona bağıli oluşan ağrıının bu peptitlerle bağılantılı olabileceğı ifade edilmiştir (Mulvihill ve Debas 1997). Nöropeptitler dokudan salındıklarında üç önemli etki oluştururlar. Birincisi damarlar üzerinde kan dolaşımını düzenleyen vazodilatasyon veya vazokonstrüksiyon etkileri, ikinci etkileri immün sistem üzerindeki etkileri, üçüncüsü ise proinflamatuar ve proliferasyon etkileridir (Mulvihill ve Debas 1997, Aydın 2006, Gomariz ve ark. 2006). Nöropeptitlerin pulpal enflamasyon ve diş ağrı mekanizmasında da önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (Linden ve ark. 1997, El Karim ve ark. 2006, El Karim ve ark. 2009). Pulpada şimdiye kadar 5 adet nöropeptit belirlenmiştir (Caviedes-Bucheli ve ark. 2008). Pulpada ilk bulunan nöropeptit Substance P (SP)'dir (Olgart ve

ark. 1977). Dental pulpada tanımlanmış peptitler; SP, Nörokinin A (NKA), Kalsitonin gen kaynaklı protein (CGRP), Nöropeptit Y, Vazoaktif İntestinal Peptit'tir (Caviedes-Bucheli ve ark. 2008).

1.3.2 Sitokinler

Polipeptit yapıda, düzenleyici, küçük proteinlerdir. Lökositler, nöronlar ve glia hücreleri gibi hücreler tarafından sentezlenirler. İltihap sinyallerinin iletilmesini sağlarlar (Alaçam 2011b, Hargreaves ve Berman 2016). Sitokin molekül grubunda interlökinler, interferonlar, büyüme faktörleri, koloni-stimüle edici faktörler, integrinler mevcuttur. Proliferasyon, diferansiasyon, büyüme, hemostaz, rejenerasyon, tamir ve enflamasyon gibi biyolojik aktivitelerde önemli görevleri bulunmaktadır. Sitokinlerin enflamasyonda görev alan en önemlileri, interlökinler (IL) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) denilebilir. Enflamatuar etki gösterenler (IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α) ve anti-enflamatuar etki gösterenler (IL-4, IL-10 ve IL-13) olarak enflamasyonda düzenleyici olarak görev alırlar (Kuralay ve Çavdar 2006). Dinçer (2019) yapmış olduğu uzmanlık tez çalışmasında sağlıklı ve akut geri dönüşümsüz pulpitisli hastalardan aldıkları pulpa doku ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) örneklerinde IL-8, MMP-8, NKA, SP değerlerini karşılaştırmıştır. Bu çalışmada, sağlıklı gruba göre tüm medyatör seviyelerinin pulpitis grubundaki pulpa örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bulunmuştur. Yine aynı çalışmada akut pulpitisli dişlerde, enflame pulpa çıkarıldıktan 1 hafta sonra DOS örneklerinde NKA, SP, IL-8 ve MMP-8 seviyelerinde belirgin bir şekilde azalma meydana geldiği ve ağrı skorları yüksek olan akut pulpitisli dişlerin pulpa doku örneklerinde SP, IL-8 ve MMP-8 seviyelerinin, ağrı skoru düşük olan dişlere göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

1.3.3 Enzimler

Enzimler, kimyasal reaksiyonları katalizleyen biyolojik polimerlerdir. Bir veya daha fazla substratın bir veya daha fazla ürüne dönüşümünü katalize ederler. Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği sisteminde her enzim katalize edilen reaksiyon tipini ve ilgili substratları yansıtan bir isme ve kod numarasına sahiptir. Enzimlerin isimlendirilmesi katalize ettikleri reaksiyonun türüne göre, etki ettiği substrata '-az' ya da '-olitik' eki ile yapılır.

Enzimlerin sınıflandırılması ve katalize ettikleri reaksiyonlar şu şekildedir:

- 1- Oksidoreduktazlar: Oksidasyonları ve redüksiyonları katalizlerler.
- 2- Transferazlar: Metil veya glikozil gibi transfer gruplarını katalizlerler.
- 3- Hidrolazlar: Hidrolitik bölünmeyi katalizlerler.
- 4- Lizazlar: C-C, C-S ve C-N bağlarının ayrılmasını katalizlerler.
- 5- İzomerazlar: Tek bir molekül içindeki yapısal veya geometrik değişiklikleri katalizlerler.
- 6- Ligazlar: ATP veya benzer nükleozid trifosfat ile iki substrat molekülünün birbirine bağlanmasını katalizlerler (Rodwell ve ark. 2015).

Hidrolazlar; ester, peptit, eter, glikoz, C-O, C-N, C-C arasındaki bağları hidrolize ederler ve hidrolazların proteazlar, esterazlar, lipazlar, karbohidralazlar, fosfatazlar, amilazlar şeklinde alt grupları bulunmaktadır. MMP'lar, hidrolazların alt grubu olan proteazlara ait enzim ailesidir (Gerze 2003).

1.3.3.1 Matriks Metalloproteinazlar

Oral kavitede diş sert dokularını, pulpayı, periodontal dokuları ve oral mukozayı etkileyen birçok farklı hastalık bulunmaktadır. Yakın zamana kadar bu hastalıkların etyolojisinde çoğunlukla mikroorganizmalar etken olarak görülmüş ve tedavi seçenekleri bu organizmaları ortadan kaldırmaya yönelik olmuştur. Ancak günümüzde yapılan çalışmalar bu hastalıkların meydana gelmesinde ve hastalığın seyrinde

yalnızca mikroorganizmaların değil, aynı zamanda konak cevabının ve konak kaynaklı faktörlerin de etkili olduğunu gözler önüne sermiştir. Bu konak kaynaklı faktörlerden bir tanesi de ECM komponenti olan MMP'lerdir (Ersöz ve Erkli 2011).

ECM, hücrelerin bir arada tutulmasını sağlayan, pek çok protein, hormon, proteoglikan ve büyüme faktörleri içeren, hücrelerin özel fonksiyonları gerçekleştirebilmesi için hücre içi sinyalleme yolları ile etkileşmelerini sağlayan, birçok biyolojik olayda etkisi olan, hücreler arası boşlukları dolduran karmaşık ve dinamik bir yapıdır (Uslu ve Eltaş 2015). Çoğunluğu MMP aile üyesi olmak üzere ECM'in birçok proteolitik enzimi vardır (Stamenkovic 2003). Fizyolojik ve patolojik süreçlerin her ikisinde de rol alan MMP, son dönemde tüm ECM enzimleri arasında dikkat çekmeye başlamıştır. Çinko ve kalsiyum bağlı çalışan MMP, kollajen ve bütün bağ dokusu yapısında bulunan ve uygun şartlarda tüm ECM bileşenlerini parçalayabilen proteolitik enzim grubudur. Güncel olarak bilinen 28 MMP aile üyesi vardır, fakat insanda 6 alt gruba ayrılmış şekilde, 23 çeşit MMP bulunur (Tablo 1.3). MMP'lar normal dokularda düşük konsantrasyonlarda inaktif formdadırlar (Nagase ve Woessner 1999). Bu enzimler pre ve pro-MMP olarak sentez edilir, inaktif pro-MMP (nötral pH'da) olarak salgılanırlar. MMP enzimleri, buldukları ortamın pH'sı düştüğünde de aktif hale geçerler (Tekçe 2014).

Tablo 1.3 MMP'ların alt grupları.

Grup	Enzim
Kolajenaz (Collagenases)	MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18
Jelatinaz (Gelatinases)	MMP-2, MMP-9
Sitromelisin (Stromelysins)	MMP-3, MMP-10, MMP-11
Matrilisin (Matrilysins)	MMP-7, MMP-26
Membran tip (Membrane type)	MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25
Diğerleri	MMP-12, MMP-19, MMP-20 (enamelin), MMP-23, MMP-27, MMP-28

MMP'lar doğal olarak iki tip protein tarafından inhibe edilirler. Bunlar MMP doku inhibitörü TIMP ve alfa2 makroglobin' dir (Nagase ve Woessner 1999). Karaciğer tarafından üretilen alfa2 makroglobinin MMP inhibisyonu geri dönüşümsüzdür (Stamenkovic 2003). TIMP'lar ise MMP'lar ile birebir geri dönüşümlü olarak bağlanırlar. TIMP'ların bilinen dört alt grubu; MMP'ın endojen olarak inhibisyon düzenleyicisidir (Gomez ve ark. 1997). MMP'ların aktivasyonlarının çoğunu TIMP-1 ve TIMP-2 inhibe eder (Stamenkovic 2003).

Enfekte pulpada bulunan bakteriyel antijenler ve lipopolisakaritler, immunoglobulin, prostaglandin ve diğer proinflamatuvar medyatörlerin seviyesini artırır. Pulpal reaksiyonda bakteriyel bileşikler ve enflamatuvar faktörler nötrofil degranülasyonunu stimüle edebilir. Monosit ve makrofaj salınımını sağlayabilir (Jain ve Bahuguna 2015).

Travmatik yaralanma ya da dental çürük gibi nedenlerle oluşmuş enflamasyonların dental pulpa hücrelerinden tümör nekroz faktörün (TNF) salınımını düzenlediği, MMP-3 ve MMP-9 üretimine yol açtığı ve sonunda da internal kök rezorpsiyonunu indükleyebileceği düşünülmektedir (Rhim ve ark. 2013).

IL-1 ve TNF salınımı pulpa hücrelerinde MMP-1, MMP-2 ve TIMP-1'in ekspresyonlarını artırabilmektedir (Chang ve ark. 2001, Lin ve ark. 2001). MMP-1, MMP-2 ve MMP-3 konsantrasyonu akut pulpitiste sağlıklı pulpa dokusundan önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (Shin ve ark. 2002). Gusman ve ark. (2002) yapmış oldukları çalışmada ise MMP-2 ve MMP-3 düzeylerini sağlıklı pulpaya kıyasla semptomatik pulpada daha düşük olduğunu ve enflamasyon görülen pulpada MMP-9 düzeyinin ise sağlıklı pulpaya kıyasla önemli derecede yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

Hasar görmüş pulpa hücrelerinden salınan MMP-3 parakrin sinyalleri subodontoblastik tabakadaki hasar görmemiş pulpa hücrelerine ulaştırmakta ve MMP-3 tarafından indüklenen bağ dokusu büyüme faktörü (CCN2/CTGF) hasar görmemiş dental pulpa hücrelerinin yara bölgesine göçünü sağlamaktadır (Muromachi ve ark. 2015).

Pulpa dokusunun enflamasyonu sürecinde MMP-3 üretimi çevre kollajen yıkımını tetiklemekte ve ECM yapısındaki değişiklikler, enflamasyon ve anjiyogenezde öncülük etmektedir (Goda ve ark. 2015).

MMP'ların rolü dental pulpada ECM'in yeniden yapılandırılması esnasında katalitik enzim olarak sınırlı değildir. Aynı zamanda dental pulpanın tamirinde de görev alırlar (Muromachi ve ark. 2015). Pulpitiste üretilen MMP-3; anjiyogenezi, yara iyileşmesini ve reparatif dentin oluşumunu sağlamaktadır (Zheng ve ark. 2009).

Dental pulpada bulunan farklı MMP'lar dental çürüğe ve restoratif uygulamalara cevap olarak upregüle olurlar. Örneğin, dental pulpada MMP-3 ve MMP-13'ün ekspresyonları diş preparasyonu gibi eksternal uyaranlar karşısında artmıştır (Zheng ve ark. 2009, Yoshioka ve ark. 2013).

MMP-13'ün değeri diğer kollajenazlara (MMP-1, MMP-8) kıyasla yoğun ölçüde yüksek bulunmaktadır. Dolayısıyla MMP-13, MMP-1 ile birlikte pulpa dokusunda ana kollajenaz olarak kabul edilmektedir (Evrosimovska ve ark. 2012).

Prevotella intermedia, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas endodontalis* ve *Porphyromonas gingivalis* gibi bakterilerin ekstraktlarının insan dental pulpa hücrelerince denge halinde bulunan MMP ve TIMP'ların sekresyonlarını provoke ettiği bildirilmiştir. Ayrıca az oranda TIMP-1'in salınımı artarken, TIMP-2'nin salınımının bütün ekstraktlar tarafından inhibe edildiği de rapor edilmiştir (Nakata ve ark. 2000).

Geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz pulpitis vakalarını sadece klinik ve radyografik bulgular ile birbirinden ayırabilmek doğru tedavi yönteminin (vital pulpa tedavileri, kök kanal tedavisi) belirlenebilmesinde yeterli olmamaktadır. Pulpa enflamasyonunun basamağını tespit etmede pulpal kan örneklerindeki MMP-9 düzeyinin diagnostik bir marker olarak kullanılabilmesi adına çalışmalar yapılmaktadır. Mente ve ark. (2016) pulpa ekspozu olan asemptomatik dişlerden, geri dönüşümlü pulpitisli dişlerden ve nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç kullanmış ve kullanmamış geri dönüşümsüz pulpitis teşhisi konmuş dişlerden aldıkları pulpa kan örneklerinde MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerini araştırmış ve pulpal enflamasyon derecesinin MMP-9 düzeyi ile belirlenebileceğini rapor etmişlerdir. Yine başka bir çalışmada MMP-8 düzeyinin pulpal enflamasyonda arttığı bildirilmiştir (Dinçer 2019).

Son dönemde bulunan ADAMTS'ler hem memelilerde hem de omurgasızlarda bulunan MMP ailesine ait proteolitik enzimlerdir (Mazzoni ve ark. 2015).

1.3.3.1.1 ADAMTS Ailesinin Keşfi ve Sınıflandırılması

ADAM'lar (a disintegrin and metalloproteaz) veya MDC (metalloproteaz/disintegrin/sistein), hücre-hücre adezyonu ve proteolizde görev alan transmembran glikoproteinlerdir (Kuno ve ark. 1997, Lind ve ark. 2006, Rocks ve ark. 2008).

ADAM ailesinde yer alan enzimler, hücre membranında bulunan çinko bağımlı metalloproteazlardır. Disintegrin ile metalloproteaz bu moleküllerdeki iki önemli bölgeyi içerirler. Bu bölgeler sayesinde, ADAM'larda, hem adezyon proteinlerinin hem de proteazların özellikleri bulunmaktadır. Bu özellikleri ADAM'ları diğer hücre yüzey proteinlerinden ayırmaktadır. Hücre-hücre ile hücre-matriks etkileşimlerinde önemli görevleri mevcuttur (Tang ve Hong 1999, Kaushal ve Shah 2000, Porter ve ark. 2005). ADAM ailesine ait 30'a yakın protein tanımlanmıştır (Sunay ve ark. 2012).

Kuno ve ark. 1997 yılında farelere, enjekte ettikleri bir hücre hattıyla kolon kanseri modeli oluşturmuşlar ve bu kanser türünde eksprese olan genleri belirlemiştirler. Yaptıkları bu çalışmada, ADAM protein ailesinin üyelerine çok benzeyen ve trombospondin tip 1 (TSP1) motifleri taşıyan, enflamasyonla ilişkili bir protein klonlanmıştır (ADAMTS1) (Kuno ve ark. 1997). ADAM proteazlarının tersine ADAMTS'ler hücre membranında yer almayıp ECM'e salınırlar. Domain yapıları da ADAM'lardan farklı olarak trombospondin (TSP) molekülü içerirler. Bu yüzden farklı bir proteaz ailesi olarak kabul edilirler. TSP motifleri, ADAMTS'leri hem MMP'lardan hem de ADAM'lardan ayıran en belirgin özellikleridir.

ADAMTS1'i takiben diğer üyelerin keşfi de yapılmıştır. İlk bulunan gen ADAMTS1 olarak adlandırılmıştır. ADAMTS11 olarak bilinen genin ilerleyen zamanda ADAMTS5 olduğu tespit edilince, ADAMTS11 geni sınıflandırmaya dahil edilmemiştir. Bu sebeple ADAMTS20 olmasına rağmen 20 adet yerine 19 adet ADAMTS bulunur. ADAMTS gen ailesinin 7 adet ADAMTS benzeri (ADAMTS-like, ADAMTSL1-6 ve papilin) genler olmak üzere toplamda 26 adet üyesi mevcuttur (Demircan ve ark. 2013). Metalloproteinazların doku inhibitörleri olarak bilinen TIMP ile inhibe edilirler. TIMP3 şu an için bilinen en etkili ADAMTS inhibitörüdür (Apte 2009). TIMP'lar, ADAM ve ADAMTS'e karşı seçici davranmaktadırlar. ADAMTS4

ve ADAMTS5 (agrekaz) TIMP3 tarafından inhibisyonu sağlanırken, ADAMTS1'in TIMP2 ve TIMP3 tarafından 500 nM'lik konsantrasyonda kısmen inhibe edildiği gözlemlenmiştir (Baker ve ark. 2002, Handsley ve Edwards 2005, Cawston ve Wilson 2006).

Birçok önemli olayda rol oynayan ADAMTS ailesi, domainlerinin organizasyonuna, protein ve gen diziliminin korunmuşluğuna ve seçtikleri substratlara göre gruplandırılmıştır (Tablo 1.4).



Tablo 1.4 ADAMTS üyelerinin bilinen substratları (Tang 2001).

Protein İsmi	Bilinen Substratları
<i>ADAMTS1</i>	Agrekan; versikan V1
<i>ADAMTS2</i>	Prokollojen I, II and III N-propeptitler
<i>ADAMTS3</i>	Prokollojen II N-propeptit
<i>ADAMTS4</i>	Agrekan; brevikan; versikan V1; fibromodulin; a decorin; karboksimetillenmiş transferin
<i>ADAMTS5</i>	Agrekan
<i>ADAMTS6</i>	-
<i>ADAMTS7</i>	-
<i>ADAMTS8</i>	-
<i>ADAMTS9</i>	Agrekan; versikan
<i>ADAMTS10</i>	-
<i>ADAMTS12</i>	-
<i>ADAMTS13</i>	von Willebrand faktör
<i>ADAMTS14</i>	Prokollajen I N-propeptit
<i>ADAMTS15</i>	Agrekan
<i>ADAMTS16</i>	-
<i>ADAMTS17</i>	-
<i>ADAMTS18</i>	-
<i>ADAMTS19</i>	-
<i>ADAMTS20</i>	-

1.3.3.1.2 ADAMTS'lerin Moleküler Yapısı

ADAMTS'lerin yapısı proteaz ve tekrarlayan TSP kısımlarından oluşmaktadır (Şekil 1.1). Proteaz kısmı, aktif enzim kısmını içerir ve sinyal peptit, propeptit, katalitik domain ve disintegrin benzeri modüllerden oluşur. TSP tekrarları ise yardımcı yan modüllerdir. Ayrıca sisteince zengin modül ve spacer adı verilen bağlantı bölgeleri bulunur. ADAMTS'lerin moleküler yapısında, ADAM gibi epidermal büyüme faktörü parçası ve transmembran modül yoktur (Kuno ve ark. 1997, Jungers ve ark. 2005, Apte 2009, Tortorella ve ark. 2009).

Propeptit bölüm, enzimi inaktif halde tutar. Enzimin substrat ile etkileşim içine girmemesini propeptit sağlar. Propeptit bölgesinin kesilip atılmasını furin gibi enzimler gerçekleştirir. Enzimlerle yapılan bu kesim işlemi ve aktifleşme sürecine, zimojen aktivasyonu denilmektedir (Jones ve Riley 2005).

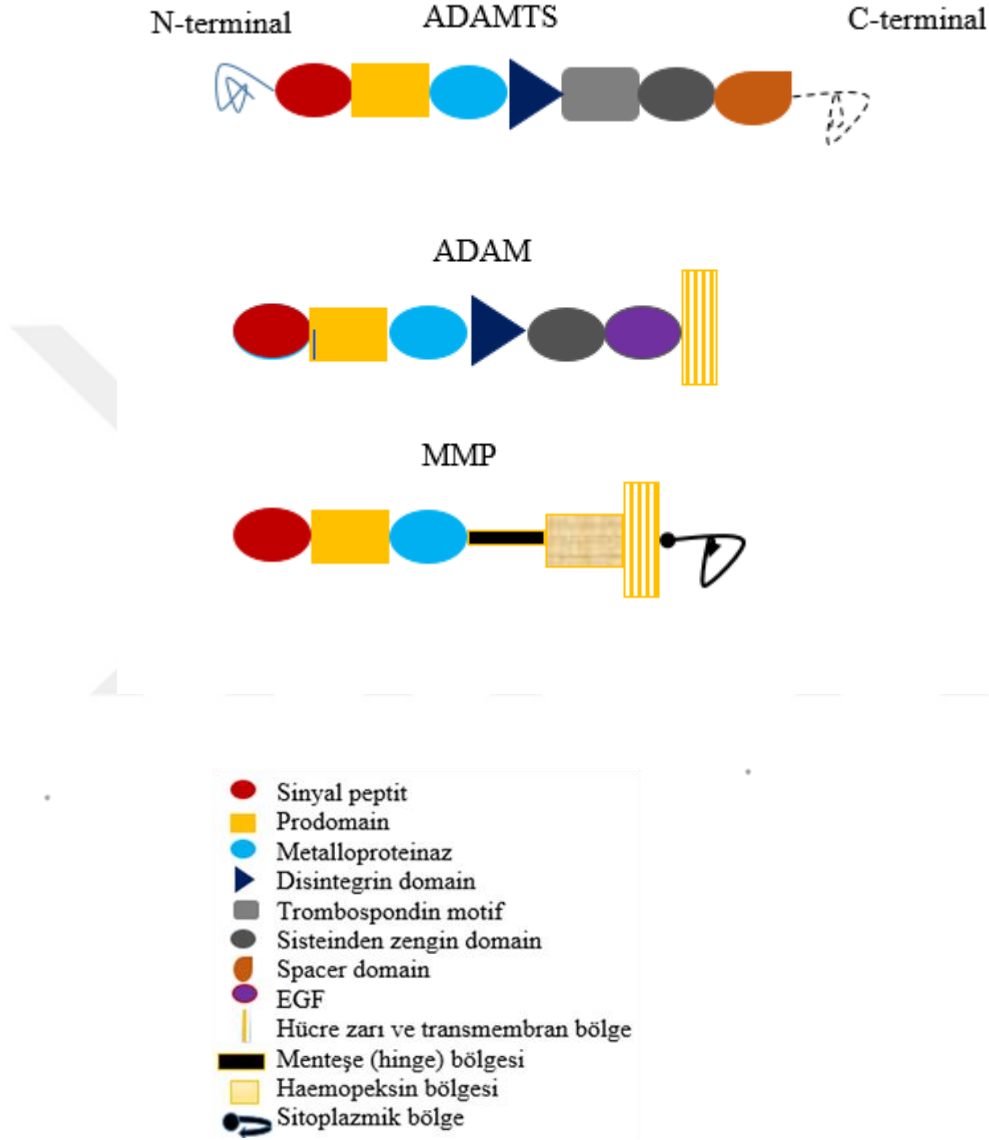
Enzim aktivitesi ise çinko bağlanma alanı bulunan katalitik kısım ile gerçekleşir. Tüm ADAMTS proteazları, katalitik bölgelerinde aktif motif dizisine sahiptir (Nagase ve Kashiwagi 2003). Aktif motif, HEXXHXXGXXHD dizisinden meydana gelir. Buradaki X herhangi bir amino asidi temsil eder. Aktif motifte mutasyon varsa katalitik aktivite tamamen yok olur.

Disintegrin benzeri bölge, amino asit dizilişi, yılan zehiri proteazlarındaki (snake venom metalloprotease) disintegrin kısmı ile benzer olduğu için bu şekilde adlandırılmıştır. Disintegrin benzeri kısmın, matriks ve hücrenin bağlanma proseslerinde görev alabileceği belirtilmektedir (Tortorella ve ark. 2009).

ADAMTS'lere ismini veren ve diğer enzimlerden ayıran TSP, 1971 yılında bulunan ilk anjiyogenez inhibitörüdür (Baenziger ve ark. 1971). TSP, trombositlerden salınır ve matriksin adezyon glikoproteinidir. TSP motifi, fibronektin, kollajen gibi ECM bileşenlerine bağlanır. Hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşiminde etkileri mevcuttur (Demircan ve ark. 2013).

Sisteince zengin kısım ve bağlantı kısmı, substratın spesifikliğinde ve ECM'e yerleşme süreçlerinde rol alır (Tortorella ve ark. 2009).

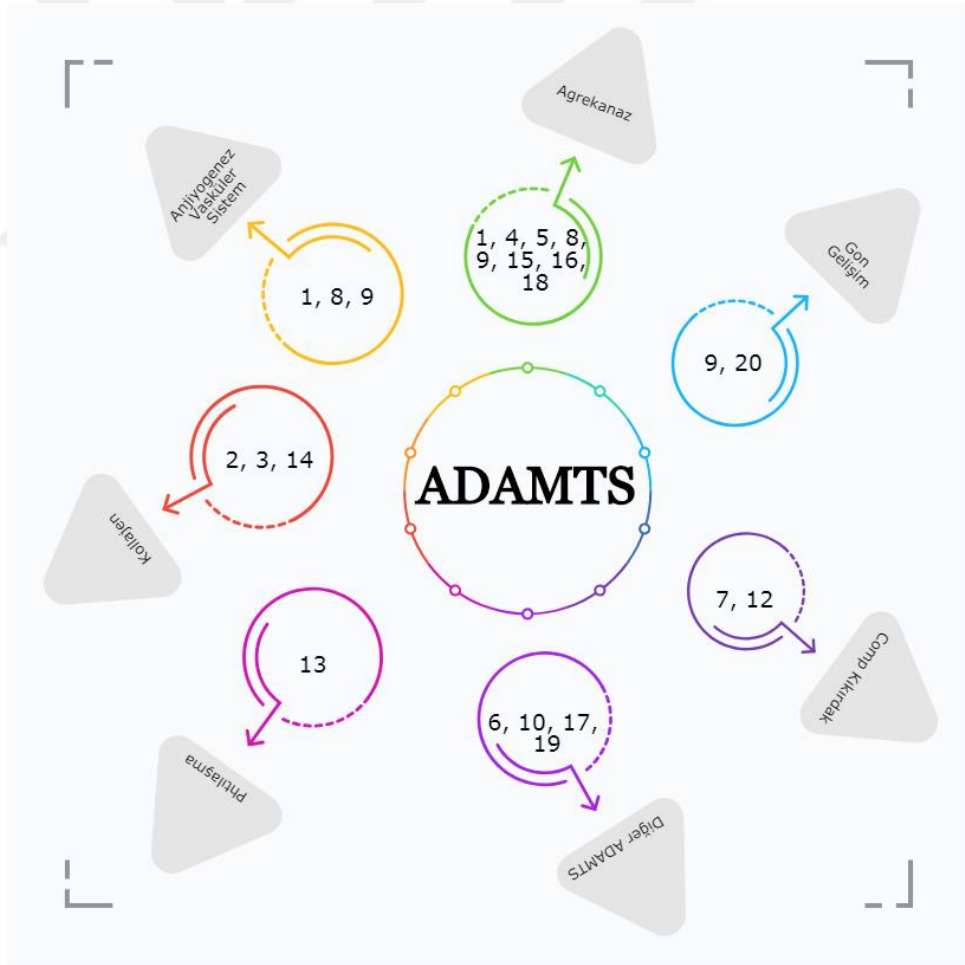
Şekil 1.1 ADAMTS, MMP ve ADAM temel domain yapıları arasındaki farklılıklar
(Demircan ve ark. 2013).



1.3.3.1.3 ADAMTS Ailesinin Görevleri

ADAMTS üyelerinin prokollajenin kollajene dönüştürülmesi, agrekan, versikan ve brevikan gibi ECM proteoglikanlarının parçalanması, anjiogenezin inhibe edilmesi ve von Willebrand faktör proteinini parçalamak suretiyle koagulasyonun düzenlenmesi şeklinde görevleri olduğu bilinmektedir. Bağ dokusunun şekillenmesi, yara iyileşmesi, konjenital anomaliler, enflamasyon, organogenez, anjiogenez, ovulasyon, kanser, tümör metastazı ve aterosklerozda da rolleri olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır (Porter ve ark. 2005, Stanton ve ark. 2011) (Şekil 1.2).

Şekil 1.2. ADAMTS proteinazlarının görevlerine göre sınıflandırılması (Apte 2009).



Dişte ilk defa ADAMTS'lerin ekspresyonu ve diş sürmesi sırasında mRNA ekspresyonu Sone ve ark. (2005)'nin ratlarda yapmış oldukları çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada dental pulpada, sementte, alveol kemiği ve periodontal ligamentte ADAMTS ekspresyon sonuçlarını rapor etmişlerdir. Dental pulpa; diş kronunda bulunan pulpa hücreleri kollajen 1 ve versikan için hibridizasyon sinyallerini 1 ve 2. haftalarda gösterirken, 3. haftada sinyaller azalmış, 4. ve 6. haftalarda ise sinyaller tanımlanamamıştır. Diş kök kanalında pulpa hücreleri ve ADAMTS5'in 1, 2 ve 3. haftalarda alınan sinyalleri, 4 ve 6. haftalarda azalmıştır. Diş kökünde bulunan odontoblastların 3. ve 4. haftalarda ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS5 ve versikanı eksprese ettikleri fakat 6. haftada sinyallerin azaldığını belirtmişlerdir. Sement; sementoblastlar ve sementositler hibridizasyon sinyallerini kollajen 1, versikan ve ADAMTS1 için 3. ve 4. haftalarda göstermişlerdir. Sinyallerin yoğunluğu 6. haftada azalmıştır. Sementoblastlar ve sementositler ADAMTS4 ve ADAMTS5'i 3, 4 ve 6. haftalarda sürekli olarak eksprese etmişlerdir. Alveolar kemik ve periodontal ligament; alveolar kemik hücreleri olan osteoblastlar, osteositler ve periodontal ligament fibroblastları, kollajen 1, versikan, ADAMTS1, ADAMTS4 ve ADAMTS5 için 3. ve 4. haftalarda hibridizasyon sinyallerini eksprese ederken, 6. haftada sinyallerin azaldığını göstermişlerdir. Sonuç olarak, molar dişlerin sürmesi sırasında dental pulpada, odontoblastlarda, sementoblastlarda, sementositlerde, periodontal ligament hücrelerinde, osteoblastlarda ve osteositlerde ADAMTS1, -4, -5 ve versikan mRNA ekspresyonunu tanımlamışlardır.

Diş ektodermal bir organdır ve formasyonu dental epitel ve dental mezenşim arasındaki resiprokal etkileşimler tarafından kontrol edilir (Thesleff 2003). Bu etkileşim dinamik ve kompleks bir süreçtir. Diş morfogenezinde rol alan fonksiyonlar, sinyal transkripsiyonları ve bazı moleküller karakterize edilmiş ve 300'den fazla gen rapor edilmiştir (Sasaki ve ark. 2010). Sasaki ve ark. (2010) farelerde yapmış oldukları çalışmada pre- ve post- natal gen profillerini mikroarray teknoloji kullanarak karşılaştırmışlar ve 2000 üzerinde genin eksprese olduğunu belirtmişlerdir (Sasaki ve ark. 2010). Ayrıca bu çalışmada pre- ve post- natal safhalardaki ekspresyonda redüksiyon gösteren genler bulmuşlardır, bunlardan biri de ADAMTS4'tür. Farelere ait birinci alt azı dişi germlerinde embriyonik 16. günde (E16), embriyonik 18. günde (E18) ve post-natal 3. günde (P3) izole edilen dental papilla, mikroarray yöntemiyle

analiz edilmiştir. Belirgin ADAMTS4 ekspresyonu E16 ve E18’de gözlemlenmiştir (Sasaki ve ark. 2010). Bu genlerin down regülasyonunun diş gelişimi esnasında dental papillada önemli bir faktör olarak gösterilebileceğini belirtmişlerdir.

Başka bir çalışmada, diş morfogenezinin erken çan safhasından sonra ve post-natal dental safhasında proteoglikanların bulunduğu ve odontoblastların farklılaşmasında önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir (Hikake ve ark. 2003).

Çene eklemi olarak bilinen temporomandibular eklem (TME) insan vücudunun en karmaşık yapısı olup, çiğneme kasları, baş ve boyun çevresi kaslar, ligamentler, diş, yanak, dudak ve tükürük bezlerinden oluşan stomatognatik sistemin bir parçasıdır. TME hastalıklarının en yaygın bilinen formu TME iç düzensizlikleridir (disk dejenerasyonu). Yapılan bir çalışmada disk dejenerasyonunun ADAMTS ile ilişkisi rapor edilmiş, özellikle ADAMTS4 ve ADAMTS5 proteoglikan bozulmasından sorumlu tutulmuştur (Leonardi ve ark. 2015).

Dudak damak yarığı, embriyolojik dönemde (hamileliğin 6-10. haftalarında) dudak ve damağın birleşme kusuru nedeniyle ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu hastalıkla ilgili olarak Enomoto ve ark. (2010) farelerde yapmış oldukları çalışmada ADAMTS9 ve ADAMTS20’nin palatogenezde rol aldıklarını bildirmişlerdir.

Embriyo gelişiminin hemen hemen her aşamasında yer alan ADAMTS üyelerinin günümüzde birçok hastalık ile ilişkisine dair çalışmalar da yapılmıştır. Bunlar, hücre proliferasyonu, hücre dağılımı, hücre migrasyonu, akson boyları ve organ morfogenezinde rol oynamakla birlikte kanser, artrit gibi birtakım hastalıkların patolojik süreçlerinde etkinliğinin tespit edildiği çalışmalardır (Li ve ark. 2001, Demircan ve ark. 2013)

1.3.3.1.4 Enflamasyonda ve Diğer Klinik Çalışmalarda ADAMTS’ler

ADAMTS ailesi ECM’in yeniden biçimlenmesi, ateroskleroz, romatoid artrit gibi enflamatuar süreçler içeren bazı patolojik hastalıklarda önemli bir rol oynamaktadır. MMP’lar gibi ADAMTS üyeleri de ECM’i yıkma kapasitesine sahiptirler ve TIMP tarafından inhibe edilerek kontrol altında tutulurlar.

Pelisek ve ark (2015)'nin stabil ve unstabil ateroskleroz plaklar üzerine yapmış oldukları çalışmada, ADAMTS1, -4, -5 ve -13'ün mRNA ekspresyonunu incelemişler ve arttığını rapor etmişlerdir. Çalışma sonucunda ADAMTS1'in ateroskleroz gelişiminde önemli rol oynayabileceğini belirtmişlerdir.

Lee ve ark. (2011)'nin akut miyokard enfarktüsü yada stabil anjinası olan hastalarda ADAMTS1,-4 ve -5 mRNA ekspresyonunu karşılaştırdıkları çalışmalarında ADAMTS1'in akut miyokard enfarktüsü olanlarda stabil anjinası olanlardan çok daha yüksek olduğunu, ADAMTS4 ve -5 sonuçlarının anlamlı bir fark göstermediğini bulmuşlardır.

Eklem hastalıklarında enflamasyon biomarkerı olarak ADAMTS üyelerinin rolünü incelemek için yapılan bir çalışmada, sinoviyal sıvıdaki ADAMTS4 düzeylerinin enflamasyonla ve dizdeki efüzyon zorluğu ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Roberts ve ark. 2015).

ADAMTS genlerinin hiç olmadığı yada kusurlu olduğu durumlarda ciddi hastalık tabloları ortaya çıkmaktadır (Somerville ve ark. 2003, Jones ve Riley 2005). Örnek olarak ADAMTS13 geninin eksikliğinin ölümcül (Demircan ve ark. 2013) olduğu, ADAMTS9 geni taşımayan farelerin embriyonik dönemde öldüğü (Jungers ve ark. 2005), diğer ADAMTS genlerindeki mutasyonların ise bazı ciddi hastalıklara yol açtığı rapor edilmiştir (Jungers ve ark. 2005, Apte 2009).

ADAMTS enzim ailesi üyelerinin bazı hastalıklarla ilişkisine dair yapılmış olan çalışmalar dikkat çekmektedir. Paulissen ve ark. (2009)'nin hastalardan aldıkları balgam örneklerinde ADAMTS1 ve ADAMTS15 mRNA seviyelerinin azaldığını, ADAMTS inhibitörü olan TIMP-3'ün mRNA seviyesinin astım hastalarında arttığını rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada ADAMTS1'in bronşiyal dokunun yenilenmesinde görev alabileceği ve ADAMTS1 ile ADAMTS5'in astımla ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada ADAMTS9'un özafagial ve nazofaringeal kanserlerde tümör oluşumu ile ilintili olarak rol oynadığı gösterilmiştir (Lo ve ark. 2007).

Bazı ADAMTS'lerin (1,4,5,9,16 ve 18) kartilajın ana molekülü olan agrekanın parçalama özelliği bulunmaktadır (Apte 2009). Bu grup enzimlere agrekanaz denilmektedir (Fosang ve Little 2008). 1999 yılında bulunan ADAMTS4 agrekanaz-1, ADAMTS5 agrekanaz-2 olarak bilinmektedir (Tortorella ve ark. 1999).

Proteoglikanlardan versikan ve brevikanı da parçalayan agrekanazların, kas-iskelet sistemini ilgilendiren hastalıkların patogeneğinde görev aldıkları çalışmalarda gösterilmiştir (Jungers ve ark. 2005, Apte 2009, Tortorella ve ark. 2009). Osteoartritte agrekanaz seviyelerinin arttığı ve ADAMTS5 geni tahrip edilmiş farelerin kullanıldığı çalışmalarda, osteoartrite karşı direnç kazandıkları rapor edilmiştir (Glasson ve ark. 2005, Stanton ve ark. 2005).

Kuno ve ark. (1997)'nin ADAMTS gen keşfinden sonra takip eden yıllarda yapmış oldukları çalışmalarda sırasıyla ADAMTS1'in büyüme, organ oluşumu ve fertilizasyon için gerekli olduğunu, ADAMTS1'in kıkırdak ana bileşeni olan agrekanı parçaladığını, ADAMTS1 geninin mutasyona uğradığı farelerde nefropati geliştiğini, ADAMTS1'in karboksi terminal kısmının tümör önleyici özellikte olduğunu bulmuşlardır.

Enflamasyonda ADAMTS'lerin varlığı ile ilgili diş hekimliği alanında iki adet çalışma bulunmaktadır. Tayman ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada, generalize kronik periodontitis, generalize agresif periodontitis ve sağlıklı hasta gruplarından aldıkları DOS örneklerinde ADAMTS1, vasküler endotelial faktör-a (VEGF-A) ve hipoksi indüklenen faktör-1alfa (HIF-1 α) seviyelerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda ADAMTS1 ve HIF-1 α değerlerinin sağlıklı gruba kıyasla periodontitisli hastalarda belirgin şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada sağlıklı ve kronik periodontitisli gruba kıyasla generalize agresif periodontitisli grupta VEGF-A seviyesi daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, ADAMTS1 seviyesinin periodontal enflamasyon patogeneğinde doku hipoksisi ve vaskülarizasyon arasındaki korelasyonda rol oynayabileceği rapor edilmiştir.

Yılmaz ve ark. (2019) ADAMTS'lerin enflamasyon süreçlerindeki rolü ile ilgili son güncel çalışmalardan bir diğerini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, implantasyon ve protetik tedavi sonrası palatogingival apse sıvısı hücrelerinde ECM proteazlarından ADAMTS1, ADAMTS4, osteonektin ve osteopontin ekspresyonlarını araştırmışlardır. 17 hastaya ait apse sıvıları histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Histopatolojik incelemede, nötrofil hücrelerinin çekirdeğinde kromatin köprülerinin ayrılması, çekirdekte piknoz (hücre çekirdeğinin büzüşüp küçülmesi) ve apoptotik değişiklikler, sitoplazmada dejeneratif değişim ve nadiren vakuoler yapılar olduğu bildirilmiştir. ADAMTS1'in pozitif reaksiyonu, fibroblast,

plazma ve makrofaj hücrelerinde gözlemlenmiştir. ADAMTS4'ün pozitif reaksiyonu, fibroblast, osteoklast ve bazı apoptotik lökosit hücrelerinde dikkat çekmektedir. Osteoklastik hücrelerde ve polimorfonükleer hücrelerde osteopontin ekspresyonu pozitif olarak tanımlanmıştır. Osteonektin ekspresyonu, PMNL'lerde ve hipertrofik fibroblast hücrelerinde pozitif bulunmuştur. Sonuç olarak, ADAMTS1'in ve ADAMTS4'ün, alveoler kemik rezorpsiyonundaki ayırt edici özelliği ile kemik yıkımını indükleyebileceği ve bunun, akut fazdaki ECM yıkımını hızlandırabilecek osteoklastların aktivitesini destekleyebileceği rapor edilmiştir. Ayrıca, apse vakalarında iltihaplanma nedeniyle osteonektin ve osteopontin protein ekspresyonunun artmasıyla osteoklastik aktivitenin arttığı çalışma sonucunda bildirilmiştir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1 Etik Kurul Onayı

Çalışmanın yapılabilmesi için Kırıkkale Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 10.01.2017 tarih ve 02/01 karar nolu Etik Kurul Onay Belgesi (Ek 1) alındı. Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı Kliniği'ne ve diğer kliniklere tedavi için başvuran ve çalışma kriterlerine uyan hastalar, çalışma hakkında bilgi verildikten sonra, bilgilendirilmiş gönüllü onam formu (Ek 2) onaylatılarak çalışmaya dahil edildi. 18 yaş altı hastalardan izin hastanın ebeveyninden (Çocuk Hasta Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu, Ek 3) alındı. Bu çalışma TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı (Proje no: 118S841) kapsamında desteklenmiştir.

2.2 Hasta Seçimi

Çalışmaya başlamadan önce örneklem sayısının belirlenmesi amacıyla G* power 3.1.9.2 (Franz Faul, Universitat Kiel, Germany) programı kullanılarak güç analizi yapıldı. %80 güç ile ve 0.05 anlamlılık düzeyinde iki ayrı grupta yapılan ölçümlerin farklılıklarının belirlenmesi için her grupta 24 adet örneklem sayısının gerekli olduğu tespit edildi. Bu çalışmada sağlıklı pulpa doku örnekleri (Grup 1) ve enflame pulpa doku örnekleri (Grup 2) alınan hastalar olmak üzere iki grup oluşturuldu. Her grupta 24 adet olmak üzere, toplamda 48 adet pulpa doku örneği toplandı.

Çalışmaya dahil edilen hastalar; 16-50 yaş arasında kadın veya erkek hastalardan seçildi. Hasta seçimi sırasında çalışmaya katılma gönüllülüğü esas alındı. Hastalar çalışma hakkında etraflıca bilgilendirildi. Çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastalardan bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu okumaları ve doldurmaları istendi.

18 yaşından küçük hastalar için onam formu hastanın ebeveyni tarafından onaylandı. Çekim endikasyonu (profilaktik amaçla) olan üçüncü molar dişler, herhangi bir patolojiye sahip olmayan ortodontik amaçla çekilecek dişler ve protetik amaçla kök kanal tedavisi yapılacak dişlere sahip hastalar da sağlıklı pulpa doku örneklerini elde etmek için çalışmaya dahil edildi.

Enflame pulpa doku örnekleri elde edilecek hastalar, geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konulup, kök kanal tedavisine karar verilen hastalardan seçildi. Sağlıklı pulpaya sahip hastaların perküsyon hassasiyeti, spontan ağrı ve gece ağrısı bulunmazken, geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş hastalarda perküsyon hassasiyeti, spontan ağrı ve gece ağrısı tespit edildi.

Herhangi bir sistemik hastalığı (diyabet, hematoloji vb.) veya immün yetersizliği olan, son dört hafta içerisinde antibiyotik, antienflamatuar, antidepresan, bifosfanat ya da sistein kullanan ve tedavi esnasında hamile olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi (Gusman ve ark. 2002, Mente ve ark. 2016).

2.3 Pulpa Doku Örneklerinin Alınması

Sağlıklı ve geri dönüşümsüz pulpitis tanısı konmuş hastaların dişlerine lokal anestezi yapıldıktan sonra rubber-dam (Hermann Ryff, Germany) ile izolasyon sağlandı. Dişlerdeki çürük ya da eski restorasyon su soğutmalı aeratörde kullanılan 8 nolu elmas fissür frez (Dx, Dentex, Taiwan) ile uzaklaştırıldı. Pulpa odası tavanı 14 nolu çelik rond frezle (Thomas, France) mikromotor kullanılarak kaldırıldı. Steril bir ekskavatör (Silver Star, Auriga, Pakistan) ve tirnerf (VDW, Anteos, Munich, Germany) yardımı ile sağlıklı ve enflame pulpa doku örnekleri çıkartıldı.

Kök kanal tedavisi endikasyonu konulan dişlerden pulpa doku örnekleri çıkartıldıktan sonra dişlerin rutin kök kanal tedavileri için 15 nolu K tipi eğe (VDW, Munich, Germany) ile kök kanallarına giriş sağlandı ve sonra apeks bulucu (Morita Root ZX Mini, Kyoto, Japan) ile çalışma boyu tespit edildi. Kök kanal şekillendirilme ve genişletilme işlemleri X-Smart Plus (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) endomotor (Şekil 2.1) ve ProTaper Universal eğeleri (Dentsply Maillefer, Ballaigues,

Switzerland) ile yapıldı. Protaper eğeleri (S1, S2, F1, F2 ve F3) ile kök kanal şekillendirme işlemleri tamamlandı. Kök kanallarının preparasyonu esnasında ve sonrasında kanallar % 2.5 sodyum hipoklorit irigasyon solüsyonu ile yıkandı ve paper pointlerle (Sure-Endo, Suredent, Gyeonggi-do, Korea) kurutuldu. Dişlerin kanal dolum işlemleri, uygun açılı güta-perka (Sure-Endo, Suredent, Gyeonggi-do, Korea) ve kanal dolgu patı (Adseal, Meta Biomed, Mülheim an der Ruhr, Germany) ile lateral kondensasyon yöntemi kullanılarak tamamlandı. Güta-perka kök kanal girişinden itibaren ısıtılmış bir el aleti ile kesilerek uzaklaştırıldı ve uygun bir plugger yardımıyla vertikal olarak kondanze edildi. Dişlerin giriş kaviteyi fazla güta-perka ve kanal dolgu patından alkollü pamuk pelet yardımıyla temizlendi, kurutulan kaviteye bonding ajanı (Solare Universal Bond GC, Tokyo, Japan) tatbik edildi. Son olarak dişler ışıkla sertleşen kompozit rezin (GC Gradia Direct, Tokyo, Japan) kullanılarak restore edildi (Şekil 2.2).



Şekil 2.1. Endomotor ve apeks bulucu.



Şekil 2.2. Kök kanal tedavisinde kullanılan materyaller.

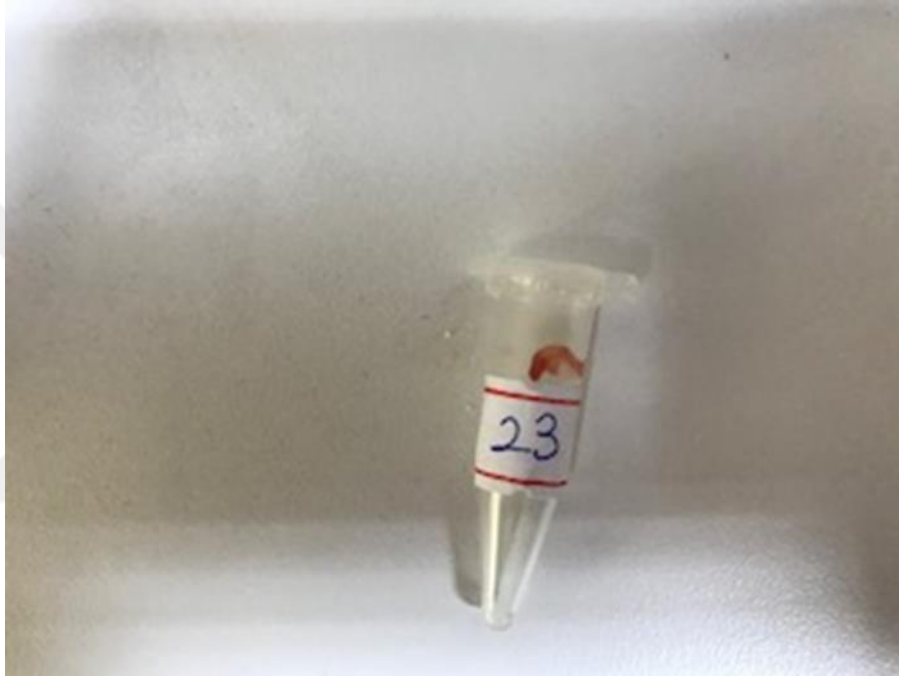
Ortodontik veya profilaktik (üçüncü molar dişler) amaçla çekim endikasyonu konulan dişler için çekimden hemen önce rubber-dam izolasyonu ile pulpa ekstirpasyonu sağlanarak sağlıklı pulpa dokuları çıkartıldı ve sonra dişlerin çekimi gerçekleştirildi. Protetik amaçla kök kanal tedavisi endikasyonu konulan dişlerin endodontik tedavisi yukarıda anlatıldığı gibi gerçekleştirildi.

Çıkarılan sağlıklı ve enflame pulpa doku örnekleri eppendorf tüplerine alınarak (Labosel, İstanbul, Türkiye) (Şekil 2.3) üzerine pH:7.2 olan 200 µl Fosfat Tamponu (PBS) eklendi ve -80 °C’de dondurucuda (Nüve DF 490, Ankara Türkiye) saklandı (Şekil 2.4).

2.4 ELİSA Testi

Tüm pulpa örnekleri elde edildikten sonra dondurucudaki örnekler çözülerek laboratuvar aşamasına geçildi. Elde edilen pulpa doku örnekleri vortekslendi (VELP

Scientifica, Usmate, Italy) (Şekil 2.5) ve ultrasonik homojenizatör (Sonics Vibra-cell, Pennsylvania, ABD) (Şekil 2.6) ile 1 dakika homojenize edildi. Homojenize edilen örnekler (Şekil 2.7) +4 °C'de 5,000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi (Hettich Micro 22R, Tuttlingen, Germany) (Şekil 2.8). Homojenattan elde edilen süpernatantlardan ELİSA yöntemi ile ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9, TIMP3 (USCN, Wuham, China) (Şekil 2.9) ve protein düzeyleri ölçüldü.



Şekil 2.3. Eppendorf tüplerinde saklanan pulpa doku örnekleri.



Şekil 2.4. Doku örneklerinin muhafaza edildiği -80 °C soğutucu.



Şekil 2.5. Çalışmada kullanılan vorteks cihazı.



Şekil 2.6. Sonics Vibra-cell ultrasonik homojenizatör.



Şekil 2.7. Homojenize edilen örnekler.



Şekil 2.8. Çalışmada kullanılan Hettich Micro 22R santrifüj cihazı.

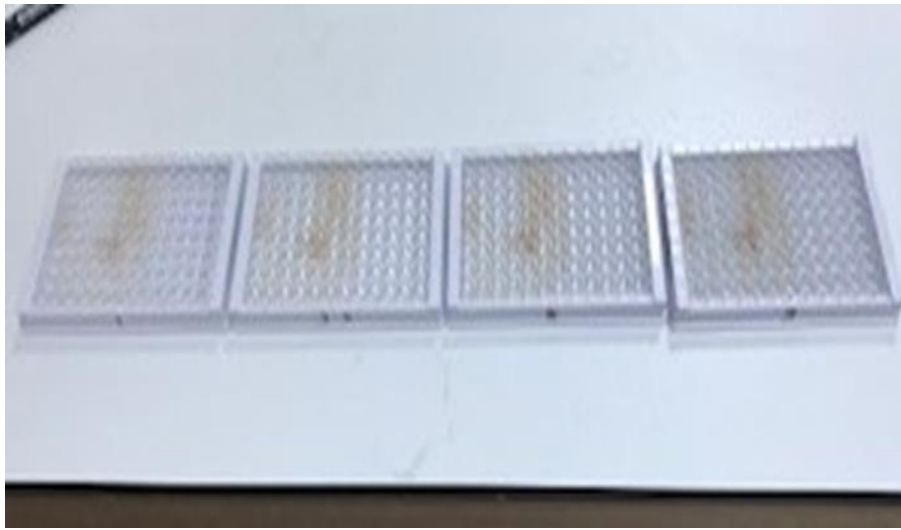


Şekil 2.9. Çalışmada kullanılan ELİSA kiti.

Pulpa dokusunda ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 ve TIMP3 düzeylerini belirlemek için aynı ticari firmanın ELİSA testi kullanıldığından yapılış prosedürü de aynıydı. ELİSA mikroplate kuyucuklarına standartlar ve örneklerden 100 µl eklenerek 37 °C’de 1 saat boyunca inkübe edildi (Şekil 2.10). Süre sonunda ELİSA otomatik yıkayıcısında (BioTek EL×50, Vinooski, VT, USA) (Şekil 2.11) plate 3 kez yıkandı. 100 µl Detection Reagent B çalışma solüsyonu eklenerek 37°C’de 1 saat inkübe edildi. Plate otomatik yıkayıcıda 5 kez yıkandıktan sonra substrat solüsyonundan 90 µl eklenip, 37 °C’de 20 dakika karanlıkta inkübe edildi. Süre sonunda 50 µl stop solüsyonu ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı (Şekil 2.12). ELİSA okuyucudan (BioTek UquantMQ×200, Vinooski, VT, USA) (Şekil 2.13) 450 nm dalga boyunda absorbanları alındı. Sonuçlar elde edilen absorbanlardan standartlara göre yapılan grafik eğrisi ile hesaplandı ve elde edilen sonuçlar ng/mL cinsinden hesaplandı.

Süpernatantlardaki protein düzeyleri Lowry yöntemi ile ölçüldü (Lowry ve ark. 1951) (Şekil 2.14). ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 ve TIMP3 sonuçları ng/mg protein olarak verildi.

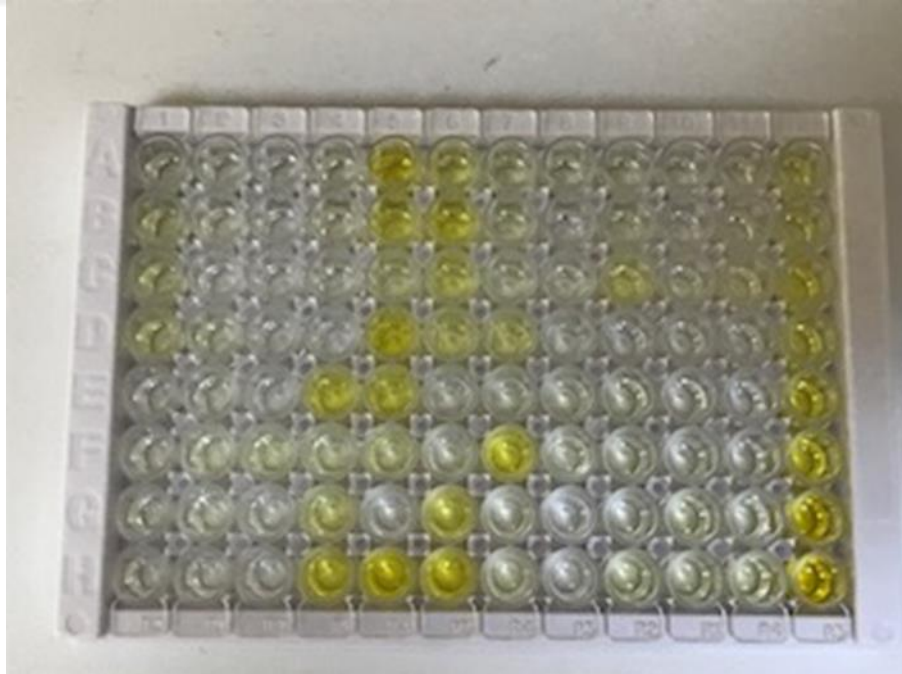
ADAMTS1 kitlerinin tahlil aralığı 1.56-100 ng/mL aralığında olup duyarlılığı 0.59 ng/mL’ dir. Bu değerler ADAMTS4 için 0.312-20 ng/mL ve 0.115 ng/mL, ADAMTS9 için 0.312-20 ng/mL ve 0.116 ng/mL, TIMP3 için de 0.156-10 ng/mL ve 0.056 ng/mL’ dir.



Şekil 2.10. İnkübe edilen örnekler.



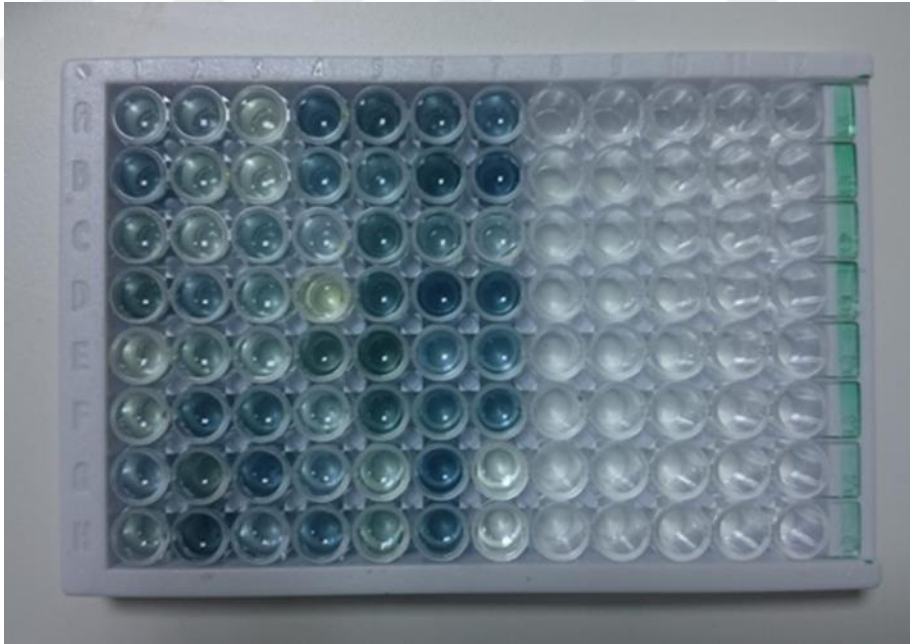
Şekil 2.11. ELİSA BioTek EL×50 otomatik yıkayıcısı.



Şekil 2.12. ELİSA kitlerine stop solüsyonu eklendikten sonraki renk değişimi.



Şekil 2.13. BioTek Uquant MQx200 ELİSA okuyucusu.



Şekil 2.14. Protein ölçümü yapılan örnekler.

2.5 İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 15.0 paket programı ile yapılmıştır (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD).

Ön analize tabi tutulan verilerin sonucuna göre parametrik ve non-parametrik test varsayımlarına uyup uymadığına bakıldı. Varyans homojenite testi olarak Levene Testi, normalite testi olarak Shapiro Wilk Testi uygulandı. Parametrik veriler için bağımsız örneklem t testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA), non-parametrik veriler için Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı. Tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi olarak 0,05 kullanıldı ve $p < 0,05$ olması durumunda anlamlı farklılığın olduğu kabul edildi.

Sağlıklı ve enflame gruplar arası medyatör seviyeleri normal dağılım göstermediği için non-parametrik testler, cinsiyet ve yaş gruplarına göre ADAMTS1 normal dağılım gösterdiği için parametrik (t testi) test ve diğer medyatörler normal dağılım göstermediği için non-parametrik testler kullanıldı.

Sağlıklı grup içerisinde cinsiyet için ADAMTS1 ve ADAMTS9 normal dağılım göstermediğinden non-parametrik testlerle, ADAMTS4 ve TIMP3 normal dağılım gösterdiğinden parametrik testlerle analizler yapıldı. Sağlıklı grup içerisinde yaş grupları için ADAMTS9 parametrik testlerle, diğer medyatörler non-parametrik testlerle analiz edildi.

Enflame grup içerisinde cinsiyet ve yaş için ADAMTS1 ve ADAMTS4 normal dağılım gösterdiğinden parametrik testlerle, ADAMTS9 ve TIMP3 normal dağılım göstermediğinden non-parametrik testlerle analiz edildi.

3. BULGULAR

3.1 Klinik Bulgular

Çalışmaya n=24 olmak üzere sağlıklı (Grup 1) ve enflame (Grup 2) dental pulpaya sahip toplam 48 hasta dahil edilmiştir. Hastalara ait cinsiyet, yaş ve diş numara bilgileri Tablo 3.1' de verilmiştir. Sağlıklı pulpaya sahip Grup 1 hastalarının yaş ortalaması 21.2 yıl iken, enflame pulpaya sahip Grup 2 hastalarının yaş ortalaması 23.6 yıldır. Grup 1'deki 24 hastadan 14'ü kadın (%58), 10'u erkek (%42); Grup 2'deki 24 hastadan 16'sı kadın (%67), 8'i erkek (%33)'tir.

Tablo 3.1. Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyet, yaş, diş numarası ile ilgili verileri.

	GRUP 1			GRUP 2		
	<i>Cinsiyet</i>	<i>Yaş</i>	<i>Diş</i>	<i>Cinsiyet</i>	<i>Yaş</i>	<i>Diş</i>
1	Erkek	22	12	Kadın	24	17
2	Kadın	21	12	Kadın	19	27
3	Kadın	21	21	Kadın	19	36
4	Kadın	27	14	Kadın	19	25
5	Erkek	23	14	Erkek	19	26
6	Erkek	18	13	Erkek	19	46
7	Kadın	26	11	Erkek	20	26
8	Erkek	19	11	Kadın	19	46
9	Erkek	18	15	Erkek	21	37
10	Erkek	22	14	Kadın	23	47
11	Erkek	23	12	Kadın	28	46
12	Erkek	24	13	Kadın	18	16
13	Kadın	20	11	Kadın	19	36
14	Kadın	20	34	Kadın	31	26
15	Kadın	17	44	Kadın	16	46
16	Kadın	26	11	Kadın	18	46
17	Kadın	16	14	Kadın	34	17
18	Kadın	27	23	Erkek	44	15
19	Kadın	17	34	Kadın	27	16
20	Kadın	17	44	Kadın	16	14
21	Kadın	18	25	Erkek	25	46
22	Erkek	34	48	Kadın	40	13
23	Erkek	16	15	Erkek	24	15
24	Kadın	17	15	Erkek	26	26
	ORTALAMA	21.2		ORTALAMA	23.6	

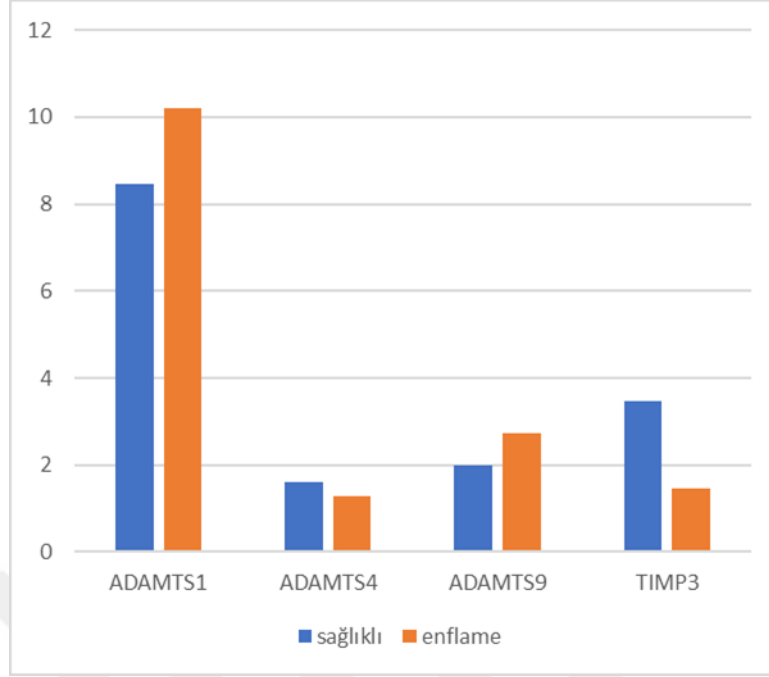
ELİSA testi ile iki grup pulpa örneklerinde de ölçülebilir ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 ve TIMP3 düzeyleri tespit edildi. Sağlıklı ve enflame dış gruplarındaki örneklerin ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 ve TIMP3 ortalama düzeyleri ve standart sapmaları Tablo 3.2’de gösterilmiştir. Bu verilerin grafiksel olarak gösterimi ise Şekil 3.1’de verilmiştir.

Sağlıklı ve enflame gruplar karşılaştırıldığında ADAMTS1, ADAMTS9 ve TIMP3 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ortaya konuldu ($p<0.05$). Enflame pulpa grubunda sağlıklı pulpa grubuna göre ADAMTS1 ve ADAMTS9 düzeyi anlamlı bir şekilde yüksek bulunurken, TIMP3 düzeyi ise anlamlı bir şekilde daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Sağlıklı ve enflame pulpa grupları karşılaştırıldığında ADAMTS4 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0,05$) (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Tüm örneklerde medyatör miktarlarındaki değişim.

Pulpa	Sağlıklı grup (n=24)	Enflame grup (n=24)
ADAMTS1	8,45±0,57 ^a	10,21±0,49 ^b
ADAMTS4	1,62±0,21 ^a	1,28±0,14 ^a
ADAMTS9	1,98±0,20 ^a	2,74±0,25 ^b
TIMP3	3,46±0,43 ^a	1,45±0,16 ^b

*Aynı satırda aynı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).



Şekil 3.1. Örneklerdeki ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 ve TIMP3 miktarlarının gruplara göre dağılımı

Cinsiyete göre medyatör miktarlarının ortalama ve standart sapmaları Tablo 3.3'de gösterilmektedir. Cinsiyetle medyatör miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu ($p>0,05$). Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da kadınlarda medyatör miktarlarının erkeklere kıyasla yüksek olduğu belirlendi.

Tablo 3.3. Cinsiyete göre tüm örneklerde medyatör miktarındaki değişim.

Cinsiyet	Erkek (n=18)	Kadın (n=30)
ADAMTS1	8,68±0,65 ^a	9,73±0,49 ^a
ADAMTS4	1,36±0,13 ^a	1,50±0,19 ^a
ADAMTS9	2,03±0,14 ^a	2,56±0,25 ^a
TIMP3	2,43±0,47 ^a	2,47±0,33 ^a

*Aynı satırda aynı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Yaş aralıklarına göre medyatör miktarlarının ortalama ve standart sapmaları Tablo 3.4'te gösterilmiştir. Yaş aralıklarına göre tüm örneklerde medyatör miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu ($p>0,05$).

Tablo 3.4. Yaş aralıklarına göre tüm örneklerde medyatör miktarındaki değişim.

Yaş	20 yaş ve altı (n=24)	21-30 (n=19)	31-40 (n=5)
ADAMTS1	9,61±0,52 ^a	8,84±0,67 ^a	9,88±1,33 ^a
ADAMTS4	1,43±0,15 ^a	1,50±0,25 ^a	1,34±0,31 ^a
ADAMTS9	2,35±0,23 ^a	2,43±0,31 ^a	2,12±0,25 ^a
TIMP3	2,67±0,35 ^a	2,28±0,51 ^a	2,06±0,41 ^a

*Aynı satırda aynı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Sağlıklı grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde cinsiyete göre medyatör miktarlarının ortalama ve standart sapmaları Tablo 3.5'te gösterilmiştir. Sağlıklı grup içerisinde cinsiyete göre tüm medyatör düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$).

Tablo 3.5. Sağlıklı grup içerisinde cinsiyete göre medyatör değişimleri (n=24).

Cinsiyet	Erkek (n=10)	Kadın (n=14)
ADAMTS1	7,11±0,54 ^a	9,42±0,82 ^a
ADAMTS4	1,19±0,17 ^a	1,92±0,31 ^a
ADAMTS9	1,98±0,23 ^a	1,98±0,30 ^a
TIMP3	3,42±0,70 ^a	3,48±0,55 ^a

*Aynı satırda aynı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Sağlıklı grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde yaş aralıklarına göre medyatör miktarlarının ortalama ve standart sapmaları Tablo 3.6'da gösterilmiştir. Sağlıklı grup içerisinde yaş aralıklarına göre tüm medyatör düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). Sağlıklı grupta yaş aralıklarında n=23 tür. Çünkü 31-40 yaş aralığında bir örnek bulunduğu için bu grup istatistiksel analize dahil edilmemiştir.

Tablo 3.6. Sağlıklı grup içerisinde yaş aralıklarına göre medyatör değişimleri (n=23)*.

Yaş	20 yaş altı (n=12)	21-30 (n=11)
ADAMTS1	9,17±0,70 ^a	7,85±0,96 ^a
ADAMTS4	1,64±0,25 ^a	1,66±0,37 ^a
ADAMTS9	1,92±0,22 ^a	2,07±0,37 ^a
TIMP3	3,87±0,43 ^a	3,09±0,80 ^a

*31-40 grubu 1 adet olduğu için çıkartıldı.

**Aynı satırda aynı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0,05).

Enflame grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde cinsiyete göre medyatör miktarlarının ortalama ve standart sapmaları Tablo 3.7’de gösterilmiştir. Enflame grup içerisinde cinsiyete göre ADAMTS9 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunurken (p<0,05), diğer medyatör düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0,05). Enflame grupta kadınlarda erkeklere kıyasla ADAMTS9 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu (p<0,05).

Tablo 3.7. Enflame grup içerisinde cinsiyete göre medyatör değişimleri (n=24).

Cinsiyet	Erkek (n=8)	Kadın (n=16)
ADAMTS1	10,64±0,91 ^a	10,00±0,59 ^a
ADAMTS4	1,58±0,19 ^a	1,13±0,18 ^a
ADAMTS9	2,09±0,12 ^a	3,07±0,35 ^b
TIMP3	1,18±0,19 ^a	1,59±0,21 ^a

*Aynı satırda aynı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0,05).

Enflame grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde yaş aralıklarına göre medyatör miktarlarının ortalama ve standart sapmaları Tablo 3.8’de gösterilmiştir. Enflame grupta yaş aralıklarına göre tüm medyatör düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (p>0,05).

Tablo 3.8. Enflame grup içerisinde yaş aralıklarına göre medyatör değişimleri(n=24).

Yaş	20 yaş ve altı (n=12)	21-30 (n=8)	31-40 (n=4)
ADAMTS1	10,05±0,78 ^a	10,20±0,70 ^a	10,71±1,35 ^a
ADAMTS4	1,23±0,16 ^a	1,28±0,31 ^a	1,44±0,38 ^a
ADAMTS9	2,79±0,37 ^a	2,92±0,49 ^a	2,24±0,28 ^a
TIMP3	1,47±0,24 ^a	1,17±0,15 ^a	1,96±0,52 ^a

*Aynı satırda aynı küçük harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0,05).

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Mekanik, kimyasal veya fiziksel iritanlara cevap olarak pulpa enflamasyonu meydana gelir ve buna pulpitis denilmektedir. Klinik tanı ile pulpitisin sınıflandırılması enflamasyonun tipi ve şiddetine dayanmaktadır (hiperemik pulpitis, akut pulpitis ve kronik pulpitis) (Abbott ve Yu 2007). Ancak çalışmalarda, bu sınıflandırmanın doğru olmadığı ve pulpa dokusunun histolojik değişimleri ile zayıf korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Seltzer ve ark. 1963, Baume 1970, Garfunkel ve ark. 1973, Ricucci ve ark. 2014).

Pulpitisin genel kabul gören ve en çok kullanılan sınıflandırması tedavi prognozunu esas almaktadır (Torabinejad ve Shabahang 2009). Buna göre iritanın uzaklaştırılmasından sonra pulpa normal sağlığına geri dönebiliyorsa geri dönüşümlü pulpitis, pulpanın normal sağlığına geri dönme şansı olmadığına ise geri dönüşümsüz pulpitis olarak sınıflandırılmaktadır. Geri dönüşümsüz pulpitis vakalarında pulpanın kısmi ya da total olarak eksizyonu söz konusudur (Ricucci ve ark. 2014). Dolayısıyla histolojik bulgular olmaksızın sadece klinik bulgulara dayanarak vital pulpa tedavileri ya da kök kanal tedavisi arasında seçim yapmak klinik bir tartışma konusudur (Anderson ve ark. 1981).

Pulpa hastalıklarının teşhisi için yöntemler hala çok sınırlıdır. Temel olarak klinisyenler, hastanın dental öykü ve şikayetlerinden elde ettikleri subjektif verilerle, inspeksiyon, perküsyon, pulpa vitalite testleri ve radyografik incelemeyle elde ettikleri objektif verileri birleştirerek pulpanın muhtemel durumunu anlamaya çalışmaktadırlar. Pulpanın klinik ve histolojik durumu arasındaki korelasyon araştırmacıların çalışmalarına konu olmaya devam etmektedir. Çürüğe cevap olarak oluşan pulpa enflamasyonunun geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olduğunun belirlenmesinde pulpa ekspozunun önemi de belirtilmiştir (Ricucci ve Siqueira 2013). Baume (1970) 270 adet pulpa üzerinde yapmış olduğu çalışma sonucunda pulpanın çeşitli kısımlarında farklı koşulların bir arada bulunduğunu ve pulpitisin tek bir tanısının mümkün olmadığını, klinik incelemeye dayalı olarak pulpanın histolojik durumu hakkında bilgi sahibi olunamayacağını rapor etmiştir. Dummer ve ark. (1980)

yapmış oldukları çalışmada klinik belirti veya semptomların pulpanın histolojik durumu ile açık bir ilişki içinde olmadığını belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışmada klinik olarak normal pulpa, geri dönüşümlü pulpitis ve geri dönüşümsüz pulpitis şeklinde sınıflandırılan 95 adet diş histolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Prognoz açısından benzer şartlar gösterdikleri için normal/geri dönüşümlü pulpa aynı grup olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz pulpa değerlendirildiğinde, klinik ve histolojik tanı arasında yüksek oranda korelasyon olduğu bildirilmiştir (Ricucci ve ark. 2014). Her ne kadar bu çalışmada yüksek oranda korelasyon olduğu bildirilse de, normal ve geri dönüşümlü pulpa grubunun aynı grup kabul edilerek birleştirilmesi bu sonuca etki etmiş olabilir. Ayrıca pulpanın klinik ve histolojik durumu arasında %100 bir korelasyon gösterilememiş ve hala klinik ve histolojik tanısı farklı olan pulpalara da rastlanmıştır. Pulpada bulunan farklı medyatör miktarlarının değişimlerini tespit etmek, histolojik inceleme yapılmadan pulpa hastalıklarında diagnostik bir biyomarker geliştirilebilmesine önemli bir katkı sağlayacağı için bu tür çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Pulpanın enflamatuar sürecinde görev alan medyatörler; nöropeptitler, sitokinler ve enzimler olarak gruplandırılabilir. Bu medyatörler pulpanın histolojik durumu hakkında bilgi verebilir. Bununla ilgili sağlıklı ve enflame pulpa doku örneklerinde bu medyatörlerin değerlendirildiği birçok çalışma yapılmış ve farklı medyatör düzeyleri incelenmiştir.

Pulpa dokusunda bulunan peptitler; SP, NKA, CGRP, Nöropeptit Y, Vazoaktif İntestinal Peptit'tir (Caviedes-Bucheli ve ark. 2008). Pulpada ilk tanımlanan ise SP'dir (Olgart ve ark. 1977). Nöropeptitler pulpanın fibroblastlarında eksprese olurlar ve enflamasyon, tamir ve anjiogenezde rol oynarlar. Yapılan çalışmalarda pulpal enflamasyon ve tamirde nöropeptitlerin anjiyojenik büyüme faktörlerini regüle ettiği rapor edilmiştir (El Karim ve ark. 2009). Akut ve sağlıklı pulpa doku örneklerinde SP, NKA, CGRP değerlerinin araştırıldığı bir çalışmada çekilmiş ve endodontik tedavi görmüş 46 adet diştten alınan örnekler radyoimmunoassay yöntemiyle incelenmiş ve sonuç olarak sağlıklı pulpa doku örneklerine kıyasla akut pulpada SP, NKA ve CGRP seviyeleri daha yüksek bulunmuştur (Awawdeh ve ark. 2002). Sağlıklı ve hastalıklı pulpa örneklerinde yapılan bir başka çalışmada SP ekspresyonu ve bildirilen ağrı öyküsü ile arasında ilişki araştırılmıştır. Bahsi geçen çalışmada alt molar dişlerden

alınan 62 adet pulpa doku örneği dişlerin çürük durumuna göre (sağlıklı, orta derecede ve geniş çürüklü olarak) sınıflandırılmış ve geniş çürüğe sahip dişler semptomatik ve asemptomatik olarak da ikiye ayrılmıştır. Çürüklerin seviyesi ile SP ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. Ayrıca, SP ekspresyonunun geniş çürüklü ağırlı örneklerde, geniş çürüklü asemptomatik örneklerle göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu veriler sonucunda araştırmacılar, hem çürük hem de enflamasyon ve ağrı seviyesinin artışıyla pulpadaki SP ekspresyonunun arttığını rapor etmişlerdir (Rodd ve Boissonade 2000).

Enflamasyonda en önemli sitokinler; IL ve TNF- α 'dır. Dental pulpanın hasarından sonra bazı hücreler, enflamatuvar süreci başlatmak ve kontrol etmek için sitokinler üretirler. Üçüncü molar dişlerden elde edilen sağlıklı pulpa doku örnekleri ile kanal tedavisi yapılan dişlerden toplanan enflame pulpa doku örneklerinde IL-1 β ve IL-8 düzeyleri araştırıldığında, enflame örneklerde bu medyatörlerin belirgin seviyede daha yüksek olduğu sonucu bulunmuştur (Silva ve ark. 2009). Sağlıklı, çürükle ekspoz olan asemptomatik ve geri dönüşümsüz pulpadan toplanan pulpal kan örneklerinde çeşitli sitokin (IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α ve interferon-gama) seviyeleri değerlendirilmiş ve bulunan sonuçların pulpal enflamasyonun tanısına yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Elsalhy ve ark. 2013). Yine sağlıklı ve enflame pulpal dokularda düzeyleri araştırılan bir başka medyatör de polimorfonükleer nötrofil elastaz, polimorfonükleer nötrofil catepsin G ve α 2-makroglobülin'dir. 21 örneğin incelendiği çalışmada sağlıklı grupta elastaz, catepsin G ve α 2-makroglobülin arasında belirgin bir korelasyon bulunmadığı, enflame grupta catepsin G ve α 2-makroglobülin arasında ise korelasyon olduğu sonucuna varılmıştır (Rauschenberger ve ark. 1994).

ECM komponentlerinden, matriksin yapımı ve yıkımı işlemlerinde rolü olduğu bilinen ve enzim olarak sınıflandırılan MMP'lar hakkında sağlıklı ve pulpitisli dişlerde birçok çalışma yapılmıştır. Gusman ve ark. (2002) MMP-1, -2, -3 ve -9 düzeylerini araştırdıkları çalışmalarının sonucunda MMP-2 ve MMP-3'ün semptomatik pulpada daha düşük, MMP-9'un ise daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Her iki grupta MMP-1 ise tespit edilememiştir. Klinik olarak sağlıklı ve enflame dental pulpada MMP-1 ve -13'ün değerlendirildiği bir başka çalışmada enflamasyon durumunda MMP-13'ün yüksek olduğu bildirilmiş ve MMP-1 ve -13 pulpanın ana kollejenazları olarak kabul edilmiştir (Evrosimovska ve ark. 2012). Normal pulpa ile akut pulpitisli

dişlerde MMP-1, -2 ve -3 konsantrasyonunun incelendiği bir çalışmada, bu enzimler akut pulpitiste sağlıklı pulpa dokusuna kıyasla önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (Shin ve ark. 2002). Mente ve ark. (2016)'nın hastaları dört klinik gruba ayırdıkları çalışmalarında pulpa kan örneklerinde MMP-9 seviyelerini araştırmışlar ve bu medyatörün pulpal enflamasyonda belirleyici rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Sağlıklı ve enflame pulpa doku örneklerinde nöropeptit, sitokin ve enzim seviyelerinin araştırıldığı geniş kapsamlı bir diğer çalışmada, SP, NKA, IL-8 ve MMP-8 düzeyleri incelenmiş ve sonuç olarak sağlıklı pulpa grubuna göre tüm medyatör miktarlarının enflame grupta anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirtilmiştir (Dinçer 2019).

Son zamanlarda tıp biliminde sağlık ve hastalık durumunda incelenen ve MMP ailesinin bir alt üyesi olarak kabul edilen ADAMTS üyeleri ile ilgili diş hekimliği alanında literatürde sadece iki çalışmaya rastlanmıştır. Bu iki çalışmanın birisi apse sıvısında diğeri ise DOS'ta ADAMTS seviyelerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalardır (Tayman ve ark. 2019, Yılmaz ve ark. 2019). Dental pulpanın enflamatuar sürecinde ADAMTS'lerin rol alıp almadığına ilişkin olarak literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmadığından bu çalışmanın yapılması planlanmıştır.

Daha önce sağlıklı ve enflame dental pulpa kan ve doku örneklerinde farklı enflamatuar medyatör düzeylerine bakılan çalışmalarda, çalışmaya dahil edilen hastalar için bazı hususlar dikkate alınmıştır. Bender (2000)'in pulpal ağrı diagnozu ile ilgili derlemesinde belirlediği tanı kriterleri, klinik ve radyografik incelemeler, hastanın ağrı geçmişi ve bununla ilgili aldığı ilaçlar bu çalışmanın hasta seçim kriterlerine ışık tutmuştur. Herhangi bir sistemik hastalığı (diyabet, hematoloji vb.) veya immün yetersizliği olan, son dört hafta içerisinde antibiyotik, antienflamatuar, antidepresan, bifosfanat ya da sistein kullanan ve tedavi esnasında hamile olan hastalar çalışmaya dahil edilmeyerek elde edilen doku örneklerinin güvenilirliğinin artması hedeflenmiştir. Yine aynı şekilde doku örneklerinin histolojik özelliklerini belirli bir standartta tutmak için bu çalışmada hasta seçimi 16-50 yaş aralığı ile sınırlandırılmıştır.

Bu çalışmada ortodontik veya profilaktik (üçüncü molar dişler) amaçla çekim endikasyonu konulan dişlerden diş çekiminden hemen önce rubber-dam izolasyonu altında giriş kavitesi açılarak sağlıklı pulpa doku örnekleri alınmıştır. Böylece sağlıklı

pulpa doku örneklerinin diş çekiminden dolayı travmatize olması engellenmiş ve buna bağlı medyatör seviye değişimlerinin önüne geçilmiştir.

Sağlıklı pulpa doku örneklerinin klinik ve radyografik olarak sağlıklı pulpa tanımına uymasına (herhangi bir patoloji, restorasyon ve ağrı hikayesine sahip olmayan, periodontal olarak sağlıklı olan) dikkat edilmiştir. Enflame pulpa doku örnekleri ise özellikle geri dönüşümsüz pulpitis semptomları gösteren (spontan ağrı, gece ağrısı olan, perküsyonda pozitif cevap veren) dişlerden toplanmıştır.

Bu çalışmada toplanan pulpa doku örneklerinin tükürük ile kontaminasyonunu, çeşitli bakterilerin ekstraktlarının ve lipopolisakkaritlerinin dokularda enflamasyon cevabı oluşturması ile medyatör düzeylerinin hatalı artması ve yanlış sonuçlara sebep vermesini önlemek için dişlere rubber-dam uygulanarak izolasyona dikkat edilmiştir.

Enflame ve sağlıklı pulpa dokusunda çeşitli medyatör ekspresyonlarının incelendiği çalışmalarda toplanılan örneklerin saklandıkları koşullara uygun olarak bu çalışmada kullanılan örnekler salin eklenen eppendorf tüplerinde -80 °C'de soğutucuda saklanmıştır (Huang ve ark. 1999, Gusman ve ark. 2002).

ELİSA testi, radyoimmunoassay, immunoflorometrik test gibi analiz yöntemleri çeşitli medyatör miktarlarının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Klinik çalışmalarda kararsız izotoplar kullanılmadan uygulanması, pahalı ekipmanlara gerek kalmadan, tekrarlayan işaretleme, test ve standardizasyon gerektirmeyen ELİSA testi bu avantajları sayesinde etkili ve güvenilir bir metod olarak kabul edilmektedir (Yolken 1980). Bu çalışmada da örneklerde medyatör seviyelerini belirleme tekniği olarak ELİSA testi kullanılmıştır.

Pulpa fibroblastları dentin ve diğer bağ dokularından büyük ölçüde farklı olan karmaşık bir ECM üretir. Pulpada, büyük hücreler arası boşluklar tip I ve tip III kollajen fibrilleri (sırasıyla % 56 ve % 41) içerir. Tip V (% 2) ve IV kollajen (% 0.5) de daha az miktarda bulunur. Kollajen olmayan ECM bileşenlerinde farklılıklar, pulpa ve dentin arasında da mevcuttur. Hem pulpa hem de serum orijinli fibronektin, pulpada yaygındır. Kondroitin 4- ve 6-sülfat (% 60), dermatan sülfat (% 34) ve keratan sülfat (% 2) GAG'ları protein yapıları ile ilişkilidir ve sonuç olarak, pulpada proteoglikanlar olarak bulunur. Proteoglikanlar arasında, decorin, biglycan ve versikan mevcuttur (Goldberg ve Smith 2004). ECM'deki proteoglikanları yıkan ADAMTS'ler hem memelilerde hem de omurgasızlarda bulunan MMP ailesine ait proteolitik enzimlerdir

(Mazzoni ve ark. 2009). Kuno ve ark. (1997) tarafından keşfedilen ve enflamatuar süreçler gibi birçok önemli olayda rol oynadığı düşünülen ADAMTS ailesi, domainlerinin organizasyonuna, protein ve gen diziliminin korunmuşluğuna ve seçtikleri substratlara göre gruplandırılmıştır. Bu çalışmada, pulpa ECM bileşenlerinden decorin, biglycan ve versikanın pulpal enflamasyon varlığında degradasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülen ADAMTS1, ADAMTS4 ve ADAMTS9 düzeyleri araştırılmıştır.

ADAMTS'ler metalloproteinazların doku inhibitörleri olarak bilinen TIMP ile inhibe edilirler. TIMP'lar, ADAM ve ADAMTS'e karşı seçici davranmaktadırlar. TIMP3 şu an için bilinen en etkili ADAMTS inhibitörüdür (Apte 2009). ADAMTS4 ve ADAMTS5'in, TIMP3 tarafından inhibisyonu sağlanırken, ADAMTS1'in TIMP2 ve TIMP3 tarafından kısmen inhibe edildiği gözlemlenmiştir (Baker ve ark. 2002, Handsley ve Edwards 2005, Cawston ve Wilson 2006). Bundan dolayı bu çalışmada inhibitör olarak ADAMTS inhibitörü TIMP3 düzeyinin belirlenmesine karar verilmiştir.

19 üyeden oluşan ADAMTS ailesinin ilk bulunan ve üzerinde en fazla çalışma yapılan üyesi ADAMTS1'dir. Kuno ve ark. (1997)'nin ADAMTS gen keşfinden sonra takip eden yıllarda yapmış oldukları çalışmalarda sırasıyla ADAMTS1'in büyüme, organ oluşumu ve fertilizasyon için gerekli olduğu (Shindo ve ark. 2000) ve kırıkta ana bileşeni olan agrekanı parçaladığı bildirilmiştir (Kuno ve ark. 2000). ADAMTS1 geninin mutasyona uğradığı farelerde nefropati geliştiği (Yokoyama ve ark. 2002) ve ADAMTS1'in karboksi terminal bölümünün tümör önleyici özellikte olduğunu bulmuşlardır (Kuno ve ark. 2004). Molar dişlerin sürmesi sırasında dental pulpada, odontoblastlar, sementoblastlar, sementositler, periodontal ligament hücreleri, osteoblastlar ve osteositlerde ADAMTS1, -4, -5 ve versikan mRNA ekspresyonunu tanımlanmıştır (Sone ve ark. 2005).

Bu çalışmanın sonucunda, sağlıklı pulpa doku örneklerine kıyasla enflame pulpa doku örneklerinde ADAMTS1 ve -9 düzeylerinin arttığı, TIMP3 düzeyinin azaldığı ve ADAMTS4 düzeyinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur.

Tüm örnekler değerlendirildiğinde cinsiyet ve yaş aralıklarına göre ADAMTS1, -4, -9 ve TIMP3 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Enflame grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde cinsiyete göre

ADAMTS9 düzeyi kadınlarda erkeklere kıyasla anlamlı bir şekilde yüksek bulunurken, enflame ve sağlıklı gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde ise cinsiyet ve yaş aralıklarına göre diğer medyatörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Miyokardit çeşitli etyolojik faktörler sonucu oluşur ve kalp kasının enflamasyonu olarak tanımlanır (Feldman ve McNamara 2000). Shen ve ark. (2007) viral miyokarditin önemli etkenlerinden biri olan Cocksackie virus B3 ile farelerde akut ve kronik miyokardit modeli oluşturdukları çalışmalarında ADAMTS1'in ekspresyonunu araştırmışlardır. Sonuç olarak, ADAMTS1'in akut ve kronik miyokarditte arttığı ve kollajen metabolizmasının düzenlenmesi ile ilgili olarak miyokardiyal fibrozis patogenezinde rol alabileceği belirtilmiştir. Miyokardın enflamasyonu durumunda ADAMTS1'in eksprese olması sonucu, bu çalışmada elde edilen pulpanın enflamasyon sürecinde ADAMTS1 düzeyindeki artış ile uyumludur.

Ateroskleroz; genetik faktörler, tip2 diyabet, sigara, hipertansiyon gibi etkenlerin damar endotelinde hasar oluşturmasıyla meydana gelen enflamatuvar bir hastalıktır (Salter ve ark. 2010). ADAMTS1'in anjiyogenezi ve endotel hücrelerinin çoğalmasını (VEGF inhibe ederek) engelleyerek aterosklerozda etkisini gösterdiği yapılan çalışmalar sonucunda belirtilmiştir (Luque ve ark. 2003). Pelisek ve ark. (2015) stabil ve unstabil ateroskleroz plaklar üzerine yapmış oldukları çalışmada, ADAMTS1, -4, -5 ve -13'ün mRNA ekspresyonunu incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, ADAMTS1'in mRNA ekspresyonunun unstabil plaklarda stabil plaklara oranla arttığını ve ateroskleroz gelişiminde önemli rol oynayabileceğini; ADAMTS4'ün ise ekspresyonunun arttığını ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç ifade etmediğini belirtmişlerdir. Ateroskleroz ile ilgili çalışmalarda ADAMTS1'in artışı (Luque ve ark. 2003, Pelisek ve ark. 2015) ve ADAMTS4 seviyesinin anlamlı olarak değişmediği sonucu (Pelisek ve ark. 2015) bu çalışmanın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Lee ve ark. (2011)'nin akut miyokard enfarktüsü ya da stabil anjinası olan hastalarda ADAMTS1, -4 ve -5 mRNA ekspresyonunu karşılaştırdıkları çalışmalarında, ADAMTS1'in akut miyokard enfarktüsü olanlarda stabil anjinası olanlardan çok daha yüksek olduğunu, ADAMTS4 ve -5 sonuçlarının anlamlı bir fark

göstermediğini bulmuşlardır. Bu sonuç, bizim yaptığımız pulpal enflamasyonda hem ADAMTS1, hem de ADAMTS4 düzeylerindeki sonuçlarla uyumludur.

Eklem hastalıklarında enflamasyon biyomarkeri olarak ADAMTS üyelerinin rolünü incelemek için yapılan bir çalışmada, sinoviyal sıvıdaki ADAMTS4 düzeyinin enflamasyonla ve dizdeki efüzyon zorluğu ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Roberts ve ark. 2015). Yapılan bir başka çalışmada ADAMTS9'un özafagial ve nazofaringeal kanserlerde tümör oluşumu ile ilintili olarak rol oynadığı gösterilmiştir (Lo ve ark. 2007). Miyokardit, ateroskleroz, artrit, kanser gibi enflamatuvar süreçlerle seyreden hastalıklarda elde edilen sonuçlarla, bu çalışmada pulpal enflamasyonda ADAMTS üyelerinden -1, -4 ve -9'un etkileri bulunan sonuçlar ile uyumludur.

Çalışmamızda pulpal enflamasyon durumunda ADAMTS1 düzeyinde artış gözlenmiştir. Daha önce sağlıklı ve enflame pulpa dokularında ADAMTS üyelerine bakılan herhangi bir çalışma olmadığından karşılaştırılabilecek veri bulunmamaktadır. Ancak periodontal enflamasyon gibi oral kaviteyi ilgilendiren enflamatuvar hastalıklarda yapılan bir çalışmayla kıyaslanabilir. Bu bağlamda ADAMTS1 seviyesinin periodontal enflamasyon patogenezinde doku hipoksisi ve vaskülarizasyon arasındaki korelasyonun incelendiği bir çalışma mevcuttur (Tayman ve ark. 2019). Generalize kronik periodontitis, generalize agresif periodontitis ve sağlıklı hasta gruplarından aldıkları DOS örneklerinde ADAMTS1, VEGF-A ve HIF-1 α seviyelerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda ADAMTS1 ve HIF-1 α değerlerinin sağlıklı gruba kıyasla periodontitisli hastalarda belirgin şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada sağlıklı ve kronik periodontitisli gruba kıyasla generalize agresif periodontitisli grupta VEGF-A seviyesi daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak ADAMTS1 seviyesinin periodontal enflamasyon patogenezinde doku hipoksisi ve vaskülarizasyon arasındaki korelasyonda rol oynayabileceği rapor edilmiştir. Bu sonuç, bizim çalışmamızda ADAMTS1 düzeyinin artışı ile benzerlik göstermektedir.

Yılmaz ve ark. (2019)'nın ADAMTS'lerle ilgili yapmış oldukları çalışmalarında, implantasyon ve protetik tedavi sonrası palatogingival apse sıvısı hücrelerinde ECM proteazlarından ADAMTS1, ADAMTS4, osteonektin ve osteopontin ekspresyonlarını araştırmışlardır. 17 adet hastaya ait apse sıvıları histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Histopatolojik incelemede, nötrofil hücrelerinin çekirdeğinde kromatin köprülerinin ayrılması, çekirdekte piknoz (hücre

çekirdeğinin büzüşüp küçülmesi) ve apoptotik değişiklikler, sitoplazmada dejeneratif değişim ve nadiren vakuoler yapılar olduğu bildirilmiştir. ADAMTS1'in pozitif reaksiyonu, fibroblast, plazma ve makrofaj hücrelerinde gözlemlenirken, ADAMTS4'ün pozitif reaksiyonu, fibroblast, osteoklast ve bazı apoptotik lökosit hücrelerinde dikkat çekmektedir. Osteoklastik hücrelerde ve polimorfonükleer hücrelerde osteopontin ekspresyonu pozitif olarak tanımlanmıştır. Osteonektin ekspresyonu, PMNL'lerde ve hipertrofik fibroblast hücrelerinde pozitif bulunmuştur. Sonuç olarak, ADAMTS1'in ve ADAMTS4'ün, alveoler kemik rezorpsiyonundaki ayırt edici özelliği ile kemik yıkımını indükleyebileceği ve bunun, akut fazdaki ECM yıkımını hızlandırabilecek osteoklastların aktivitesini destekleyebileceği rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, bizim çalışmamızdaki sağlıklı pulpaya kıyasla enflame pulpada ADAMTS1 düzeyinin artması ile uyumludur. Bizim çalışmamızda ADAMTS4 düzeyinde anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Ancak Yılmaz ve ark. (2019)'nın ADAMTS4 sonuçları ile bizim bulduğumuz ADAMTS4 sonucu çelişkili durmaktadır. İki çalışmanın ADAMTS4 sonuçları arasındaki çelişkiyi çalışma dizaynı ve prosedürlerindeki ciddi farklılıklar izah edebilir. Bu çalışmada, pulpal enflamasyonun başlangıç aşamasındaki pulpa doku örneği alınıp incelenirken, Yılmaz ve ark. (2019)'nın çalışmalarında ise enflamasyonun son aşamasında oluşan apse sıvısının değerlendirilmesi bu farklılığı ortaya koyabilir.

Sağlıklı ve enflame pulpa doku örnekleri alınarak, pulpadaki ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 ve TIMP3 seviyelerinin araştırıldığı bu in vivo çalışmanın sınırları içerisinde;

1. ELİSA testinin pulpa doku örneklerinde ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS9 ve TIMP3 düzeylerini tespit etmek için etkili bir yöntem olduğu,
2. ADAMTS1, ADAMTS9 ve TIMP3'un pulpal enflamasyonda rol oynayabileceği,
3. ADAMTS4'ün ise pulpal enflamasyonda etkin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Bu çalışmanın pulpal dokuda değerlendirilen ADAMTS düzeyleri açısından ilk çalışma olduğundan daha ileri düzeyde çalışmalar yapılmasına öncülük edeceği düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

- ABBOTT PV, YU C. (2007) A clinical classification of the status of the pulp and the root canal system. *Aust Dent J*,52,S17-31.
- ALAÇAM T. (2011a) Endodonti Nobel Kitabevi, s: 71-116, Ankara.
- ALAÇAM T. (2011b) Endodonti. Nobel Kitabevi, Ankara,625-627.
- ALBINI RG. (1973) Glossary of endodontic terms. *Mondo Odontostomatol*,15,465-468.
- ANDERSON DM, LANGELAND K, CLARK GE, GALICH JW. (1981) Diagnostic Criteria for the Treatment of Caries-Induced Pulpitis. Bethesda, MD: Navy Dental Research Institute,,81-03.
- APTE SS. (2009) A disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin-type) with thrombospondin type 1 motif (ADAMTS) superfamily: functions and mechanisms. *J Biol Chem*,284,31493-31497.
- AŞÇI SK. (2014) Endodonti. Quintessence Yayıncılık, İstanbul,s: 167-180.
- AWAWDEHL, LUNDY FT, SHAW C ve ark. (2002) Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth. *Int Endod J*,35,30-36.
- AYDIN M. (2006) Endodontik Mikrobiyoloji Mısırlıgil C editör. Tıp ve Diş Hekimliğinde Mikrobiyoloji,Güneş Yayınevi, Ankara,205-225.
- BAENZIGER NL, BRODIE GN, MAJERUS PW. (1971) A thrombin-sensitive protein of human platelet membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A*,68,240-243.
- BAKER AH, EDWARDS DR, MURPHY G. (2002) Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci*,115,3719-3727.
- BAUME LJ. (1970) Diagnosis of diseases of the pulp. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*,29,102-116.
- BENDER IB. (2000) Pulpal pain diagnosis--a review. *J Endod*,26,175-179.
- BERMAN LH. (1985) Dentinal sensation and hypersensitivity: a review of mechanisms and treatment alternatives. *Journal of periodontology*,56,216-222.
- CAVIEDES-BUCHELI J, MUNOZ HR, AZUERO-HOLGUIN MM, ULATE E. (2008) Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists. *J Endod*,34,773-788.
- CAWSTON TE, WILSON AJ. (2006) Understanding the role of tissue degrading enzymes and their inhibitors in development and diseases. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*,983.
- CENGİZ T. (1983) Endodonti : ders kitabı Ege Üniversitesi Dis Hekimliği Fakültesi Yayinlari, Izmir.
- CHANG YC, YANG S, HSIEH Y. (2001) Regulation of Matrix Metalloproteinase-2 Production by Cytokines and Pharmacological Agents in Human Pulp Cell Cultures. *Journal of Endodontics*,27,679-682.
- ÇALIŞKAN M. (2006) Endodontide Tanı ve Tedaviler.Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s: 83-110.

- DEMIRCAN K, AKYOL S, ARMUTCU F. (2013) A multi-functional gene family from arthritis to cancer: A disintegrin-like Metalloproteinase with Thrombospondin type-1 motif (ADAMTS). *Journal of Clinical and Analytical Medicine*,4,429-434.
- DINÇER GA. (2019) Sağlıklı ve Akut Geri Dönüşümsüz Pulpitis Tanısı Konmuş Dişlerin Pulpal Kan ve DOS Örneklerinde IL-8, MMP-8, NKA, SP Değişimlerinin Karşılaştırılması Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale.
- DUMMER PM, HICKS R, HUWS D. (1980) Clinical signs and symptoms in pulp disease. *Int Endod J*,13,27-35.
- EL KARIM IA, LINDEN GJ, IRWIN CR, LUNDY FT. (2009) Neuropeptides regulate expression of angiogenic growth factors in human dental pulp fibroblasts. *J Endod*,35,829-833.
- EL KARIM IA, LAMEY PJ, LINDEN GJ, AWAWDEH LA, LUNDY FT. (2006) Caries-induced changes in the expression of pulpal neuropeptide Y. *Eur J Oral Sci*,114,133-137.
- ELSALHY M, AZIZIEH F, RAGHUPATHY R. (2013) Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation. *Int Endod J*,46,573-580.
- ENOMOTO H, NELSON CM, SOMERVILLE RP ve ark. (2010) Cooperation of two ADAMTS metalloproteases in closure of the mouse palate identifies a requirement for versican proteolysis in regulating palatal mesenchyme proliferation. *Development*,137,4029-4038.
- ERSÖZ E, ERKLI H. (2011) Matriks metalloproteinazlar: diş dokuları ve çürük üzerine etkileri. *Cumhuriyet Dental Journal*,14.
- EVROSIMOVSKA B, DIMOVA C, KOVACEVSKA I, PANOV S. (2012) Concentration of collagenases (MMP-1, -8, -13) in patients with chronically inflamed dental pulp tissue. *Prilozi*,33,191-204.
- FELDMAN AM, MCNAMARA D. (2000) Myocarditis. *N Engl J Med*,343,1388-1398.
- FOSANG AJ, LITTLE CB. (2008) Drug insight: aggrecanases as therapeutic targets for osteoarthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol*,4,420-427.
- GARFUNKEL A, SELA J, ULMANSKY M. (1973) Dental pulp pathosis: Clinicopathologic correlations based on 109 cases. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*,35,110-117.
- GERZE A. (2003) Proteaz Enziminin Bacillus Subtilis Megatherium Ve Bacillus Polymxa Bakteri Türlerinden Kısmi Saflaştırılması Ve Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- GLASSON SS, ASKEW R, SHEPPARD B ve ark. (2005) Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis. *Nature*,434,644-648.
- GODA S, KATO Y, DOMAE E ve ark. (2015) Effects of JNK1/2 on the inflammation cytokine TNF- α - enhanced production of MMP- 3 in human dental pulp fibroblast- like cells. *International endodontic journal*,48,1122-1128.

- GOLDBERG M, SMITH AJ. (2004) Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biological basis for repair and tissue engineering. *Crit Rev Oral Biol Med*,15,13-27.
- GOMARIZ RP, JUARRANZ Y, ABAD C ve ark. (2006) VIP-PACAP system in immunity: new insights for multitarget therapy. *Ann N Y Acad Sci*,1070,51-74.
- GOMEZ D, ALONSO D, YOSHİJ H, THORGEIRSSON U. (1997) Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *European journal of cell biology*,74,111-122.
- GUSMAN H, SANTANA RB, ZEHNDER M. (2002) Matrix metalloproteinase levels and gelatinolytic activity in clinically healthy and inflamed human dental pulps. *European journal of oral sciences*,110,353-357.
- HANDSLEY MM, EDWARDS DR. (2005) Metalloproteinases and their inhibitors in tumor angiogenesis. *Int J Cancer*,115,849-860.
- HARGREAVES KM, BERMAN L. (2016) Cohen's Pathways of the Pulp. Elsevier, St. Louis. 11th ed.,573-599.
- HIKAKE T, MORI T, ISEKI K ve ark. (2003) Comparison of expression patterns between CREB family transcription factor OASIS and proteoglycan core protein genes during murine tooth development. *Anatomy and embryology*,206,373-380.
- HUANG GT, POTENTE AP, KIM JW, CHUGAL N, ZHANG X. (1999) Increased interleukin-8 expression in inflamed human dental pulps. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,88,214-220.
- HYNES R, NABA A. (2012) Overview of the matrisome—an inventory of extracellular matrix constituents and functions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*,4,a004903.
- JAIN A, BAHUGUNA R. (2015) Role of matrix metalloproteinases in dental caries, pulp and periapical inflammation: An overview. *Journal of oral biology and craniofacial research*,5,212-218.
- JONES GC, RILEY GP. (2005) ADAMTS proteinases: a multi-domain, multi-functional family with roles in extracellular matrix turnover and arthritis. *Arthritis Res Ther*,7,160-169.
- JUNGERS KA, LE GOFF C, SOMERVILLE RP, APTE SS. (2005) Adamts9 is widely expressed during mouse embryo development. *Gene Expr Patterns*,5,609-617.
- KAUSHAL GP, SHAH SV. (2000) The new kids on the block: ADAMTSs, potentially multifunctional metalloproteinases of the ADAM family. *J Clin Invest*,105,1335-1337.
- KUNO K, BANNAI K, HAKOZAKI M, MATSUSHIMA K, HIROSE K. (2004) The carboxyl-terminal half region of ADAMTS-1 suppresses both tumorigenicity and experimental tumor metastatic potential. *Biochem Biophys Res Commun*,319,1327-1333.
- KUNO K, KANADA N, NAKASHIMA E ve ark. (1997) Molecular cloning of a gene encoding a new type of metalloproteinase-disintegrin family protein with thrombospondin motifs as an inflammation associated gene. *J Biol Chem*,272,556-562.

- KUNO K, OKADA Y, KAWASHIMA H ve ark. (2000) ADAMTS-1 cleaves a cartilage proteoglycan, aggrecan. *FEBS Lett*,478,241-245.
- KURALAY F, ÇAVDAR Z. (2006) İnflamatuvar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Dergisi*, 16,143-152.
- LEE CW, HWANG I, PARK CS ve ark. (2011) Comparison of ADAMTS-1, -4 and -5 expression in culprit plaques between acute myocardial infarction and stable angina. *J Clin Pathol*,64,399-404.
- LEJEUNE HB, AMEDEE RG. (1994) A review of odontogenic infections. *J La State Med Soc*,146,239-241.
- LEONARDI R, CRIMI S, ALMEIDA LE ve ark. (2015) ADAMTS- 4 and ADAMTS- 5 expression in human temporomandibular joint discs with internal derangement, correlates with degeneration. *Journal of Oral Pathology & Medicine*,44,870-875.
- LI SW, ARITA M, FERTALA A ve ark. (2001) Transgenic mice with inactive alleles for procollagen N-proteinase (ADAMTS-2) develop fragile skin and male sterility. *Biochem J*,355,271-278.
- LIN S-K, WANG C-C, HUANG S ve ark. (2001) Induction of Dental Pulp Fibroblast Matrix Metalloproteinase-1 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 Gene Expression by Interleukin-1 α and Tumor Necrosis Factor- α Through a Prostaglandin-Dependent Pathway. *Journal of Endodontics*,27,185-189.
- LIND GE, KLEIVI K, MELING GI ve ark. (2006) ADAMTS1, CRABP1, and NR3C1 identified as epigenetically deregulated genes in colorectal tumorigenesis. *Cell Oncol*,28,259-272.
- LINDEN GJ, MCKINNELL J, SHAW C, LUNDY FT. (1997) Substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Clin Periodontol*,24,799-803.
- LO P, LEUNG A, KWOK C ve ark. (2007) Identification of a tumor suppressive critical region mapping to 3p14.2 in esophageal squamous cell carcinoma and studies of a candidate tumor suppressor gene, ADAMTS9. *Oncogene*,26,148-157.
- LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*,193,265-275.
- LUQUE A, CARPIZO DR, IRUELA-ARISPE ML. (2003) ADAMTS1/METH1 inhibits endothelial cell proliferation by direct binding and sequestration of VEGF165. *J Biol Chem*,278,23656-23665.
- MASS E, ZILBERMAN U. (2011) Long-term radiologic pulp evaluation after partial pulpotomy in young permanent molars. *Quintessence Int*,42,547-554.
- MAZZONI A, TJÄDERHANE L, CHECCHI V ve ark. (2015) Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *Journal of dental research*,94,241-251.
- MAZZONI A, LORENZO B, MARCELA C ve ark. (2009) A review of the nature, role, and function of dentin non- collagenous proteins. Part II: enzymes, serum proteins, and growth factors. *Endodontic topics*, 21: 19-40.

- MEJARE IA, AXELSSON S, DAVIDSON T ve ark. (2012) Diagnosis of the condition of the dental pulp: a systematic review. *Int Endod J*,45,597-613.
- MENTE J, PETROVIC J, GEHRIG H ve ark. (2016) A Prospective Clinical Pilot Study on the Level of Matrix Metalloproteinase-9 in Dental Pulpal Blood as a Marker for the State of Inflammation in the Pulp Tissue. *Journal of Endodontics*,42,190-197.
- MESSING J, STOCK C. (1988) A colour atlas of endodontics, Wolfe Medical Publications,London,282.
- MULVIHILL SJ, DEBAS HT. (1997) Regulatory peptides In: Greenspan FS, Strewler GJ, editors. . Basic and Clinical Endocrinology,Stamford: Appleton and Lange Co,pp 575-591.
- MUROMACHI K, KAMIO N, MATSUKI-FUKUSHIMA M ve ark. (2015) Metalloproteases and CCN2/CTGF in dentin–pulp complex repair. *Journal of Oral Biosciences*,57,86-90.
- NAGASE H, WOESSNER JF. (1999) Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*,274,21491-21494.
- NAGASE H, KASHIWAGI M. (2003) Aggrecanases and cartilage matrix degradation. *Arthritis Res Ther*,5,94-103.
- NAKATA K, YAMASAKI M, IWATA T ve ark. (2000) Anaerobic Bacterial Extracts Influence Production of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors by Human Dental Pulp Cells. *Journal of Endodontics*,26,410-413.
- OLGART L, GAZELIUS B, BRODIN E, NILSSON G. (1977) Release of substance P-like immunoreactivity from the dental pulp. *Acta Physiol Scand*,101,510-512.
- ORSINI G, MAZZONI A, ORCIANI M ve ark. (2011) Matrix metalloproteinase-2 expression induced by two different adhesive systems on human pulp fibroblasts. *Journal of Endodontics*,37,1663-1667.
- PAULISSEN G, ROCKS N, GUEDERS MM ve ark. (2009) Role of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in airway diseases. *Respir Res*,10,127.
- PELISEK J, DEUTSCH L, ANSEL A ve ark. (2015) Expression of a metalloproteinase family of ADAMTS in human vulnerable carotid lesions. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*,18,10-18.
- PORTER S, CLARK IM, KEVORKIAN L, EDWARDS DR. (2005) The ADAMTS metalloproteinases. *Biochem. J.*,386.
- RAUSCHENBERGER CR, MCCLANAHAN SB, PEDERSON ED, TURNER DW, KAMINSKI EJ. (1994) Comparison of human polymorphonuclear neutrophil elastase, polymorphonuclear neutrophil cathepsin-G, and alpha 2-macroglobulin levels in healthy and inflamed dental pulps. *J Endod*,20,546-550.
- RHIM E, AHN S, KIM JJ ve ark. (2013) Stimulation of Matrix Metalloproteinases by Tumor Necrosis Factor– α in Human Pulp Cell Cultures. *Journal of endodontics*,39,795-800.
- RICUCCI D, SIQUEIRA JF. (2013) Endodontology. An Integrated Biological and ClinicalView. London: Quintessence Publishing.

- RICUCCI D, LOGHIN S, SIQUEIRA JF, JR. (2014) Correlation between clinical and histologic pulp diagnoses. *J Endod*,40,1932-1939.
- ROBERTS S, EVANS H, WRIGHT K ve ark. (2015) ADAMTS-4 activity in synovial fluid as a biomarker of inflammation and effusion. *Osteoarthritis and cartilage*,23,1622-1626.
- ROCKS N, PAULISSEN G, EL HOUR M ve ark. (2008) Emerging roles of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in cancer. *Biochimie*,90,369-379.
- RODD HD, BOISSONADE FM. (2000) Substance P expression in human tooth pulp in relation to caries and pain experience. *Eur J Oral Sci*,108,467-474.
- RODWELL VW, BENDER DA, BOTHAM KM, KENNELLY PJ, WEIL PA. (2015) Harper's illustrated biochemistry.
- SALTER RC, ASHLIN TG, KWAN AP, RAMJI DP. (2010) ADAMTS proteases: key roles in atherosclerosis? *J Mol Med (Berl)*,88,1203-1211.
- SASAKI H, MURAMATSU T, KWON H-J ve ark. (2010) Down-regulated genes in mouse dental papillae and pulp. *Journal of dental research*,89,679-683.
- SELTZER S, BENDER IB, ZIONTZ M. (1963) The dynamics of pulp inflammation: Correlations between diagnostic data and actual histologic findings in the pulp. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*,16,846-871.
- SHEN E, CHEN RZ, YANG YZ ve ark. (2007) Association between myocardial ADAMTS-1 expression and myocardial fibrosis in a murine model of viral myocarditis. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*,35,854-858.
- SHIN S-J, LEE J, BAEK S-H, LIM S-S. (2002) Tissue Levels of Matrix Metalloproteinases in Pulp and Periapical Lesions. *Journal of Endodontics*,28,313-315.
- SHINDO T, KURIHARA H, KUNO K ve ark. (2000) ADAMTS-1: a metalloproteinase-disintegrin essential for normal growth, fertility, and organ morphology and function. *J Clin Invest*,105,1345-1352.
- SILVA AC, FARIA MR, FONTES A, CAMPOS MS, CAVALCANTI BN. (2009) Interleukin-1 beta and interleukin-8 in healthy and inflamed dental pulps. *J Appl Oral Sci*,17,527-532.
- SLOAN AJ. (2015) Chapter 29 - Biology of the Dentin-Pulp Complex, In: Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences, A. Vishwakarma ve ark. Ed.(Eds.), Academic Press, Boston. p: 371-378.
- SOMERVILLE RP, OBLANDER SA, APTE SS. (2003) Matrix metalloproteinases: old dogs with new tricks. *Genome Biol*,4,216.
- SONE S, NAKAMURA M, MARUYA Y ve ark. (2005) Expression of versican and ADAMTS during rat tooth eruption. *J Mol Histol*,36,281-288.
- STAMENKOVIC I. (2003) Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *The Journal of pathology*,200,448-464.

- STANTON H, MELROSE J, LITTLE CB, FOSANG AJ. (2011) Proteoglycan degradation by the ADAMTS family of proteinases. *Biochim Biophys Acta*,1812,1616-1629.
- STANTON H, ROGERSON FM, EAST CJ ve ark. (2005) ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage in vivo and in vitro. *Nature*,434,648-652.
- SUNAY FB, TÜRKOĞLU SA, KÖÇKAR F. (2012) ADAMTS Ailesi ve Anti-Anjiogenetik ADAMTS1 *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 38 (1) 49-56.
- TANG BL. (2001) ADAMTS: a novel family of extracellular matrix proteases. *The international journal of biochemistry & cell biology*,33,33-44.
- TANG BL, HONG W. (1999) ADAMTS: a novel family of proteases with an ADAM protease domain and thrombospondin 1 repeats. *FEBS Lett*,445,223-225.
- TAYMAN MA, KURGAN S, ONDER C ve ark. (2019) A disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin-1 (ADAMTS-1) levels in gingival crevicular fluid correlate with vascular endothelial growth factor-A, hypoxia-inducible factor-1alpha, and clinical parameters in patients with advanced periodontitis. *J Periodontol*,90,1182-1189.
- TEKÇE N. (2014) Matriks Metalloproteinaz (MMPs) Enzimlerinin Adezivlerin Bağlanma Etkinliği Üzerindeki Rolü. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*,24.
- THESLEFF I. (2003) Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. *Journal of cell science*,116,1647-1648.
- TORABINEJAD M, SHABAHANG S. (2009) Pulp and periapical pathosis. In: Torabinejad M, Walton RE, eds. *Endodontics. Principles and Practice*.,St. Louis: Saunders/Elsevier,;49-67.
- TORABINEJAD M, FOUAD A, WALTON RE. (2014) *Endodonti Temel İlkeler ve Uygulamalar*. Nobel Kitabevi, İstanbul,s:49-68. .
- TORTORELLA MD, MALFAIT F, BARVE RA, SHIEH HS, MALFAIT AM. (2009) A review of the ADAMTS family, pharmaceutical targets of the future. *Curr Pharm Des*,15,2359-2374.
- TORTORELLA MD, BURN TC, PRATTA MA ve ark. (1999) Purification and cloning of aggrecanase-1: a member of the ADAMTS family of proteins. *Science*,284,1664-1666.
- TROWBRIDGE HO, KIM S. (1994) Pulp development, structure and function. Cohen S. and Burns RC. *Pathways of the Pulp*. 6th ed, Elseiver, St. Louis.,296-336.
- USLU MÖ, ELTAŞ ŞD. (2015) Periodontal hastalıklarda MMP-8'in rolü. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*,12,80-85.
- WALSH LJ. (1997) Serious complications of endodontic infections: some cautionary tales. *Aust Dent J*,42,156-159.
- YILMAZ UN, GUNES UYSAL RF, DUNDAR YILMAZ B, TUNCER MC. (2019) Histopathologic and immunohistochemical investigations of abscess fluid cells formed in the palato-gingival area. *Folia Morphol (Warsz)*,10.5603/FM.a2019.0051.

- YOKOYAMA H, WADA T, KOBAYASHI K ve ark. (2002) A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS)-1 null mutant mice develop renal lesions mimicking obstructive nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*,17 Suppl 9,39-41.
- YOLKEN RH. (1980) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): a practical tool for rapid diagnosis of viruses and other infectious agents. *Yale J Biol Med*,53,85-92.
- YOSHIOKA S, TAKAHASHI Y, ABE M ve ark. (2013) Activation of the Wnt/ β -catenin pathway and tissue inhibitor of metalloprotease 1 during tertiary dentinogenesis. *Journal of biochemistry*,153,43-50.
- YU C, ABBOTT PV. (2007) An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. *Aust Dent J*,52,S4-16.
- ZHENG L, AMANO K, IOHARA K ve ark. (2009) Matrix metalloproteinase-3 accelerates wound healing following dental pulp injury. *The American journal of pathology*,175,1905-1914.



6. EKLER

EK-1

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Sağlıklı ve Enflame Dental Pulpada ADAMTS Düzeylerinin Karşılaştırılması,
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Version Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Eylül 2015	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Eylül 2015	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	Eylül 2015	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROSÜRÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama
		SİGORTA
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>
	ILAN	<input type="checkbox"/>
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>

KARAR BELGELERİ	Karar No: 02/01
	Tarih: 10.01.2017
Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın yapılmasına gerekçe, araç, yöntem ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunan olup araştırmanın yapılmasına başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel olarak bulunmuş olduğu tespit edilmiştir. Kararın aynı zamanda sızdırılmaya karşı önlemleri ile kararlaştırılmıştır. Baş ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmaları için Türkiye Baş ve Tıbbi Cihaz Kararı'ndan izin alınması gerekmektedir.	

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

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kararı	Çalıştır	Araştırma ile ilgili	Katılım *	İmza
Prof.Dr. Mehmet Savaş EKİCİ	Göğüs Hastalıkları	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Figen ÇOŞKUN	Acil Tıp	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Hükan BOYUNAGA	Tıbbi Biyokimya	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Ebru ERDEMİR	Periyodontoloji	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. M. Fikri ÖZVEREN	Beyin ve Sinir Cerrahisi	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Meral SAYGUN	Halk Sağlığı	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Githen KARACA	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Aslı Fabrya CEYLAN İŞİK	Tıbbi Farmakoloji	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Gökçe ŞİMŞEK	KBB	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

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

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

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Sağlık ve Enflame Dental Pulpada ADAMTS Düzeylerinin Karşılaştırılması.
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	Yenişehir Mahallesi Tahsin Duru Caddesi No:14 YAHŞİHAN/KIRIKKALE
	TELEFON	0 318 333 50 10/5733
	FAKS	0 318 224 07 86
	E-POSTA	ketik@kku.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ali ERDEMİR			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Endodonti			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alacak için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Glüzomal ilaç çarpması		<input type="checkbox"/>			
Tabii cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi ağız cihazları ile yapılan performans değerlendirme çarpmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diger ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	<input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ	<input type="checkbox"/>	
	ULUSAL	<input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI	<input type="checkbox"/>	

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



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

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Sağlık ve Enflam Dental Pulpada ADAMTS Düzeylerinin Karşılaştırılması,						
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU								
Yrd.Doç. Dr. Faruk Meriç ÇOMU	Fizyoloji	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Yrd. Doç. Dr. Faruk PEHLİVANLI	Genel Cerrahi	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Uzm. Dr. Erkin ÖNLÜ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Ecz. Barhan BİRİCİ	Sehadet Eczacı	Kırıkkale-Merkez	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Av. Hale MUTLU	Hukuk	Kırıkkale-Merkez	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Yakup DOĞAN	Fakülte Sekreteri	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>

* Toplamda Beşerme

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



Not: Etik Kurul Başkanı, imzadan önce almasıyla her sayfaya önce atmalıdır.

EK-2

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

Araştırma hakkında bilgi

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

Araştırmanın amacı

Araştırmanın amacı sağlıklı ve enflame pulpada proteolitik enzim düzeyleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığını ortaya çıkarmaktır.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni

- Kök kanal tedavisi planlanmış olması
- Ortodontik ya da profilaktik amaçla diş çekimi yapılacak olması

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

Kök kanal tedavisi esnasında zaten çıkartılan pulpa dokusu araştırma için kullanılacaktır. Sonrasında dişiniz için planlanan kök kanal tedavisi aynen devam edecektir.

Çekim endikasyonu konulan dişinizin lokal anestezi altında çekilmeden önce dişin canlı kısmı olan pulpa dokusu çıkartılacak ve araştırma için kullanılacaktır.

Uygulamanın katılımcıya getirebileceği muhtemel olumsuz durumlar

Herhangi bir olumsuz durum olmayacaktır

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

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

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

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

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

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

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

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dt H. Filiz Kabakcı'yı 5056708156 numaralı telefonda arayabileceğimi biliyorum.

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

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

Tarih:**Katılımcı**

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Katılımcı ile görüşen Hekim

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Çalışmayı yürüten sorumlu Öğretim Üyesi

Adı, soyadı: Prof. Dr. Ali ERDEMİR

Adres: Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Tel: 03182244927/3551

İmza:

EK-3

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

Değerli anne ve babalar;

Çocuğunuzun, kliniğimizde yapılması planlanan “**Sağlıklı ve Enflame Dental Pulpada ADAMTS Düzeylerinin Karşılaştırılması**” isimli bir çalışmada yer alabilmesi için sizden izin istiyoruz. Bu çalışma, araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır.

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

Araştırma hakkında bilgi

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

Araştırmanın amacı

Araştırmanın amacı sağlıklı ve enflame pulpada proteolitik enzim düzeyleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığını ortaya çıkarmaktır

Çocuğunuzun araştırmaya dahil edilmek istenilmesinin nedeni

-Kök kanal tedavisi planlanmış olması

-Profilaktik amaçla diş çekimi yapılmış olması

Bu çalışmaya hem yetişkin hem çocuk hastalar dahil edilmektedir. Toplam 30 kişinin bu çalışmaya dahil edilmesi planlanmaktadır. Çalışmanın benzerleri daha önce yapılmıştır ancak ADAMTS proteolitik enzim ailesinin pulpa hastalıklarında düzeylerine bakıldığı başka bir çalışma yoktur.

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

Kök kanal tedavisi esnasında zaten çıkartılan pulpa dokusu araştırma için kullanılacaktır.

Diş çekimi sonrası dişin içinde yer alan pulpa dokusu araştırma için kullanılacaktır

Çocuğum bu çalışmaya katılmalı mı?

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

Uygulamanın çocuğunuza getirebileceği muhtemel olumsuz durumlar

Herhangi bir olumsuz durum olmayacaktır

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

(Katılımcı çocuğun ebeveyninin beyanı)

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

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

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

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

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

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

Araştırma sırasında çocuğum bir sağlık sorunu ile karşılaştığında; herhangi bir saatte, Dt H. Filiz Kabakcı'yı 5056708156 numaralı telefonda arayabileceğimi biliyorum.

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

Tarih:

**Velinin,
hekim,**

Adı, soyadı:

Adres:

Adres:

Tel:

İmza:

Görüşme tanığı,

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Katılımcı ile görüşen

Adı, soyadı:

Tel:

İmza:

Çalışmayı yürüten sorumlu Öğretim Üyesi

Adı, soyadı: Prof. Dr. Ali ERDEMİR

Adres: Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Tel: 03182244927/3551

İmza:

X X X X

7. ÖZGEÇMİŞ

Halise Filiz GÖLBAŞI 01.05.1980 tarihinde Ankara’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara’da tamamladı. 2005 yılında Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’ni bitirdi. 2014 yılı Ekim ayında Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine başladı.

